

귀리로부터 추출된 수용성 Gum의 *in vitro* Cholesterol 흡착능

- 연구노트 -

서용기 · 황 기[†]

계명대학교 식품가공학과

In vitro Cholesterol Adsorption Activity of Oat Gum

Yong-Ki Seo and Key Whang[†]

Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

Abstract

Oat gum, a soluble dietary fiber, was extracted from rolled oat and the content of β -glucan and the cholesterol adsorption activity of oat gum were examined. The content of oat gum extracted from rolled oat was 5.15 % and the amount of β -glucan in the oat gum was 29.48 %. Most of the cholesterol adsorption of oat gum occurred within 10 hours in the dialysis cell and the cholesterol adsorption activity of oat gum was between 12 to 25%.

Key words: oat gum, soluble dietary fiber, β -glucan, cholesterol adsorption activity

서 론

귀리나 보리의 배유(endosperm) 세포벽에는 hemi-cellulose계 식이섬유소인 β -glucan이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(1-3). 특히 귀리는 전체적으로 2~6%의 높은 β -glucan을 함유하고 있으며(4-6) 귀리의 bran 층과 rolled oat로부터 추출된 수용성 gum 중 β -glucan의 함량은 각각 70~90%와 50% 이상이다(7, 8). β -glucan은 단당류인 glucose가 β -(1,3)과 β -(1,4) 결합으로 연결된 직쇄상의 다당류이며(3-5,7-13) 그 분자량은 cellulose 보다 작은 $2\sim 3 \times 10^6$ 이고 수용성이 강한 새로운 점질성 물질의 식품 자원으로서 또 영양학적, 의학적 기능을 가진 신소재로서 그 활용 가치가 주목받고 있다(4,5,7,9).

포화 지방산과 cholesterol의 과잉 섭취와 그로 인한 체내 과다 축적은 고혈압, 동맥경화 등 순환계 질병의 발병 원인이 되고 있다는 사실은 너무나 잘 알려져 있으며 최근 국내에서도 식생활의 서구화 경향으로 이와 같은 순환계 질병의 발병율이 높아지고 있는 실정이다(14). 이러한 질병의 근본 원인인 cholesterol은 주로 수용성 식이섬유소에 의해 흡착되어 체외로 배설됨으로써 그 혈중 농도가 낮아지는 것으로 알려져 있으며(14, 15) 특히 귀리 β -glucan의 체내 cholesterol 저하 작용

은 탁월한 것으로 판명되었다(3,7,9,14). 귀리 β -glucan의 체내 cholesterol 저하 작용을 서구에서는 이미 제과 제빵 등에 이용하고 있으며(4,7,9) 또한 β -glucan의 증점 작용은 ice cream, sauce 그리고 salad dressing류에도 이용 가치가 충분한 것으로 밝혀졌다(7).

한편 이렇듯 β -glucan의 cholesterol 저하 작용이 여러 임상 실험 결과 밝혀졌지만(2-4,8,14,15) β -glucan의 cholesterol 흡착력이 실험관 내에서 정량적으로 보고된 실험 결과는 매우 불충분한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 귀리의 수용성 식이섬유소(gum류)를 추출하여 β -glucan을 정량하고 cholesterol의 흡착능을 *in vitro* 상에서 검토함으로써 체내에서 β -glucan의 cholesterol 저하력을 간접적으로 측정하고자 하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

귀리의 일반 성분 분석

귀리는 경북 하양 소재 (주) 해태 제과로부터 rolled oat(미국산) 형태로 제공받아 분쇄하여 60 mesh 이하의 크기로 분말화하고 진공 포장 후 냉장하여 사용하였다. 시료로 사용한 귀리의 일반 성분 중 수분, 회분, 지방 그리고 단백질의 함량은 각각 상압 건조법, 회화법,

[†]To whom all correspondence should be addressed

Soxhlet법, Kjeldahl 질소 정량법으로 측정하였다.

귀리의 총식이섬유소, 전분 함량 측정

귀리의 총식이섬유소 함량은 AOAC 효소 중량법(985.29, 16th ed. 1995)으로 측정하였으며 모든 수치는 최종적으로 단백질과 회분의 함량을 감하여 계산하였다. 전분의 함량은 glucose oxidase-peroxidase(GOP)법(16)으로 측정하였다. 즉, 1%의 귀리 분말액(w/v)을 α -amylase와 amyloglucosidase로 처리한 후 유리된 glucose 양을 GOP로 측정하였다. 효소액과 시료를 각각 제외한 효소와 시료 공시험도 위 조건과 동일한 상황에서 동시에 행하여 최종 수치에서 감하여 보정하였다.

귀리의 수용성 gum 추출

귀리의 수용성 gum은 cholesterol을 흡착하는 근본 물질로 알려져 있으며 다른 식이섬유소에 비해 수용성이 비교적 높은 분자이다. 귀리의 수용성 gum 추출은 Dawkins 와 Nnanna(7)의 방법 중 전분의 오염이 최소화되는 것으로 보고된 pH 10.5와 55°C의 실험 조건에서 수행하였다. 즉, 5g의 oat을 170ml의 증류수와 혼합하여 균질화(AM-10-140, Nissei)한 후 2N NaOH용액으로 균질액의 pH를 10.5로 조절하고 55°C에서 1시간 중탕한 후 16,300×g에서 20분간 원심분리(Supra 21K, 한일과학)하여 전분을 제거하였다. 나머지 상등액은 2N HCl 용액으로 pH를 4.5로 조절하고 다시 원심분리(2,000×g, 20min)하여 단백질을 침전시켰다. 침전된 단백질은 제거하고 상등액은 2N NaOH 용액으로 pH를 7.0으로 조절한 후 동량의 isopropanol을 가하고 원심분리(2,000×g, 20min)하여 침전된 수용성 gum을 추출하였다. 추출된 gum은 동결 건조(FD 5512-01, 일신엔지니어링)한 후 -20°C에서 보관하면서 사용하였다. 추출된 귀리의 전분 및 단백질 오염 여부는 iodine test(17)와 ninhydrin test(18)를 실시하여 확인하였다.

귀리 gum 중 β -glucan의 정량

순수한 β -glucanase 확보의 어려움 때문에 β -glucanase는 Carr 등(9)의 방법으로 제조하여 사용하였다. 즉, Sigma사의 cellulase(C0901) 0.4g을 0.05M sodium acetate-HCl buffer(pH 4.0, 10ml)에 녹인 후 1,600×g에서 10분간 원심분리하고 상등액을 취하여 70°C에서 1시간 가열하면서 잔존 amylase 활성을 제거하였다. 2분간 ice bath에서 냉각한 후 2L의 0.05M sodium acetate-HCl buffer로 4°C에서 16시간 투석 후 30분간 원심분리(1,600×g)하여 상등액으로 β -glucanase 효소액을 제조하고 4°C에서 저장하면서 1주일 이내에 사용하

였다. 제조한 효소액은 1% 전분 용액에 반응시켜 잔존 amylase 활성 여부를 확인하였고 β -glucanase 활성은 1% 보리 β -glucan(G-6513, Sigma) 용액에 반응시켜 정성적으로 검토하였다.

추출 후 동결 건조된 귀리 gum은 0.05M sodium succinate buffer(pH 5.5, 0.02% sodium azide 용해)에 녹여(1%, w/v) 0.4ml를 취하고 다시 0.4ml의 sodium succinate buffer와 위의 방법으로 제조한 효소액 0.2ml로 혼합액을 만든 후 40°C에서 3시간 배양하여 유리된 glucose 양을 glucose oxidase-peroxidase법(Karkalas, 1985)으로 측정하여 추출된 β -glucan의 양을 정량하였다. 또 전분 측정시와 동일한 방법으로 효소액과 시료를 각각 제외한 효소와 시료 공시험도 위 조건과 동일한 상황에서 동시에 행하여 최종 수치에서 감하여 보정하였다.

귀리 gum의 cholesterol 흡착능

추출된 귀리 gum의 cholesterol 흡착능을 측정하기 위하여 평형 투석 장치인 acryl성 plastic dialysis cell(08-066-17, Fisher)을 사용하였다. 이 장치는 2개의 10 ml half cell로 구성되어 있고 2개의 half cell 중간의 투석막(MWCO 6,000)을 장착하였다. 한쪽 cell에는 0.1% β -glucan 용액 3ml와 cholesterol 용액(0.057ml/ml isopropanol, v/v, 아산제약) 7ml의 혼합액을 넣고(투석막 안) 다른 쪽 cell에는 증류수 3ml와 isopropanol 7ml의 혼합액을 넣은 후(투석막 밖) shaker로 진탕하면서 60시간 동안 투석을 수행하였다. 투석 중 주기적으로 양쪽 cell 혼합액의 cholesterol 농도를 측정하여 그 변화를 추적함으로써 β -glucan의 cholesterol 흡착력을 관찰하였다. 한편 β -glucan 용액을 제외한 순 cholesterol 용액만의 투석도 위와 동일한 조건에서 수행하여 비교하였다.

Cholesterol 농도 측정

Cholesterol은 cholesterol 측정 kit(AM 202-K, 아산제약)를 이용한 효소법으로 측정하였다. 2개의 half cell 각각의 시료 1ml에 cholesterol esterase와 cholesterol oxidase 혼합 효소 시액 2ml를 가한 후 37°C에서 5분간 반응시키고 40분 이내에 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

귀리의 일반 성분 및 전분, 총식이섬유소 함량

Table 1에서 나타난 바와 같이 rolled oat의 수분, 회

Table 1. Composition of rolled oat(%)¹⁾

Moisture	Ash	Fat	Protein	Starch	TDF ²⁾
7.33	5.24	7.47	12.34	50.35	13.05
±0.40	±0.26	±0.13	±0.12	±0.56	±1.04

¹⁾All the values are means for 3 replicates ± standard deviation.

²⁾Total dietary fiber

분, 지방 그리고 단백질의 함량은 각각 7.33, 5.24, 7.47 그리고 12.34%로서 이는 이미 보고된 다른 문헌의 성분 분석 결과와 비슷한 수준이었다(3,9). 이외의 나머지 성분들은 주로 전분이나 식이섬유소로서 rolled oat의 전분과 총식이섬유소의 함량은 각각 50.35와 13.05%로 나타나 두 성분의 합이 60% 이상을 차지하고 있었다. 귀리의 전분 함량은 귀리의 종이나 가공 형태에 따라 약간의 차이는 있으나 일반적으로 50~60% 정도를 함유하는 것으로 보고되었고(3,19) 총식이섬유소 함량도 가공 형태나 부위에 따라 6~20% 정도를 차지하는 것으로 보고되었다(9).

귀리의 수용성 gum 및 β-glucan 함량

추출된 oat gum은 ninhydrin test와 iodine test 결과 전혀 정색 반응을 일으키지 않아(data not shown) 본 실험에서 사용한 pH와 온도 등의 혼합 조건이 단백질과 전분을 효과적으로 제거하였음을 알 수 있었다. 또 β-glucan을 정량하기 위하여 제조한 β-glucanase 효소액은 전분 용액에는 작용하지 않았으나 β-glucan 용액에는 작용하여 정색 반응을 일으켰다(data not shown). 이로써 본 실험에서 제조한 β-glucanase 효소액에는 amylase 활성은 잔존하지 않았고 β-glucanase 활성만 존재함을 정성적으로 확인하였다. 이와 같이 시료의 오염 여부와 효소의 활성을 검증한 후 추출된 gum과 그 중 β-glucan의 함량을 측정한 결과 귀리의 수용성 gum의 수율은 5.15%였고 이 중 β-glucan은 29.48%를 차지하였다(Table 2). 귀리의 수용성 gum은 전분과 단백질을 제거한 후 alcohol로 침전시켜 추출하는 수용성이 높은 분자로서 AOAC 중량법으로 측정되는 총식이섬유소와는 서로 상이한 분자이다. 많은 연구 보고에 의하면 바로 이 귀리의 수용성 gum이 cholesterol 저하

Table 2. Content of oat gum and β-glucan from rolled oat(%)¹⁾

Gum	β-Glucan
5.15 ± 0.63	29.48 ± 1.53

¹⁾All the values are means for 3 replicates ± standard deviation.

작용을 하는 근본 물질인 것으로 알려져 있다(2-5,7-9). 본 실험 결과 β-glucan의 함량이 다른 연구 결과(50% 이상) 보다 낮은 수준이었는데 본 실험에서는 전분의 오염을 최소화하기 위하여 매우 완화된 온도와 pH를 사용하였기 때문이며 본 실험에서도 gum 추출시 온도와 pH를 높이거나 같은 조건에서 oat bran으로부터 β-glucan을 추출했다면 그 함량은 증가했을 것으로 생각된다.

추출된 oat gum의 cholesterol 흡착능

Fig. 1과 2에서 나타난 바와 같이 평형 투석 장치는 유리 cholesterol의 투석 과정과 oat gum과 cholesterol의 결합을 매우 간결하고 명료하게 보여주고 있다. 우선 Fig. 1의 투석막 내부에서는 투석 개시 후 60시간까지 유리 cholesterol은 투석되어 막 내부의 cholesterol 양은 점차 감소하였으며 순 cholesterol액의 cholest-

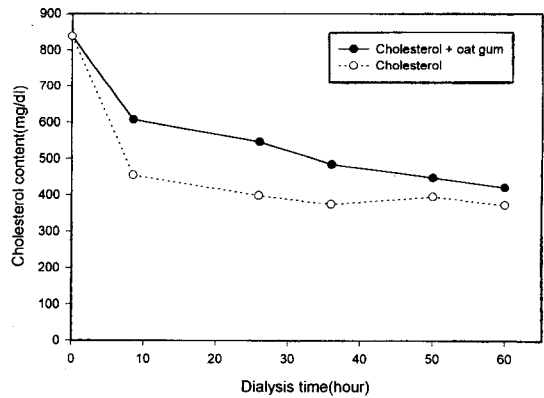


Fig. 1. Changes of cholesterol content in the pure cholesterol and cholesterol+oat gum mixture solution inside the dialysis cell.

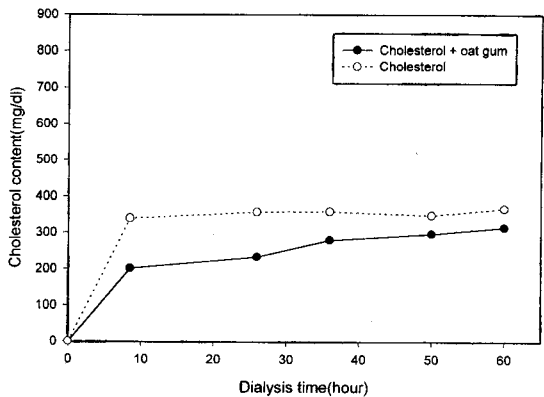


Fig. 2. Changes of cholesterol content in the pure cholesterol and cholesterol+oat gum mixture solution outside the dialysis cell.

terol 감소 속도는 예상대로 oat gum+cholesterol 혼합액보다 훨씬 용이하고 빠르게 진행되었다. 투석막 내부의 cholesterol 농도 감소는 10시간까지 빠른 속도로 진행된다가 10시간 이후 60시간까지는 서서히 진행되어 상당량의 cholesterol 흡착이 10시간 이내에 이루어짐을 알 수 있었다. 한편 총 cholesterol 중 귀리 gum에 흡착되는 cholesterol의 양(oat gum+cholesterol 혼합액의 투석 과정)은 순 cholesterol 액의 시간별 투석 과정과 비교하여 볼 때 투석 개시 후 10시간만에 25%에 달하였으며 50시간 이후 60시간까지는 약 12%에 이르렀다(Fig. 1).

Fig. 2에서 투석막 밖의 cholesterol 농도는 막 내부와는 반대로 증가하였으며 그 농도의 증가가 10시간 내에 급격히 이루어짐으로써 대부분의 cholesterol의 이동(흡착)이 10시간 안에 이루어짐을 다시 확인할 수 있었다. 또 두 액의 투석막 내부의 cholesterol 감소분은 투석막 밖의 cholesterol 증가분 차이의 폭과 거의 일치하고 있었고 두 액의 투석막 내외의 cholesterol 함은 항상 처음 투입한 cholesterol 농도와 거의 일치하고 있어(Fig. 1, 2) 본 실험에서 cholesterol의 투석은 매우 효과적으로 수행되었다고 생각된다.

요 약

pH 10.5와 55°C에서 rolled oat로부터 추출한 수용성 gum은 전분과 단백질의 오염이 전혀 없었고 그 수율은 5.15%였으며 그 중 β -glucan의 함량은 약 30%를 차지하였다. 귀리의 gum은 10시간 이내에 효과적으로 cholesterol을 흡착하는 것으로 나타났고 그 양은 최대 25%에 달하였다.

문 헌

- Henny, R. J. : Pentosan and (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan concentration in ludosperm and whole grain of wheat, barley, oats and rye. *J. Cereal Sci.*, **6**, 253(1987)
- Wood, P. J. : *Cereal polysaccharides in technology and nutrition*. Webster, F. H.(ed.), Am. Assoc. Cereal Chem., p.35(1984)
- Wood, P. J. : *Oat Bran*. American Association of Cereal Chemists Inc., p.13(1993)
- Klopfenstein, C. F. : The role of cereal β -glucans in nutrition and health. *Cereal Foods World*, **10**, 865 (1988)
- Autio, K., Myllymaki, O. and Malkki, Y. : Flow properties of solutions of oat β -glucans. *J. Food Sci.*, **5**, 1364 (1987)
- McCleary, B. V. and Glennie-Holmes, M. : Enzymic quantification of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.*, **91**, 285(1985)
- Dawkins, N. L. and Nnanna, I. A. : Oat gum and β -glucan extraction from oat bran and rolled oats : Temperature and pH effects. *J. Food Sci.*, **3**, 562(1993)
- Wood, P. J. : *Oat β -glucan* : Structure, location and properties. Webster, F. H.(ed.), Am. Assoc. Cereal Chem., p.121(1986)
- Carr, J. M., Glatzer, S., Jeraci, J. L. and Lewis, B. A. : Enzymic determination of β -glucan in cereal based food products. *Cereal Chemistry*, **67**, 226(1990)
- 오희정, 이서래 : 보리 가루에서 분리한 β -glucan의 생리적 기능성. *한국식품과학회지*, **28**, 689(1996)
- 이영택, 석호문, 조미경 : 보리의 도정 및 제분 분획을 이용한 β -glucan의 강화. *한국식품과학회지*, **29**, 888(1997)
- 김미옥, 차희숙, 구성자 : 보리 β -glucan[mixed-linked (1-3),(1-4)- β -D-Glucan]의 리올로지 특성. *한국식품과학회지*, **25**, 15(1993)
- 차희숙, 김미옥, 구성자 : DSC에 의한 보리 β -glucan [mixed-linked (1-3),(1-4)- β -D-Glucan]의 열적 특성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, **25**, 22(1993)
- 강희정, 송영선 : 식이섬유와 콜레스테롤 대사. *한국식품영양과학회지*, **26**, 358(1997)
- Kritchevsky, D., Bonfield, C. and Anderson, J. W. : *Dietary fiber*. Plenum Press, p.339(1990)
- Karkalas, J. : An improved enzymic method for the determination of native and modified starch. *J. Sci. Food Agric.*, **36**, 1019(1985)
- Aurand, L. W., Woods, A. E. and Wells, M. R. : *Carbohydrates*. Van Nostrand Reinhold Co., New York, p.168(1987)
- Robyt, J. F. and White, B. J. : *Biochemical techniques theory and practice*. Waveland Press, p.227(1987)
- 농촌진흥청 : 식품성분표, 농촌영양개선 연구원, p. 12 (1991)

(1998년 2월 26일 접수)