

참나무 (*Quercus Mongolica*)로부터 수용성 식이섬유소의 제조 및 기능성 검증

채영미* · 임부국** · 이종윤** · 김영희*** · 이순재**[§]

대구가톨릭대학교 식품영양학과,* 경북대학교 임산공학과,** 양산대학 호텔조리과***

Preparation of Soluble Dietary Fiber from Oak Wood (*Quercus Mongolica*) and Its Physiological Function in Rat Fed High Cholesterol Diets

Chai, Young-Mi* · Lim, Bu-Kug** · Lee, Jong-Yoon**
Kim, Young-Hee*** · Rhee, Soon-Jae**[§]

Department of Food Science and Nutrition,^{*} Catholic University of Daegu, Gyungsan, Kyungbuk 712-702, Korea

Department of Wood Science and Technology,^{**} Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Department of Hotel Culinary Arts,^{***} Yangsan College, Gyungnam 627-740, Korea

ABSTRACT

The preparation method of a soluble dietary fiber from oak wood (*Quercus mongolica*) and the effect of the soluble dietary fiber on physiological function in rat fed high cholesterol diets was investigated. The best condition for steam explosion method was 25 kg/cm³ pressure for 6 min. The exploded samples were delignified by the filtration treatment with 1% NaOH for several times, which is the best condition. The enzymatic hydrolysis of Cellusoft cellulase was more effective than Onozuka R-10 cellulase. The manufactured soluble dietary fiber was assayed using gel permeation chromatography (GPC) and it was dissolved in water. Average molecular weight distribution of manufactured soluble dietary fiber was about 348 – 1,200 and it was assumed the oligomer form fraction. In order to compare the manufactured soluble dietary fiber with commercial soluble dietary fiber (pectin) on the physiological function, Sprague-Dawley male rats weighing 100 ± 10 g were randomly assigned to one normal diet and five high cholesterol diet containing 1% cholesterol. The high cholesterol diet groups were classified to fiber free diet (FF group), 5% pectin (5P group), 10% pectin (10P group), 5% manufactured soluble dietary fiber (5M group) and 10% manufactured soluble dietary fiber (10M group). Body weight gains in all soluble dietary fiber groups were lower than FF group. Food intakes were increased in all soluble dietary fiber groups than that of FF group. Food efficiency ratio (FER) was significantly decreased in all soluble dietary fiber groups than that of the FF group, and it was especially was highest in 10% supplemented soluble dietary fiber group. The weight of liver of the soluble dietary fiber supplemented groups were lower than those of the FF group, but weights of cecum and small intestine of all supplemented soluble dietary fiber groups were significantly increased, compared with that of FF group. The weights and water contents in feces were significantly increased by the soluble dietary fiber. The activity of the glutamic oxaloacetic transaminase in soluble dietary fiber groups were significantly decreased than those of FF group. The hepatic glutathione S-transferase activity in all soluble dietary fiber supplemented groups were higher than that of FF group. The physiological effects of the manufactured soluble dietary fiber are the same as the commercial soluble dietary fiber (pectin). The preparation method of the soluble dietary fiber from the oak chips suited to its purpose. (Korean J Nutrition 36(1) : 9~17, 2003)

KEY WORDS : oak wood · preparation of soluble dietary fiber · steam explosion · cellusoft cellulase, GOT & GPT.

서 론

최근 기능성 식품에 대한 관심이 고조됨에 따라 기능성

접수일 : 2002년 11월 1일

제택일 : 2002년 11월 20일

[†]To whom correspondence should be addressed.

성분으로 식이섬유소의 생리적, 기능적 역할에 대한 기대가 높아지고 있는 추세이다. 특히 당뇨병, 관상심장질환, 다발성 계실증, 대장암 및 비만 등과 같은 만성 퇴행성 질환의 발생률과 식이섬유소의 섭취량 사이에 높은 상관관계가 보고^{1,2)}되면서 식이섬유소가 질병 예방과 치료를 위한 기능성 식품으로서 이용이 중대되고 있다. 그러나 현대사회에서 식

이섬유소는 천연식품으로 섭취하는 것이 생리활성의 측면에서 유익하나 시간에 쫓기는 편리함을 추구하는 사회에서 천연 식품으로부터 식이섬유소 섭취가 어려우므로 식이섬유소가 풍부한 음료, 시리얼류 및 저열량 식품 등 각종 제품을 이용하려고 한다. 현재 주로 식이섬유소 식품으로 이용되는 재료로서는 덱스트린, 폴리덱스트로즈 등과 같은 합성 식이섬유소가 있고, 부분 가수분해된 구아검, 카라기난, 알간산 등이 이용되고 있다.³⁾

식이 섬유소는 수용성 여부에 따라 그 성질이 다르고, 이에 따라 각기 다른 화학적 및 생리적 효과를 나타내는 것으로 알려져있다.⁴⁾ 과일, 두류, 호밀과 보리 및 채소 등은 펙틴, 구아검, β -글루칸 등의 수용성이면서 점성인 식이섬유소를 함유하고 있어서 혈청 콜레스테롤을 저하시키는 것으로 보고⁵⁾되고 있다. 또 수용성 식이섬유소는 비수용성 식이섬유소에 비해 보수력이 커서 gel 형성으로 점도를 높이며, 그로 인해 음식물이 위에 머무르는 시간이 길어져 포만감을 주고, 영양소의 소화, 흡수를 지원시켜 당뇨병 환자에게 당내성을 증진시킨다고 한다.⁶⁾ 또한 장내에서 콜레스테롤 및 담즙산을 흡착하여 대변으로의 배설 촉진 및 지단백 대사에 변화를 주어 혈청 콜레스테롤 수준을 저하시키고 그 결과 관상동맥성 심질환 및 대장암의 발병율을 낮춘다.⁷⁾ 또 식이섬유소가 대장에 유입된 후 미생물에 의해 발효되어 단쇄 지방산을 생성하고 이 단쇄 지방산들은 간에서 콜레스테롤 합성을 저하시킨다고 한다.⁸⁾

이와 같이 식이섬유소가 성인병 예방에 탁월한 효과가 있음이 입증되고 그 중요성이 인식된 후 식이섬유소와 이를 이용한 식품의 수요량이 계속 증가하는 추세에 있으므로 천연 물질로부터 식이섬유소 이용 방안의 모색이 절실히 필요하다고 본다. 특히 불용성 식이섬유소가 빵, 과자 등 고체 식품에 주로 이용될 수 있는데 반해, 수용성 식이섬유소는 음료, 수프 등의 액상 식품에도 직접 사용될 수 있으며 전분이나 밀가루, 유지 등을 대체하는 중점제료로도 이용될 수 있는 등 불용성 식이섬유소 보다 식품에 다양하게 이용될 수 있다.⁹⁾

최근 각종 가공식품에 식이섬유소를 첨가하여 기능성 식품으로의 역할이 이용되고 있음에도 불구하고 우리나라에서는 전량을 수입에 의존하고 있고 또 대부분 합성 식이섬유소이므로 천연물질로부터 식이섬유소 생산이 부족한 실정이다. 현재 천연물로부터 제조된 수용성 식이섬유소로는 사과 및 감률로부터 추출된 펙틴 등이 시판되고 있으며, 홍조류의 복합다당류인 카라기난, 해조류의 algae에서 추출된 soluble alginic fiber가 있으며 두류로부터 추출된 soy polysaccharide 등이 제조되어 시판되고 있지만 실제

수용성 정제 섬유소의 사용을 실용화로 이끌지는 못하고 있는 실정이다. 그러므로 만약 폐목재자원으로부터 수용성 식이섬유소를 제조할 수 있다면 수입 대체효과로 인한 경제적인 이익과 폐물질의 재활용측면인 생활환경면에서도 많은 공헌을 할 수 있을 것으로 본다.

세계적으로 환경에 대한 관심의 고조와 석유자원의 고갈로 복질계 바이오매스의 화학적 이용과 에너지 자원화에 관한 연구가 매우 활발하게 이루어지고 있다.¹⁰⁾ 복질계 바이오매스에서 가장 많은 부분을 차지하고 있는 셀룰로오스는 면, 아마, 목재 등 고등식품의 세포벽을 이루는 주성분으로 매년 수 10억톤이 광합성에 의해 생산되고 있다. 현재 이러한 목재 자원은 제지산업, 섬유산업, 화학공업 산업, 식품산업 등 다양한 분야에서 중요 원료로 사용되고 있고 세계적으로도 목재 바이오매스에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.¹¹⁾ 이러한 목재의 주성분으로는 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스가 약 75% 가량 함유되어 있기 때문에 만약 목재로부터 탄수화물을 선택적으로 분리할 수 있다면 대량의 천연 식이섬유소를 공급할 수 있으므로 식이섬유소의 주요자원이 될 수 있다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 축적량이 많은 참나무류 종에서 신갈나무 (*Quercus mongolica*)를 재료로 하여 수용성 식이섬유소의 제조공정을 확립하고 동물실험을 통한 생체 무독성을 검증하여 신갈나무로부터 수용성 식이섬유소의 제조 가능성을 검토하였다.

실험재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에서는 경북대학교 연습림 (경북 청송소재)에서 벌채한 참나무 (oak wood) 류종 신갈나무 (*Quercus mongolica*)를 사용하여 폭쇄 전처리 후 공시재료로 사용하였다.¹²⁾ 폭쇄 전처리는 목재를 200°C 이상 (고온), 20~40 kgf/cm² (고압) 포화수증기하에서 단시간 (3~9분) 처리한 후 대기중으로 순간 방출하기 때문에 목재의 해설회를 도모하며, 이 전처리방법은 비교적 처리 효율이 높고 후처리 및 주요 성분의 분리가 용이하고, 물 이외에 다른 약품을 사용하지 않기 때문에 식이섬유소 생산을 위한 전처리 공정으로써는 매우 유리하다고 생각된다.

본 실험에서 행해진 폭쇄전처리 조건은 Table 1과 같다.

2. 공시재료의 화학적 전처리 및 성분분석

공시재료 5 g을 500 ml 삼각플라스크에 넣고 1% 수산화 나트륨 용액 250 ml를 첨가하여 실온에서 2시간 교반

Table 1. Steam explosion condition of oak wood (*Quercus mongolica*) chip

Species	Materials No.	Steam explosion condition	
		Pressure (kgf/cm ²)	Time (min.)
Quercus Mongolica	EQ 25-3 ¹⁾	25	3
	EQ 25-6 ²⁾	25	6
	EQ 25-9 ³⁾	25	9

- 1) EQ 25-3: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 3 min)
 2) EQ 25-6: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 6 min)
 3) EQ 25-9: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 9 min)

한 후 glass filter (1G3)로 여과한 다음, 그 잔사를 증류수, 10% 초산용액으로 순차 세척하여 화학전처리를 행하였다.

한편 화학적 전처리재는 alditol-acetate법¹³⁾에 의해 구성당 분석을 행하였으며, Klason lignin법¹⁴⁾에 의해 lignin 함량을 측정하였으며 중량법에 따른 수율을 측정하였다.

3. 효소처리에 따른 수용성 식이섬유소의 제조

화학적 전처리된 시료로부터 수용성 식이섬유소를 제조하기 위해 효소가수분해 처리를 행하였으며, 본 연구에 사용된 효소는 비교적 cellulose의 분해력이 뛰어난 *Trichoderma reesei* 계 효소인 Cellusoft와 *Trichoderma viride* 계 효소인 Onozuka R-10을 효소가수분해 효소로 사용하였다.

본 연구에 사용된 효소가수분해 각각의 처리 종류 및 조건은 아래와 같다.

1) *Trichoderma reesei* 계 효소를 사용한 수용성 식이섬유소의 제조

화학적 전처리된 시료 2 g을 300 ml conical beaker에 넣고 0.05 M Na-citrate buffer (pH 4.8) 36 ml, 효소 (Cellusoft-Novo. Co) 2 ml를 첨가하였다. 50°C 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°C 항온수조에 5분간 방치하고 4000 rpm, 7 min 조건에서 원심분리를 행하였다. 그 후 상동액을 40°C 조건에서 감압 농축하고 4배 량의 에탄올에 적하하여 수용성 식이섬유소를 조제하였다.

2) *Trichodroma viride* 계 효소를 사용한 수용성 식이섬유소의 제조

화학적 전처리된 시료 2 g을 300 ml conical beaker에 넣고 0.05 M Na-citrate buffer (pH 4.8) 41 ml, 효소

(Onozuka R-10, Yakurt Co.) 7 ml를 첨가하였다. 40°C shaking incubator에서 각각 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96시간 반응시킨 후 glass filter (2G3)로 여과하여 효소 가수분해율을 측정하였다. 최적조건으로 규명된 72시간 효소 가수분해 처리 후 그 가수 분해물은 100°C 항온수조에 5분간 방치하고 4000 rpm, 7 min 조건에서 원심분리를 행하였다. 그 후 상동액을 40°C에서 감압 농축하고 4배 량의 에탄올에 적하하여 수용성 식이섬유소를 조제하였다.

4. 제조된 수용성 식이섬유소의 수율, 구성당 분석 및 분자량 분포 측정

제조된 수용성 식이섬유소의 분자량 분포측정을 위해 제조된 수용성 식이섬유소 50 mg을 20 ml의 증류수에 용해시켜 Bio-Gel P-2가 충진된 칼럼에 주입한 후 증류수를 사용하여 용출하였다. 용출액 7 ml씩을 fraction collector (Gilson Co., FC 205)를 이용하여 분취한 후 각 분획으로부터 0.5 ml씩을 취하여 페놀-황산법 (490 nm)으로 총 환원당량을 측정하였다.¹⁵⁾ 분자량 분포측정에 사용된 표준 물질은 blue dextran (Mw 1,000), cellobiose (Mw 348), glucose (Mw 180)이였다. 구성당 분석은 alditol-acetate 법¹³⁾에 의해 분석하였고 중량법에 따른 수율을 측정하였다.

5. 제조된 식이섬유소의 담즙산 흡수 지연

식이섬유소의 장관내 bile acid의 흡수 지연 효과를 관찰하기 위한 실험은 Boyd 등의 방법¹⁶⁾에 따라 측정하였다. 즉 투석막 (Sigma D7884: M.W. cut-off < 1,200) 외액에 70% H₂SO₄ 용액을 더하고 5분후에 0.25% furfural 용액을 첨가하여 60분간 방치하여 분홍색이 최대로 발색된 후 최대 흡수 파장인 510 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 제조된 수용성 식이섬유소의 기능성 검정

1) 실험재료

본 실험에서 제조된 수용성 식이섬유소와 이를 비교하기 위한 시판되는 수용성 식이섬유소로는 Sigma사 페틴 (Lot No.8002)을 사용하였다.

2) 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 체중 150 gm 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 나눈 후 고콜레스테롤 실험군을 다시 Table 2와 같이 섬유소 종류와 공급수준에 따라 각각 10마리씩 6군으로 나누어 4주간 사

Table 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	5M	10P	10M
Starch ¹⁾		650	687.5	637.5	637.5	637.5	637.5
Casein ²⁾		150	150	150	150	150	150
Salt mixture ³⁾		40	40	40	40	40	40
Vitamin mixture ⁴⁾		10	10	10	10	10	10
Corn oil ⁵⁾		50	50	50	50	50	50
Sucrose ⁶⁾		50	50	50	50	50	50
Cellulose ⁷⁾		50	—	—	—	—	—
Sodium cholate ⁸⁾		—	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Cholesterol ⁹⁾		—	10	10	10	10	10
Commercial soluble fiber ¹⁰⁾		—	—	50	—	100	—
Manufacture soluble fiber ¹¹⁾		—	—	—	50	—	100
Total (g)		1000	1000	1000	1000	1000	1000

1) Pung Jin Chem. Co., Seoul, Korea

2) Lactic Casein, 30 mesh, Newzealand Dairy Board, Wington, N. Z.

3) ALN-76 Salt mixture (g/kg mixture)

4) ALN-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) Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A

10) Pectin, Sigma Chem. Co., St. Louis, Missouri, U.S.A

11) Manufactured soulble fiber from the oak wood (*Quercus mongolica*)

육하였다.

3) 체중증가, 식이섬유 및 식이효율

식이섬유량은 전 실험기간동안 매일 일정시간에 측정하였다. 체중은 실험기간 동안 3일에 한번씩 측정하였고 사육실의 온도는 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 였고 습도는 $50 \pm 10\%$ 였다. 식이효율 (Food Efficiency Ratio, FER)은 전 체중증가량을 같은 기간동안의 식이섬유량으로 나누어주었다.

4) 혈액과 장기체취 및 분석

사육기간 완료 후 12시간 절식시킨 실험 동물을 가벼운 에테르 마취하에서 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 $1,500 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 분석시까지 -80°C 에서 냉동 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 장기들을 적출하여 액체 질소로 동결시켜 -80°C 에서 냉동 보관하였다.

혈청의 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) glutamic pyruvic transaminase (GPT) 활성 측정은 Reitman 과 Frankel의 방법¹⁷⁾을 응용한 아산제약의 GOT, GPT 측정용 kit를 사용하여 505 nm에서 비색 정량 하였다. 간 조직의 Glutathione S-transferase (GST) 활성 측정은 Habig의 방법¹⁸⁾에 따라 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 단백질 측정은 표준품으로 bovine serum

Table 3. Yield, lignin content and delignification rate of steam exploded wood treated with 1% sodium hydroxide

Materials No.	Yield of residue (%)	Klason lignin (%)	Delignification rate (%)
EQ 25-3 ¹⁾	78.0	13.5	62.8
EQ 25-6 ²⁾	59.2	7.6	86.6
EQ 25-9 ³⁾	58.0	7.3	88.9

1) EQ 25-3: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 3 min)2) EQ 25-6: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 6 min)3) EQ 25-9: Steam explosion condition of oak wood (25 kgf/cm², 9 min)

albumin을 사용하여 각 효소의 단백질 정량은 Lowry법¹⁹⁾을 이용하여 정량하였다.

5) 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 분산분석을 수행하였으며 분산분석과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test²⁰⁾에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 공시재료의 화학적 전처리 및 성분분석

공시재료의 화학적 전처리에 따른 수율 및 잔존 lignin

함량 측정은 Table 3과 같다. 잔존 리그닌 함량과 틸리그닌 효과를 비교 검토해 볼 때 동일한 25 kgf에서 6분처리와 9분처리에는 화학적 변화를 크게 보이지 않았다. 따라서 폭쇄처리재의 해석효과는 6분정도의 처리에서도 충분한 것으로 판단되며, 폭쇄처리시간 및 처리수율 등의 경제성을 고려할 때 식이섬유소를 생산할 수 있는 최적의 폭쇄처리 조건은 25 kgf/cm²의 압력에서 6분간 처리한 조건이 가장 우수한 조건으로 사료된다.

2. 효소처리에 의한 수용성 식이섬유소의 제조

1) 효소가수분해율 측정

본 실험에서 hemicellulose의 가수분해능이 있는 Cellusoft와 Onozuka R-10효소의 최적 가수분해 조건을 규명하기 위해 각 시간대별로 효소 가수분해율을 측정하였다 (Fig. 1). Cellusoft 시료와 Onozuka R-10시료가 공통적으로 효소가수분해 처리시간이 증가함에 따라 가수분해율은 완만한 증기를 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 더 이상 진행되지 않음이 관찰되었다. 따라서 효소가수분해 시간의 경우 72시간이 본 실험에서 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 진행되어 용출되었기 때문이라고 생각된다.

따라서 Cellusoft의 가수분해 효과가 Onozuka R-10 보다 다소 효과적임을 관찰 할 수 있었다.

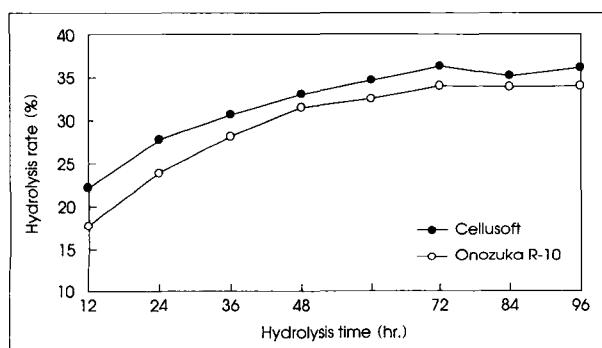


Fig. 1. Investigation of optimal enzymatic hydrolysis condition.

●Cellusoft : *Trichoderma reesei* (Novo Co.),

○Onozuka R-10 : *Trichoderma viride* (Yakurt Co.).

3. 제조된 수용성 식이섬유소의 수율 및 당분석 및 분자량 분포 측정

제조된 수용성 식이섬유소의 당분석 및 수율은 Table 4와 같다. 제조된 수용성 식이섬유소의 경우 Cellusoft 효소 처리와 Onozuka R-10 효소처리에 의해 제조된 수용성 식이섬유소 두 시료 모두 mannose잔기의 함량이 glucose 잔기의 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 : 3 정도로 알려져 있고, Onzuka R-10 효소의 경우 cellulose와 hemicellulose의 분해능이 9 : 1 정도로 알려져 있다. 따라서 두 시료 모두 cellulose의 분해능이 hemicellulose의 분해능 보다 크기 때문에 기질 내에 있는 cellulose가 효소의 반응 기작에 의해 대부분 monomer 형태로 분해 · 용출되어 에탄올 적하시 소량의 hemicellulose계 소당류만 단리된 것으로 생각된다.

제조된 수용성 식이섬유소의 수율은 Onozuka R-10효소로 처리한 수율 (5.1%) 보다 Cellusoft로 처리된 수율 (5.6%)이 다소 높은 경향임이 관찰되었다.

한편, 효소가수분해를 통해 제조된 수용성 식이섬유소의 분자량 분포는 Fig. 2와 같다. Onozuka R-10 효소로 처리하여 제조된 수용성 식이섬유소 fraction No. 3~12의 고분자 fraction을 얻었으며, fraction No. 31~34에서 저분자 fraction을 얻었다. 한편 Cellusoft로 처리되어 제조된 수용성 식이섬유소의 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 식이섬유소의 분자량이 Cellusoft 효소에 의한 것 보다 분자량이 큰 고분자물임을 확인할 수 있었다. 본 실험에서 제조된 수용성 식이섬유는 분자량이 180 인 monomer가 일부 검출되기도 했지만 전체적으로 그 화학적 성상이 비교적 우수하다고 사료된다.

4. 제조된 수용성 식이섬유소의 담즙산 흡수지연 효과

제조된 수용성 식이섬유소의 담즙산 흡수지연 효과를 관찰하기 위해 투석막을 이용하여 30분, 2시간, 4시간의 시

Table 4. Yield and sugar composition condition of soluble dietary fiber from the oak wood (*Quercus mongolica*)

Materials	Sugar composition ¹⁾ (%)					Yield
	Ara. ³⁾	Xyl. ⁴⁾	Man. ⁵⁾	Gal. ⁶⁾	Glu. ⁷⁾	
Cellusoft 72 hr	8.3	25.2	55.3	T	11.2	T ²⁾ 5.6
Onozuka R-10 72 hr	20.0	9.0	63.6	T	7.4	T ²⁾ 5.1

1) Based on total carbohydrates, 2) T: Trace, below 0.1%,

3) Ara.: arabinose, 4) Xyl.: xylose 5) Man.: monnose,

6) Gal.: galactose, 7) Glu.: glucose, 8) Rha.: rhamnose

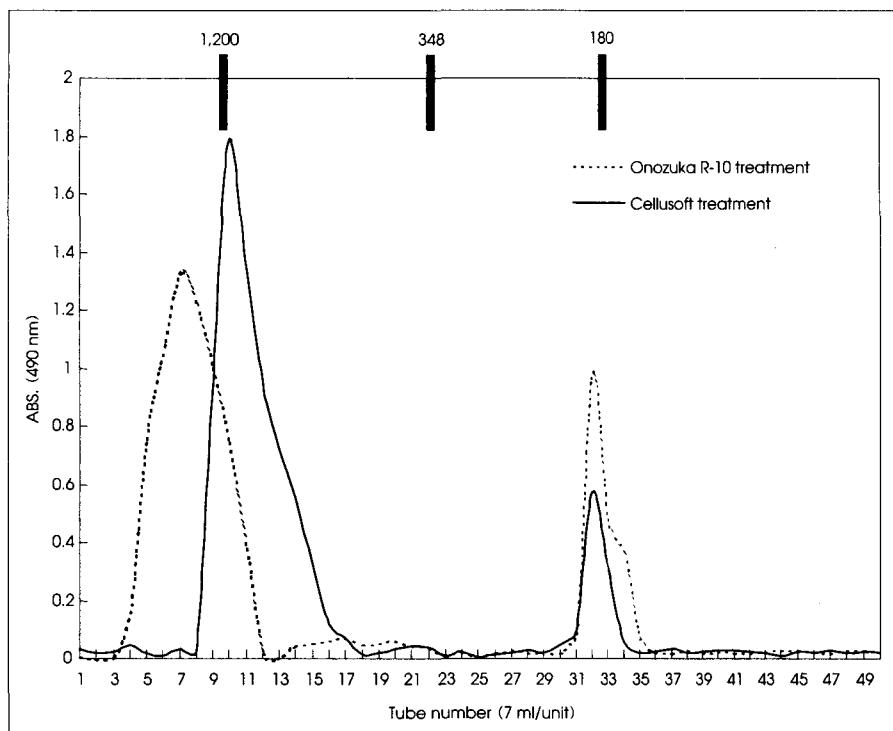


Fig. 2. Determine of molecular weight distribution manufactured soluble dietary fiber.

Table 5. Retarding effect of dietary fibers on dialysis membrane transport of bile acid

Sample	Dialysis for 30min.		Dialysis for 2 hour		Dialysis for 4 hour	
	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	RI ¹⁾ (%)	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	RI (%)	Bile acid in dialyzate (mmol/L)	RI (%)
Nomal	0.129 ± 0.008	0.00	0.293 ± 0.012	0.00	0.465 ± 0.021	0.00
Commercial soluble fiber ²⁾	0.099 ± 0.009	20.8	0.223 ± 0.009	23.12	0.376 ± 0.037	18.36
Manufactured soluble fiber ³⁾	0.102 ± 0.010	18.4	0.234 ± 0.019	19.30	0.399 ± 0.057	12.31

1) RI: bile acid retardation index (%).

2) Commercial soluble fiber: Pectin (Sigma CO.)

3) Manufactured from the oak wood (*Quercus mongolica*)

Values are mean ± S.D. of triplicate trials. Means not followed by the same letter in the same column differ significantly from one another ($p < 0.05$) by Tukey's test.

간 간격으로 살펴 본 결과는 Table 5와 같다. 투석 30분에서는 시판 수용성 식이섬유소와 제조된 수용성 식이섬유 소 군이 가장 현저하게 담즙산의 투과를 억제시켜 각각 약 20% 정도의 억제 효과가 있었다. 투석 2시간에서는 제조된 수용성 식이섬유소 비해 시판 수용성 식이섬유소군이 높았으며 투석 4시간에서도 같은 경향이었다. 따라서 시간 경과에 따라 시판 수용성 식이섬유소와 제조된 수용성 식이섬유소가 비슷한 흡수지연 효과가 있었다.

이와같이 수용성 식이섬유소가 뚜렷하게 bile acid 흡수지연 효과를 보인 것은 hemicellulose가 물을 흡수하여 gel matrix를 형성함으로써 bile acid를 불잡는 효과 (trapping effect)가 있다는 Birkner와 Kern²¹⁾ 보고와 유사하다.

5. 제조된 수용성 식이섬유소의 동물실험을 통한 기능성 검정

1) 체중증가 및 식이효율

실험기간 동안 흰쥐의 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율은 Table 6과 같다. 식이섭취량은 섬유소 공급군이 무섬유식이군 (FF군)에 비해 증가되었다. 체중증가량은 섬유소를 공급한 모든군에서 무섬유식이군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 낮았다. 식이효율은 무섬유식이군에 비해 모든 식이섬유소 군에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 낮았으며 특히 10% 공급군인 10P군과 10M군에서 가장 낮았다. 이러한 변화는 제조 식이섬유소군과 시판 식이섬유소군에서 동일하였다. 이러한 결과는 James 등²²⁾의 보고에서 수용성 식이섬유소를 첨가한 경우 식이섬유소 종류와 함량에 따라 흰쥐의 체중이 감소되었다는 결과와 일치한다.

2) 장기무게

체중 100 g당 간, 신장, 소장 및 맹장의 무게는 Table 7와 같다. 간의 무게는 무섬유식이군이 정상군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었으며 무섬유식이군에 비해 섬유소 공급군 모두가 유의적 ($p < 0.05$)으로 낮았다. 신장의 무개는 실험군간에서 유의적인 차이가 없었다. 소장의 무개는 정상군과 무섬유식이군은 차이가 없었으며 섬유소 공급군에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 증가되었고 섬유소 농도별, 종류별 차이는 없었다. 이러한 결과는 수용성 석이섬유소의 섭취에 따른 소장 무게가 증가된다는 Lupton 등²³⁾의 결과와도 유사하다. 맹장의 무개는 정상군과 FF군에 비해 모든 섬유소 군에서 높았으며 또 5% 공급군보다 10% 공급군에서 더 높았다. 따라서 소장무게 증가 뿐만 아니라 맹장의 무게 증가는 식이증의 난소화성 물질의 공급으로 실험동물의 소화기관과 그 기능에 영향을 미쳐 일어나는 생리적인 적응 현상으로 사료된다.

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

제조된 수용성 석이섬유소의 생체 유해성 검정을 위하여

Table 6. Effects of soluble dietary fibers on food intake, body weight gains and food efficiency ratio (FER) in rats fed high cholesterol

Groups	Food intake (g/body wt)	Body weight gain (g)	FER
Normal	23.60 ± 0.61 ^b	168.0 ± 7.0 ^b	0.29 ± 0.03 ^a
FF	23.73 ± 0.28 ^b	185.2 ± 7.3 ^a	0.28 ± 0.02 ^a
5P	25.56 ± 0.72 ^a	148.3 ± 8.5 ^c	0.20 ± 0.02 ^b
5M	25.55 ± 0.44 ^a	145.5 ± 4.7 ^c	0.19 ± 0.02 ^b
10P	26.63 ± 0.51 ^a	132.7 ± 12.1 ^c	0.16 ± 0.02 ^{bc}
10M	26.45 ± 0.26 ^a	145.5 ± 4.7 ^c	0.15 ± 0.01 ^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.

Normal: basal diet, FF: basal diet + 1% cholesterol

5P: basal diet + 1% cholesterol + 5% pectin

5M: basal diet + 1% cholesterol + 5% manufactured soluble fiber

10P: basal diet + 1% cholesterol + 10% pectin

10M: basal diet + 1% cholesterol + 10% manufactured soluble fiber

Table 7. Organ weights of rat fed soluble dietary fibers (g/100 g body weight)

Groups	Liver	Kidney	intestine	Cecum
Normal	2.96 ± 0.27 ^c	0.69 ± 0.05 ^{ns}	2.02 ± 0.07 ^b	0.57 ± 0.05 ^d
FF	5.06 ± 0.10 ^a	0.68 ± 0.03	2.26 ± 0.19 ^b	0.69 ± 0.05 ^d
5P	4.22 ± 0.11 ^b	0.65 ± 0.01	2.49 ± 0.07 ^b	1.55 ± 0.09 ^c
5M	4.21 ± 0.13 ^b	0.67 ± 0.02	2.47 ± 0.09 ^a	1.90 ± 0.17 ^b
10P	4.14 ± 0.08 ^b	0.66 ± 0.01	2.46 ± 0.14 ^b	2.47 ± 0.12 ^a
10M	4.22 ± 0.13 ^b	0.64 ± 0.02	2.58 ± 0.09 ^a	2.44 ± 0.24 ^a

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 & 6.

간조직의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화와 간조직의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정한 결과는 Table 8과 같다. GOT 활성은 정상군에 비해 무섬유식이군에서 높았고 수용성 석이섬유소를 공급한 군에서 모두 정상군 수준으로 감소되었다. GPT 활성은 정상군에 비해 무섬유식이군에서 58% 증가되었으며 섬유소 공급군들은 다소 감소되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다. 이러한 결과는 Agunbiade 등²⁴⁾의 보고에서 펙틴 성분이 풍부하게 들어있는 참마군에서 GOT, GPT 활성이 감소된다는 보고와 유사하다. 따라서 고콜레스테롤을 석이에 의한 GOT 및 GPT 활성 증가는 있었지만, 이들 수용성 석이섬유소로 인한 추가적인 활성 증가는 없고 오히려 효소 활성을 감소시켰으므로 제조된 수용성 석이섬유소의 독성은 없음을 알 수 있었다.

4) 간조직의 Glutathione S-transferase (GST) 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 Fig. 3과 같다. 정상군에 비해 무섬유식이군에서 25% 감

Table 8. 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	106.0 ± 4.0 ^b	31.5 ± 1.5 ^b
FF	145.4 ± 25.2 ^a	49.8 ± 6.2 ^a
5P	98.3 ± 7.7 ^b	39.4 ± 3.0 ^{ab}
5M	90.9 ± 8.4 ^b	37.8 ± 0.5 ^{ab}
10P	95.5 ± 6.8 ^b	46.0 ± 2.6 ^{ab}
10M	92.3 ± 8.7 ^b	33.8 ± 6.7 ^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 & 6.

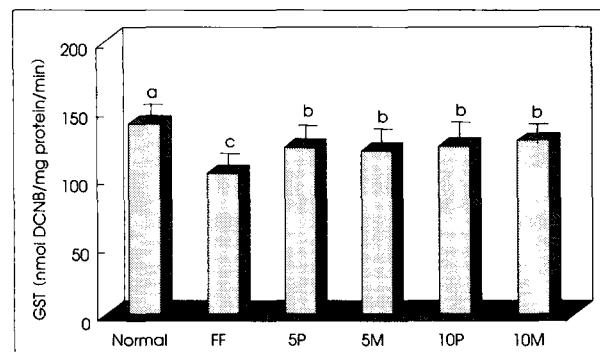


Fig. 3. Effect of soluble dietary fibers on hepatic glutathione S-transferase activities in rats fed high cholesterol diets. All values are mean ± SE (n = 10). Bars with different letters are significantly different among groups at $p < 0.05$ according to Tukey's test. The experimental conditions are the same as Table 2 & 6.

소되었다. 수용성 섬유소 공급군인 5P군, 5M, 10P군 및 10M군은 FF군에 비해 각각 19%, 15%, 19% 및 23%씩 증가되었다. 그리고 제조 섬유소군과 시판 섬유소군은 경향이 동일하였다. 이는 Yan 등²⁵⁾이 해조류에서 추출한 수용성 식이섬유소가 항산화 활성이 있다는 보고와 유사한 결과로 본 과제에서 제조된 수용성 식이섬유소가 항산화적 해독기능이 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 참나무 (oak wood)류종 신갈나무 (*Quercus mongolica*)로부터 식이섬유소를 분리하기 위한 전처리 기술로써 폭쇄법의 조건과 탈리그닌조건 그리고 hemi-cellulose의 최적 효소가수분해 조건을 확립할 수 있었다. 제조된 수용성 식이섬유소는 기존의 시판 수용성 식이섬유소 (pectin)와 고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 생리적 기능이 거의 비슷하고 무독성이 관찰됨으로써 신갈나무로부터 제조된 수용성 식이섬유소의 제조 방법이 우수하다고 판단되므로 앞으로 효율적인 이용이 기대된다.

요 약

본 연구에서는 참나무 (oak wood)류종 신갈나무 (*Quercus mongolica*)로부터 수용성 식이섬유소의 제조와 제조된 수용성 식이섬유소의 생리적 기능성을 검정하고자 하였다. 신갈나무로부터 수용성 식이섬유소의 분리는 전처리 기술로써 폭쇄처리를 하였으며 최적 폭쇄전처리 조건은 25 kg/cm²의 압력으로 6분간 처리하였다. 폭쇄시료를 탈리그닌처리 하기 위해 가장 효과적인 방법중 1% NaOH 용액으로 수회여과 처리 하였다. 앞에서 탈리그닌된 시료를 효소가수분해 처리하기 위해 사용된 효소로는 Onnozok R-10보다 Cellusoft 효소의 가수분해율이 효과적이었다. 제조된 수용성 식이섬유소의 분자량 분포는 약 1,200~348 사이에 존재하는 oligomer 형태의 소당류로 분포되어 있었다. 제조된 수용성 식이섬유소의 생리적 기능성을 검정하기 위해 실험동물은 Sprague-Dawley종 수컷을 이용하여 정상군과 고콜레스테롤식이 실험군으로 나눈 후 고콜레스테롤 실험군을 다시 섬유소 종류와 공급수준에 따라 섬유소를 공급하지 않은 무섬유식이군 (FF군), 시판 식이섬유소를 5% 공급한 군 (5P군) 10% 공급한 군 (10P군) 제조 식이섬유소를 5% 공급한 군 (5M군) 10% 공급한 군 (10M군) 등 각 10마리씩 6군으로 나누어 4주간 사육하였다. 식이섬유소를 공급한 군에서 FF군에 비해 증가되었으며 체중증가량은 섬유소공급군에서 FF군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 낮았다. 식이효율은 FF군에 비해 모든 식이섬유소군에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 낮았으며 특히

10% 공급군에서 가장 낮았다. 간 무게는 FF군에 비하여 식이섬유소 공급군에서 유의적 ($p < 0.05$)으로 감소되었으며 소장 및 맹장무게는 정상군과 무섬유식이군에 비하여 식이섬유소 공급군에서 증가되었다. 혈청 GOT 활성은 식이섬유소 공급군이 FF군에 비해 유의적 ($p < 0.05$)으로 저하되었다. GPT 활성은 정상군에 비해 무섬유식이군인 FF군에서 증가되었으며 섬유소 공급군들은 다소 감소되는 경향이었다. 간조직 중 GST 활성은 FF군에 비해 식이섬유소 공급군 모두 활성이 증가되었다. 그리고 이러한 생리적 기능은 제조된 수용성 섬유소군이 시판 수용성 섬유소와 차이가 없었다. 결론적으로 제조된 수용성 식이섬유소와 시판되는 수용성 식이섬유소가 생리적 기능이 거의 비슷하고 무독성이 관찰됨으로써 신갈나무로부터 제조된 수용성 식이섬유소의 제조 방법이 우수하다고 볼 수 있다.

■ 감사의 글

이 논문은 1999년 농림부에서 시행한 농림기술개발 연구비 (농특 1999-0134)의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 연구비지원에 감사드립니다.

Literature cited

- Trowell HC. Definition of dietary fiber adn hypothesis that it is a protective factorin certain diseases. *Am J Clin Nutr* 29: 417-427, 1986
- Whyte J, McIntosh GH, Arthur RM, Nestel PJ. Barley and wheat foods influence on plasma cholesterol concentration in hypercholesterolemic man. *Am J Clin Nutr* 53: 1205-1209, 1991
- Gordon DT. The importance of total dietary fiber in human nutrition and health. *Korean J Nutr* 25: 75-82, 1992
- Schneeman BO, Tietyen J. Dietary fiber. In Shils M, E., Olson, F.A., Shike, M. Eds. *Modern Nutrition in health and disease* 89-100, Lea & Febiger, 1994
- Stroy JA. Dietary fiber and lipid metabolism. Medical aspects of dietary fiber. *Plenum Press New York* 137: 1980
- Torsdottir I, Alpsten M, Holm G, Sandberg AS, Tolli J. A small dose of soluble alginate fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. *J Nutr* 121: 795-781, 1991
- Kay RM, Truswell AS. Effect of citrus pectin on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Am J Clin Nutr* 30: 171-177, 1977
- Newmark HL, Lupton JR. Determinants and consequences of colonic luminal pH, Implicationsfor colon cancer. *Nutr Cancer* 14: 161-173, 1990
- Harris SS. Health claims for foods in the international market. *Food Tech* 46(2) : 92-94, 1992
- Lee JY, Chang JP. 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*, 2000. pp.33-34
- 11) Min DS, Lee JY, Yoon BH. *Wood chemistry*. Sunjin Press Seoul, 1981, pp.366-375
 - 12) Annual Book of ASTM Standards Designation. D 1795-1762, 1997
 - 13) Bochardt LG, Easty DB. Improvement in gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetate. *Tappi* 65(4) : 127-128, 1983
 - 14) Vidal T, Colom Pastor JF. Determination of carbohydrates by gas chromatography. *Tappi* 70(9) : 132, 1984
 - 15) Yang JK. Development of the delignification methods of steam exploded hardwoods for enzymatic hydrolysis, Department of forestry graduate school, Kyungook National University, Doctor paper, 1994
 - 16) Boyd GS, Eastwood MA, Maclean N. Bile acid in the rat: Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J Lipid Res* 7: 83-94, 1966
 - 17) Reitman S, Frankel S. A colocrimetric method for the determination of serum goutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63, 1957
 - 18) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione-S-transferase: The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
 - 19) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 20) Chai SE, Kim BR. Statistic analysis used spss/pc. Bumnum Co, 1988
 - 21) Birkner MJ, Kern F. *In vitro* absorption of bile salts to food residues, salicylazosulfapyridine and hemicellulose. *Gastroenterol* 87(2) : 237-244, 1974
 - 22) James W, Anderson EJ, Susan RM. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J Nutr* 124: 78-83, 1994
 - 23) Lupton JR, Morin JL. Barley bran flour accelerates gastrointestinal transit time. *J Am Diet Assoc* 93: 881-885, 1993
 - 24) Agunbiade SO, Longe OG. African yam bean hull chemical composition and its effect on rats mineral retention serum biochemical components and enzymatic activities. *Nahrung* 42(2) : 89-93, 1998