

키토산을 처리한 발아현미의 기능성분 증대 및 비만에 미치는 영향

이 화¹ · 조정용¹ · 고천성¹ · 최차란¹ · 이강덕¹ · 조지은² · 조건식² · 함경식^{1*}

¹목포대학교 식품공학과 및 천일염생명과학연구소
²바이오테크(주)

Increment of Physiologically Active Compounds in Germinated Brown Rice Treated with Chitosan and its Effect on Obesity of Rat Fed a High Fat Diet

Hua Li¹, Jeong-Yong Cho¹, Tian-Cheng Gao¹, Cha-Ran Choi¹, Kang-Deok Lee¹,
Ji-Eun Cho², Geon-Sik Cho², and Kyung-Sik Ham^{1*}

¹Dept. of Food Engineering and Solar Salt Biotechnology Research Center,
Mokpo National University, Jeonnam 534-729, Korea
²Biotech. Co. Ltd., Mokpo 530-370, Korea

Abstract

This study was to investigated the changes of physiologically active components in germinated brown rice treated with chitosan (CGBR) and its anti-obesity effect in rat fed a high fat diet. Contents of physiologically active compounds such as total phenolic compounds, total dietary fiber, γ -aminobutyric acid (GABA), and total phytic acid in CGBR were significantly higher than those of traditional germinated brown rice (GBR). Lipase inhibitory activity of CGBR was higher than those of GBR and brown rice (BR). High fat diets containing CGBR, GBR, and BR were administered to three groups of male Sprague-Dawley rats for four weeks. All groups showed no significant difference in body weight, total abdominal fat, and plasma lipid levels. However, CGBR group appeared to have lower body weight gain and total abdominal fat level than other groups fed high fat diets containing GBR and BR. Total cholesterol and LDL-cholesterol contents in plasma of CGBR group were also lower than those of other groups. Thus, new germination method of brown rice using chitosan is a useful process, which utilizes plant defense responses to elevate the production of secondary metabolites and anti-obesity effect.

Key words: germinated brown rice, chitosan, dietary fiber, γ -aminobutyric acid, anti-obesity

서 론

식물면역활성제(elicitor)는 식물의 방어 기작을 유도하는 물질로, 단백질, 탄수화물, 지방산 등의 다양한 계통의 화합물들이 있다. 이 중 chitosan을 포함한 glucan, oligogalacturonide 등은 탄수화물 elicitor에 속한다(1). 식물은 이들 elicitor를 외부침입자로 인식하여 세포벽구성성분(식이섬유 등), 2차대사산물(phytoalexin, 페놀성 화합물 등), 그리고 방어단백질(chitinase, glucanase 등) 등을 생성한다고 알려져 있다(2). 키토산[poly- β -(1 \rightarrow 4)-N-acetyl-D-glucosamine]은 계, 새우껍질에 다량 존재하는 chitin을 탈아세틸화시켜 얻은 것으로 항곰팡이, 항산화, 항암효과, 혈중콜레스테롤 저하효과 등의 다양한 생리활성이 있어 식품, 화장품, 농업 및 의약품 등에 널리 이용되고 있다(3-5). 또한 키토산은 여러 식물의 성장을 촉진하기도 하며 외부 병원균에 대한 저항성을 증가시킨다고 알려져 있다(3,6-8). 최근 연구 보고에 의하

면 수확 후 키토산을 처리한 토마토에서는 polyphenoloxidase, peroxidase 등이 유도되고 페놀성 화합물이 증가되었다(9). Romanazzi 등(10)은 키토산이 포도에서 phenylalanine ammonia lyase 활성을 유도한다고 보고하였다. 그러므로 재배 및 저장기간 동안 농작물에 키토산을 처리하는 것은 병원균에 대한 저항성을 높이고 인체에 유익한 기능성 성분을 증대시킬 수 있는 유용한 방법으로 기대된다.

현미는 도정에 의한 영양분의 손실이 거의 없어 백미에 비해 비타민, 무기질, 식이섬유가 풍부하다(11). 그러나 현미는 영양성분들이 풍부함에도 불구하고 백미에 비해 소화성이 낮고 식감이 좋지 않아 선호도가 낮다. 최근에는 이를 개선하기 위하여 발아현미 제품이 출시되고 있다. 현미는 발아 중 세포벽 분해효소의 작용에 의해 현미 외피가 분해되어 수분흡수가 용이함으로 취반성이 개선될 뿐만 아니라 발아시키지 않은 현미 혹은 백미에 비해 각종 비타민, 미네랄, GABA, ferulic acid, 식이섬유, oryzanol 등의 유용 성분 함

*Corresponding author. E-mail: ksham@mokpo.ac.kr
Phone: 82-61-450-2425, Fax: 82-61-454-1521

량이 높았다고 보고되었다(12-17). 또한 발아현미는 발아시키지 않은 현미에 비해 혈압강하, 비만 억제, 그리고 콜레스테롤 흡수 저하 효과가 더 증진된다고 알려져 있다(18,19). 이들 연구에 사용한 발아현미는 대부분 물을 발아용액으로 사용하였으나 Oh와 Choi(20)는 키토산을 첨가한 발아용액으로 발아시킬 경우 GABA 함량이 더욱 증가한다고 보고하였다. 그러므로 발아현미 제조 시 발아용액에 키토산 처리는 발아과정 중 GABA 성분뿐만 아니라 인체에 유용한 기능성 성분이 증가될 것으로 기대되나 이에 대한 연구는 이루어진 바가 거의 없다.

따라서, 본 연구에서는 키토산용액으로 발아시킨 키토산 발아현미에서 GABA, 식이섬유, phytic acid, 총 페놀성 화합물 등의 유용성분의 변화 및 lipase 저해 활성 조사와 더불어 키토산발아현미가 흰귀의 비만 억제에 주는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 키토산발아현미는 바이오테크(주)로부터 제공받아 사용하였다. 발아조건은 0.03% 키토산용액(탈아세틸도 93%, 분자량 44,000)으로 25°C에서 72시간이었다. 또한 상기와 동일한 조건에서 증류수만으로 발아시킨 일반발아현미를 대조군으로 사용하였다. 실험에 사용한 현미, 일반발아현미, 그리고 키토산발아현미는 60°C에서 12시간 열풍 건조한 것으로, 모든 시료의 수분함량이 7.2±0.2%이었다.

시약

실험에 사용된 Folin ciocalteu's reagent, lanthanum chloride, gallic acid, α-ketoglutarate, phytic acid, *p*-nitrophenyl butylate, *Pseudomonas fluorescens* 유래의 GABASE, porcine pancreas 유래의 type VI-S lipase 등은 Sigma사에서 구입하였으며, 기타 시약은 분석용 특급제품을 사용하였다.

일반성분 측정

현미, 일반발아현미, 그리고 키토산발아현미의 일반성분 분석은 AOAC 법으로 하였다(21). 즉 수분함량은 105°C에서의 항량법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 질소 정량법, 조지방 함량은 Soxhlet's 추출법, 회분은 550°C에서 직접회화법으로 측정하였으며, 탄수화물 함량은 이들 함량에 대한 전체에서 빼준 함량으로 하였다.

식이섬유의 측정

식이섬유의 함량은 식품영양실험핸드북(22)에서 제시한 효소중량법에 의해 측정하였다.

총페놀성 화합물 함량의 측정

총페놀성 화합물의 함량은 Yildirm 등(23)의 방법에 의해 측정되었다. 즉, 시료 2 g에 80% 메탄올 20 mL를 가하여

실온에서 12시간 동안 진탕·추출한 후 8,000 rpm에서 40분간 원심분리를 행한 다음 상등액을 얻었다. 얻어진 상등액 50 μL에 증류수 450 μL와 2 N Folin ciocalteu's 용액 250 μL를 가하여 20분간 상온에서 반응시킨 다음 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약인 gallic acid를 이용하여 작성한 검량 곡선에 의해 시료의 총 페놀성 화합물의 함량을 정량하였다.

GABA 함량의 측정

시료 2 g에 methanol 4 mL를 가하여 항온수조(60°C)에서 건조시킨 다음 여기에 70 mM lanthanum chloride 10 mL를 가하여 15분간 진탕하였고, 13,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻어진 상등액 8 mL에 1 M KOH 1.6 mL를 가하여 5분간 진탕한 다음 원심분리하였다. 이 GABA 성분이 함유된 상등액 550 μL에 4 mM NADP 용액 150 μL, 0.5 M potassium pyrophosphate buffer(pH 8.6) 용액 200 μL, 그리고 gabase(2 units/mL) 50 μL를 혼합한 다음, 최종적으로 20 mM α-ketoglutarate 50 μL를 가하여 60분간 반응시켜 340 nm에서 흡광도를 측정하였다(24).

Phytic acid 함량의 측정

시료 2 g에 2.4% HCl 용액 40 mL를 가하여 25°C에서 3시간 동안 추출한 다음 Whatman No. 1로 여과하여 추출여액을 얻었다. 추출여액에 Na₂EDTA(0.11 M)-NaOH(0.75 M) 용액을 혼합하였다. 이 혼합 용액을 anion exchange 컬럼(AG1-X4, 100-200 mesh, 0.5 g, chloride form, Bio-Rad Co., CA, USA)에 주입한 다음 증류수와 0.1 M NaCl로 세척한 후 0.7 M NaCl 용액으로 용출하여 phytic acid가 함유된 회분을 얻었다. 얻어진 용출회분에 wade reagent(0.3% sulfosalicylic acid, 0.03% FeCl₃·6H₂O)를 가하여 충분히 혼합한 다음 500 nm에서 흡광도를 측정하였다(25).

Lipase 저해 활성 측정

시료 2 g에 80% 메탄올 20 mL로 상온에서 24시간 동안 추출하여 얻어진 추출용액을 감압 농축한 다음 30% methanol로 용해하였다. 시료 중량의 0.67 g에 해당하는 추출용액(100 μL)에 lipase 효소 용액(lipase 10,000 unit/mL, 10 mM MOPS & 1 mM EDTA, pH 6.8)의 30 μL와 반응용액(100 mM Tris-HCl/5 mM CaCl₂, pH 7.0) 850 μL를 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 이 용액에 *p*-nitrophenyl butyrate(10 mM, dimethyl formide) 20 μL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 400 nm에서 흡광도를 측정하였다(26).

실험동물 및 식이

실험에 사용한 쥐는 샘타코(경기, 한국)로부터 6주령이 된 Sprague-Dawley 수컷을 제공받아 1주 동안 적응기간을 가졌다. 사육장의 온도는 23±2°C, 습도는 50%, 명암주기는 12시간으로 하였다. 각 실험군의 고지방 식이조성은 AIN-93G에 의해 총 칼로리를 조절하여 성분배합을 하였다(Table 1).

Table 1. Composition of the experimental diet

Components	Diets ¹⁾ (g/kg diet)				
	Normal	Control	BR	GBR	CGBR
Casein	200	238.8	206.0	206.0	206.0
L-Cystine	3	3.6	3.6	3.6	3.6
Corn Starch	397.486	198.1	61.2	61.2	61.2
Sucrose	100	87.8	-	-	-
Dextrose	132	116.5	-	-	-
Cellulose	50	59.7	43.7	43.7	43.7
Soybean Oil	70	83.6	73.6	73.6	73.6
Lard	0	155.2	155.2	155.2	155.2
t-Butylhydroquinone	0.014	0.017	0.017	0.017	0.017
Mineral Mix ²⁾	35	41.8	41.8	41.8	41.8
Vitamin Mix ³⁾	10	11.9	11.9	11.9	11.9
Choline bitartrate	2.5	3.0	3.0	3.0	3.0
Brown rice	-	-	400	-	-
Germinated brown rice	-	-	-	400	-
Germinated brown rice treated with chitosan	-	-	-	-	400

¹⁾Normal, normal diet; Control, high fat diet; BR, high fat diet containing brown rice; GBR, high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾AIN-93G Mineral mix containing (g/kg mixture): calcium carbonate 357, potassium phosphate monobasic 196, potassium citrate 70.78, sodium chloride 74, potassium sulfate 46.6, magnesium oxide 24, ferric citrate 6.06, zinc carbonate 1.65, manganous carbonate 0.63, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenate 0.0103, ammonium paramolybdate 0.008, sodium metasilicate 1.45, chromium potassium sulfate 0.275, lithium chloride, 0.0174, boric acid 0.0815, sodium fluoride 0.0635, nickel carbonate 0.0318, ammonium vanadate 0.0066, sucrose finely powdered, to make 221.026 g.

³⁾AIN-93G Vitamin mix containing (g/kg mixture): niacin 3, calcium pantothenate 1.6, pyridoxine HCl 0.7, thiamine HCl 0.6, riboflavin 0.6, folic acid 0.2, biotin 0.02, vitamin E acetate (500 IU/gm) 15, vitamin B₁₂ (0.1%) 2.5, vitamin A palmitate (500,000 IU/gm) 0.8, vitamin D₃ (400,000 IU/gm) 0.25, vitamin K₁/dextrose mix (10 mg/gm) 7.5, sucrose finely powdered, to make 967.23 g.

특히 현미, 일반발아현미, 그리고 키토산발아현미를 대상으로 조단백질, 조지방, 탄수화물의 일반성분을 조사한 결과 (Table 2)에서는 이들 시료 간의 큰 함량 차이가 없었다. 따라서 각 시료들은 40%의 동일한 양으로 각각 사료에 배합되고 실험에 사용되었다(19). 실험 중에는 쥐에게 물과 식이를 *ad libitum*으로 공급하였다. 비만실험에 사용한 식이군은 일반식이로만 섭취시킨 정상식이군(Normal), 고지방식이를 섭취시킨 고지방식이군(Control), 고지방사료에 현미를 첨가한 현미군(BR), 고지방사료에 일반 발아현미를 첨가한 일반발아현미군(GBR), 그리고 고지방사료에 키토산 발아현미를 첨가한 키토산발아현미군(CGBR) 등의 5군으로 하였다.

식이기간 중 쥐의 체중은 주 1회로 4주간 측정하였다. 식이섭취량은 식이공급량에 대한 잔여량 및 흘린 양을 제외하고 계산하였으며, 또한 1일 평균섭취열량을 산출하여 비교하였다. 식이효율(food efficiency ratio: FER)은 4주간의 총 식이섭취량에 대한 체중증가량의 비로 계산하였다.

쥐 혈장 및 복부지방의 채취

실험동물을 희생 전 12시간 절식시킨 다음 에테르로 마취시킨 상태에서 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 혈장을 분석 시료로 사용하였다. 복부지방무게는 각 식이군의 부고환지방과 신장지방을 분리하여 생리식염수(0.9% NaCl 용액)로 세척한 다음 무게를 측정하였다.

분변 중의 조지방 함량 측정

분변 중의 조지방 함량은 희생 전 1주일부터 수집한 분변을 대상으로 Soxhlet's 추출법에 의해 측정하였다.

지방 및 콜레스테롤 분석

분리한 혈장의 총 cholesterol(CHOL), triglyceride(TG), 그리고 HDL cholesterol(HDL-C)의 함량은 혈액분석기(VITROS DT60 II system, Johnson & Johnson Co., USA)를 이용한 enzymatic method에 의해 측정하였다. 또한 LDL cholesterol(LDL-C) 함량은 Friedwald 공식(CHOL-HDL-0.2×TG)에 의해 계산되었다.

통계처리

통계처리는 Statistical package for social sciences (SPSS)를 사용하였다. 각 식이군 간의 차이는 One-way ANOVA를 사용하여 분석하였고, 유의수준 0.05에서 통계적으로 유의한 경우 어느 집단에서 차이가 발생하였는지를 파악하기 위해 사후검정(Scheffe test)을 실시하였다.

결과 및 고찰

일반성분의 변화

현미, 일반발아현미, 그리고 키토산발아현미를 대상으로 조회분, 조지방, 조단백질, 탄수화물 등의 일반성분을 조사하였다. 그 결과, 조회분과 조지방 함량은 각각 1.3~1.8%와

Table 2. General composition of BR, GBR, and CGBR

	Samples (%) ¹⁾		
	BR	GBR	CGBR
Moisture	7.3±0.0 ²⁾	7.3±0.1	7.2±0.0
Crude ash	1.8±0.0	1.3±0.0	1.3±0.0
Crude fat	2.9±0.0	2.5±0.0	2.4±0.1
Crude protein	8.3±0.0	8.2±0.1	8.2±0.0
Carbohydrate	79.7±0.0	80.7±0.0	80.8±0.0

¹⁾BR, brown rice; GBR, germinated brown rice; CGBR, germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾Each value represents mean±SD.

2.4~2.9%로 나타나 조단백질과 탄수화물은 각각 8.2%이내와 80%내외를 보여 현미와 발아현미들 간의 함량 차이는 거의 없었다(Table 2). 이 결과로부터 키토산처리와 단백질, 지방, 탄수화물 등의 1차대사산물 함량 변화에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

식이섬유, 총 페놀성 화합물, GABA 및 phytic acid의 함량

식물에 키토산을 처리하였을 때 식물은 여러 방어기능이 증가되는데 그 중에 하나가 세포벽 두께가 두꺼워지는 현상이다(2). 그래서 식품측면에서 보았을 때 세포벽성분의 증가에 의해 식이섬유가 증가할 가능성이 있어 키토산발아현미(CGBR)와 일반발아현미(GBR)를 대상으로 식이섬유 성분의 변화를 조사하였다. 그 결과(Table 3), 키토산발아현미와 일반발아현미의 수용성식이섬유 함량은 유사한 값을 보였으나 키토산발아현미의 불용성식이섬유 함량은 8.13%로 일반발아현미(6.88%)보다 높게 측정되었다. 또한 키토산발아현미(CGBR)와 일반발아현미(GBR)를 대상으로 식이섬유, 총 페놀성 화합물, GABA, 그리고 phytic acid 등의 함량을 조사하였다. 키토산발아현미의 총 페놀성 화합물 함량은 92.1 mg/100 g으로 일반발아현미(74.5 mg/100 g)보다 높게 나타났다. 게다가 키토산발아현미의 GABA 함량은 1882.2 nmol/g으로 일반발아현미(1260 nmol/g)보다 약 1.5배 정도 높게 나타나 Oh와 Choi(20)의 결과와 일치하였다. Phytic acid 함량은 일반발아현미가 13.1 mg/g으로 측정된 반면 키토산발아현미는 23.9 mg/g으로 일반발아현미에 비해 약 2배 정도 높은 함량을 나타냈다.

Lipase 저해 활성

중성지방은 소장에서 중성지방상태로 흡수되지 않고 li-

pase 작용에 의해 지방산과 모노아실글리세롤로 분해되어 체내로 흡수, 축적되는 것으로 알려져 있다(27). Lipase 저해 활성을 갖는 식품 섭취는 중성지방의 흡수가 억제됨으로 인해 비만 억제 효과가 기대되어 현미(BR), 일반발아현미(GBR), 그리고 키토산발아현미(CGBR)를 대상으로 lipase inhibitory 활성을 조사하였다. 그 결과(Fig. 1), 현미가 29.6%, 일반발아현미가 35.4%, 그리고 키토산발아현미가 43.1%의 lipase 저해 활성을 보였으며 키토산처리에 의해 발아과정 중 lipase 저해에 기여하는 성분이 증대되는 것으로 나타났다.

체중변화, 에너지섭취량 및 식이효율

4주 동안 현미, 일반발아현미, 그리고 키토산발아현미가 함유된 사료를 섭취시킨 쥐의 체중 변화를 조사하였다(Table 4). 식이 4주 경과 후 각 식이군의 체중은 400 g 이상으로 증가하였고, 집단 간의 유의적인 차이가 있었다. 즉 고지방식을 공급한 4그룹 중 대조군의 평균 체중은 452.5 g로 가장 많이 증가하였고, 현미군이 449.1 g, 일반발아현미군이 440.3 g, 그리고 키토산발아현미군이 425.3 g의 순으로 낮은 경향을 나타냈다. 그러나 일반발아현미군과 키토산발아현미군 간의 유의적 차이는 보이지 않았다.

사료 섭취 4주경과 후 각 식이군의 식이효율을 분석한 결

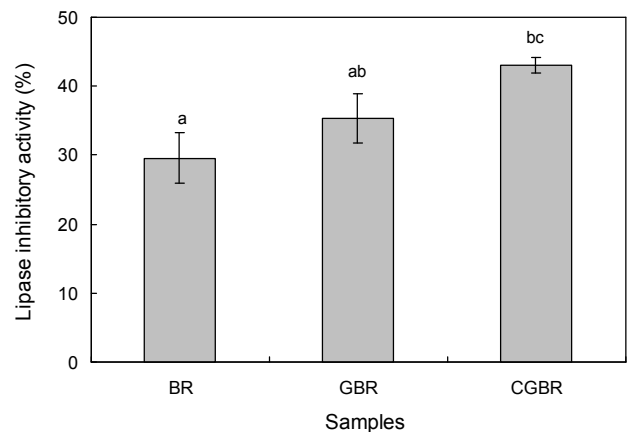


Fig. 1. Lipase inhibitory activities of brown rice (BR), germinated brown rice (GBR) and germinated brown rice treated with chitosan (CGBR).

Each bar represents mean±SD. The bars with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Contents of physiologically active compounds in GBR and CGBR

Samples ¹⁾	Dietary fiber (%)		Phenolic compound ²⁾ (mg/g)	GABA (nmol/g)	Phytic acid (mg/g)
	Soluble	Insoluble			
GBR	1.40±0.07 ³⁾	6.88±0.01	74.5±1.5	1260.0±137.7	13.1±0.4
CGBR	1.32±0.31	8.13±0.41	92.1±3.6	1882.2±105.5	23.9±0.1

¹⁾GBR, germinated brown rice; CGBR, germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾The phenolic content was determined as gallic acid equivalent.

³⁾Each value represents mean±SD.

Table 4. Changes of body weights in rats fed high fat diets containing various rices for four weeks

Rats ¹⁾	Body weight (g)				
	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week
Normal	260.2±15.5 ^{2)a3)}	307.8±6.6 ^a	351.4±13.3 ^a	379.9±19.6 ^a	405.8±24.5 ^a
Control	262.5±6.6 ^a	319.6±9.9 ^a	373.9±12.5 ^a	416.8±15.4 ^b	452.4±20.3 ^b
BR	262.7±6.4 ^a	320.4±11.7 ^a	371.4±17.1 ^a	412.8±22.5 ^b	449.1±25.0 ^b
GBR	261.9±7.8 ^a	319.6±13.8 ^a	369.8±18.4 ^a	410.2±22.4 ^{ab}	440.3±27.2 ^{ab}
CGBR	256.3±3.9 ^a	312.1±9.1 ^a	359.4±12.4 ^a	394.8±13.1 ^{ab}	425.3±15.3 ^{ab}

¹⁾Normal, rat fed normal diet; Control, rat fed high fat diet; BR, rat fed high fat diet containing brown rice; GBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾Each value represents mean±SD.

³⁾Values with the different letters are not significantly different (p<0.05).

과(Table 5), 고지방식이료를 공급한 4그룹은 28.5~33.7%로 정상군(23.1%)에 비해 높고 고지방식이군 중 대조군군은 발아현미군과 현미군 간의 유의적 차이를 보였으며 높은 식이효율을 나타냈다. 키토산발아현미군은 현미군 및 일반발아현미군과 거의 유사한 식이효율을 나타냈다.

복부지방량

복부지방은 당뇨병, 동맥경화, 심혈관질환 등의 질병을 유

발할 가능성이 있다고 알려져 있다(28,29). 각 식이군의 복부지방량을 조사한 결과(Table 6), 정상군의 복부지방량은 10.89 g으로 가장 낮은 반면 고지방식이료를 한 대조군의 복부지방량은 16.53 g으로 유의적 차이를 나타냈다(p<0.05). 현미군은 13.62 g, 일반발아현미군은 15.17 g으로 나타났으며 키토산발아현미군은 11.3 g으로 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않지만 다른 현미식이군보다 수치적으로 어느 정도 낮은 복부지방량을 나타내는 것으로 사료된다.

Table 5. Food efficiency ratios in rats fed high fat diets containing various rices for four weeks

Rats ¹⁾	Food intake (g)	Body weight gain (g)	FER ²⁾ (%)
Normal	629.3±32.3 ³⁾	145.6±26.5	23.1±4.2 ^{a4)}
Control	560.7±27.3	188.9±14.9	33.7±2.6 ^c
BR	638.3±50.0	186.4±21.5	29.2±3.4 ^b
GBR	626.8±14.5	178.4±24.5	28.5±3.9 ^b
CGBR	589.8±33.2	169.1±16.7	28.7±2.8 ^b

¹⁾Normal, rat fed normal diet; Control, rat fed high fat diet; BR, rat fed high fat diet containing brown rice; GBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾FER (Food efficiency ratio): Body weight gain (g)/ food intake (g).

³⁾Each value represents mean±SD.

⁴⁾Values with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05).

분변의 조지방 함량

각 식이군의 마지막 4주째의 분변을 수집하여 조지방 함량을 조사하였다(Table 7). 분변 중 조지방의 함량은 집단 간의 유의적인 차이를 보여 정상군이 2.0%로 가장 낮았고, 대조군(2.9%), 현미군(3.0%), 일반발아현미군과 키토산발아현미군(3.9%)의 순으로 높은 경향을 보였다. 정상군을 제외한 모든 집단이 고지방식이에서 나타난 결과로 현미보다는 발아현미의 지질 배출 능력이 더 우수한 것으로 나타났다. 그러나 일반발아현미군과 키토산발아현미군의 경우 유의적인 차이는 없었다.

혈중 중성지질 및 콜레스테롤

사육 4주 후 희생시킨 쥐의 혈액으로부터 분리한 혈장에서 중성지질, 총콜레스테롤(CHOL), LDL-C, 그리고 HDL-C의

Table 6. Total abdominal fat contents of rats fed high fat diets containing various rices for four weeks

Rats ¹⁾	Normal	Control	BR	GBR	CGBR
Total abdominal fat (g)	10.89±2.14 ^{2)a3)}	16.53±3.83 ^b	13.62±3.33 ^{ab}	15.2±4.13 ^{ab}	11.3±2.67 ^{ab}

¹⁾Normal, rat fed normal diet; Control, rat fed high fat diet; BR, rat fed high fat diet containing brown rice; GBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾Each value represents mean±SD.

³⁾Values with the different letters are significantly different (p<0.05).

Table 7. Crude fat contents of feces in rats fed high fat diets containing various rices for four weeks

Rats ¹⁾	Normal	Control	BR	GBR	CGBR
Crude fat (%)	2.0±0.3 ^{2)a3)}	2.9±0.3 ^{ab}	3.0±0.9 ^{ab}	3.9±0.7 ^b	3.9±1.1 ^b

¹⁾Normal, rat fed normal diet; Control, rat fed high fat diet; BR, rat fed high fat diet containing brown rice; GBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾Each value represents mean±SD.

³⁾Values with the different letters are significantly different (p<0.05).

Table 8. Triglyceride (TG), total cholesterol (CHOL), HDL-C and LDL-C in plasma of rats fed experimental diets for four weeks (mg/dL)

Rats ¹⁾	TG	CHOL	HDL-C	LDL-C
Normal	55.1±12.1 ^{2)a3)}	53.4±3.2 ^a	27.1±2.5 ^a	12.3±4.1 ^a
Control	62.3±12.8 ^a	63.9±4.4 ^b	27.1±4.2 ^a	25.4±5.4 ^b
BR	62.6±12.1 ^a	63.7±7.7 ^b	27.9±5.0 ^a	24.8±9.4 ^b
GBR	61.6±15.8 ^a	63.5±2.9 ^b	27.0±3.3 ^a	25.3±5.7 ^b
CGBR	56.1±4.3 ^a	58.9±2.9 ^{ab}	31.3±3.5 ^a	14.9±6.7 ^{ab}

¹⁾Normal, rat fed normal diet; Control, rat fed high fat diet; BR, rat fed high fat diet containing brown rice; GBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice; CGBR, rat fed high fat diet containing germinated brown rice treated with chitosan.

²⁾Each value represents mean±SD.

³⁾Values with the different letters in the same column are significantly different ($p<0.05$).

농도를 조사한 결과는 Table 8과 같다. 혈중 중성지질 농도는 정상군 55.1 mg/dL, 대조군 62.3 mg/dL, 현미군 62.6 mg/dL, 일반발아현미군 61.6 mg/dL, 그리고 키토산발아현미군 56.1 mg/dL로 측정되었다. 모든 식이군 간의 유의적 차이를 보이지 않았으나 고지방식이의 키토산발아현미군(56.1 mg/dL)은 고지방식이를 하지 않은 정상군(55.1 mg/dL)과 거의 유사한 수준이었으며 고지방식이군들(62.3 mg/dL 이상)에 비해 낮은 경향을 나타냈다. 총콜레스테롤의 농도는 혈중 중성지질 농도와 유사한 경향을 나타냈으며 그룹별로 차이를 보였다. 즉, 정상군이 53.4 mg/dL로 가장 낮았고 키토산발아현미군이 59.0 mg/dL로 그 다음이었으며, 대조군, 현미, 일반발아현미군은 63.5~63.9 mg/dL로 비슷하였다. LDL-C 농도는 총콜레스테롤의 농도와 같은 경향을 보였다. 즉 정상군은 12.3 mg/dL, 대조군은 25.4 mg/dL, 현미군은 24.8 mg/dL, 일반발아현미군은 25.3 mg/dL, 그리고 키토산발아현미군은 14.9 mg/dL의 값을 나타내었다. 이 결과로부터 키토산발아현미군의 경우 CHOL과 LDL-C 모두 유의한 차이는 보이지 않았지만 고지방식이군들보다 낮은 수치를 보였다. HDL-C의 농도 또한 집단 간의 유의적인 차이는 보이지 않았으나 키토산발아현미군에서 가장 높은 값을 나타내었다.

본 연구 결과를 종합해 보면 키토산발아현미는 다른 고지방식이군들 간 통계적으로 유의적인 차이는 없었으나 일반발아현미보다 어느 정도 향상된 비만 억제 효과가 있는 것으로 보인다. 또한 총 폐놀성 화합물, 식이섬유, GABA, lipase 저해활성 및 phytic acid 등의 함량도 키토산 처리에 의해 증가하는 것으로 나타났다. 특히 식이섬유, lipase 저해활성, phytic acid 함량이 키토산 처리에 의해 증가한다는 사실은 본 연구가 처음이다. 총 폐놀성 화합물은 체내에서 항산화 작용에 의해 세포손상을 막아 관상동맥질환의 발생을 낮추고 콜레스테롤 저하 효과 외에도 다양한 기능성이 보고되었다(30,31). Khan 등(32)은 키토산이 콩잎에서 phenylpropanoid 생합성 관련 주요 효소인 phenylalanine ammonia-lyase와 tyrosine ammonia-lyase가 유도되고 총 폐놀성 화합물의 함량이 증가한다고 보고하였으며, 키토산발아현미가 일반발아현미보다 그 함량이 높았던 것은 키토산에 의한 영향으로 해석된다. 변비 개선 효과 및 비만과 당뇨 억제

효과가 있다고 알려진 불용성식이섬유는 현미와 발아현미 모두 높은 비율로 존재하고 발아하는 동안 그 함량이 크게 증가한다고 보고되었다(12,33). 수용성식이섬유의 경우 키토산발아현미와 일반발아현미 간에는 거의 차이가 없었으나 불용성식이섬유의 경우 1.2% 이상의 높은 함량을 나타내 키토산이 발아과정 중 불용성식이섬유의 생성을 유도한 것으로 사료된다. 이는 여러 식물에서 키토산처리에 의해 병원균에 대한 방어기작에 하나로 리그닌 생성이 증가한다는 보고(2)와 관련이 있을 것으로 사료된다.

GABA는 중추신경의 신경억제 전달물질로서 혈압강하, 뇌세포의 대사기능 향상, 그리고 혈중 지질 감소 효과가 있다고 보고되었다(34). 키토산발아현미는 일반발아현미에 비해 1.5배 높은 함량을 보여 Oh와 Choi(20)가 보고한 결과와 유사하였으나 발아현미에서의 GABA 생성 기작은 아직까지 밝혀진 바 없다. Phytic acid는 체내에서 미네랄과 결합하여 불용성인 chelate 복합체를 형성함으로써 미네랄과 단백질의 흡수율을 낮춘다고 보고하였다(35,36). Phytic acid는 발아하는 동안 그 함량이 감소한다고 알려져 있으나 키토산발아현미의 phytic acid 함량은 일반발아현미보다 높게 나타나 발아하는 동안 키토산이 phytic acid 분해 억제에 영향을 주었기 때문으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 키토산이 첨가된 발아용액으로 발아시킬 경우 발아하는 동안 키토산이 총 폐놀성 화합물, 불용성식이섬유, GABA 및 phytic acid 등의 유용 성분을 증가시키며 이들 성분 외에도 비만 억제 및 콜레스테롤 개선 효과가 있는 유용 물질의 생성을 유도하는 것으로 사료된다.

요 약

키토산용액으로 발아시킨 키토산발아현미는 증류수만으로 발아시킨 일반발아현미보다 식이섬유, 총 폐놀성 화합물, GABA, 그리고 phytic acid의 함량이 높게 나타났다. 또한, 체내 지방 흡수에 관여하는 lipase 저해 검정에서는 키토산발아현미가 가장 높은 활성을 나타냈으며 일반발아현미도 현미에 비해 높은 활성을 나타냈다. 고지방 식이에 의한 흰쥐의 비만 억제 실험에서는 키토산발아현미군이 대조군과 일반발아현미에 비해 체중 및 복부지방량이 낮고 분변 중의

조지방 함량은 높은 경향을 보였다. 또한 혈중 총콜레스테롤지질, 및 LDL-C의 농도는 낮은 반면 HDL-C 농도는 높은 경향을 나타냈다. 발아현미 제조에 있어 키토산 처리는 발아하는 동안 비만 억제 및 콜레스테롤 감소에 효과가 있는 기능성 성분을 증대시키는 유용한 방법으로 사료된다.

문 헌

1. Zhao J, Davis LC, Verpoorte R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv* 23: 283-333.
2. Cote F, Ham KS, Hahn MG, Bergmann C. 1998. Oligosaccharide elicitors in host-pathogen interactions: Generation, perception, and signal transduction. In *Subcellular biochemistry: plant microbe interactions*. Biswas BB, Das HK, eds. Plenum Publishing Co., London, UK. p 385-432.
3. Terry LA, Joyce DC. 2004. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. *Postharvest Biol Technol* 32: 1-13.
4. Kim SK, Rajapakse N. 2005. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydr Polym* 62: 357-368.
5. Koide SS. 1998. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutritional Research* 18: 1091-1101.
6. Jung HY, Kang SM, Kang YM, Kim YD, Yang JK, Chung YG, Choi MS. 2003. Selection of optimal biotic elicitor on tropane alkaloid production of hairy roots in *Scopolia parviflora* Nakai. *Korean J Med Crop Sci* 11: 358-363.
7. Kim YH, Kim IH, Kim DI. 2006. Production of immunostimulating polysaccharide in *Angelica gigas* Nakai suspension cell cultures. *Korean J Biotech Bioeng* 21: 331-335.
8. Kim SK. 1998. Applications of chitin and chitosan in agriculture. *Korean J Chitin Chitosan* 3: 327-342.
9. Liu J, Tian SP, Meng XH, Xu Y. 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biol Technol* 44: 300-306.
10. Romanazzi G, Nigro F, Ippolito A, Di Venere D, Salerno M. 2002. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage gray mould of table grapes. *J Food Sci* 67: 1862-1867.
11. Choe JS, Ahn HH, Nam HJ. 2002. Comparison of nutritional composition in Korean rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 885-892.
12. Ohtsubo K, Suzuki K, Yasui Y, Kasumi T. 2005. Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. *J Food Comp Anal* 18: 303-316.
13. Kum JS, Choi BK, Lee HY, Park JD, Park HJ. 2004. Physicochemical properties of germinated brown rice. *Korean J Food Preserv* 11: 182-188.
14. Choi HD, Park YK, Kim YS. 2004. Effect of pretreatment conditions on γ -aminobutyric acid content of brown rice and germinated brown rice. *Korean J Food Sci Technol* 36: 761-764.
15. Nakagawa K, Onoto A. 1996. Accumulation of γ -aminobutyric acid (GABA) in the rice germ. *Food Proces* 31: 43-46.
16. Jung GH, Park NY, Jang SM, Lee JB, Jeong YJ. 2004. Effects of germination in brown rice by addition chitosan/glutamic acid. *Korean J Food Preserv* 11: 538-543.
17. Komatsuzaki N, Tsukahara K, Toyoshima H, Suzuki T, Shimizu N, Kimura T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *J Food Eng* 78: 556-560.
18. Choi HD, Kim YS, Choi IW, Seog HM, Park YD. 2006. Hypotensive effect of germinated brown rice on spontaneously hypertensive rats. *Korean J Food Sci Technol* 38: 448-451.
19. Choi HD, Kim YS, Choi IW, Seog HM, Park YD. 2006. Anti-obesity and cholesterol-lowering effects of germinated brown rice in rats fed with high fat and cholesterol diets. *Korean J Food Sci Technol* 38: 674-678.
20. Oh SH, Choi WG. 2000. Production of the quality germinated brown rices containing high γ -aminobutyric acid by chitosan application. *Korean J Biotech Bioeng* 15: 615-620.
21. AOAC. 2005. *Official Method of AOAC International*. 18th ed. Chapter 32. Cereal Foods. Association of Official Analytical Communities, Horwitz W, USA
22. KFN. 2000. *Handbook of Experiments in Food Science and Nutrition (Nutrition)*. The Korean Society of Food Science and Nutrition, Hyoil Co., Seoul. p 167-168.
23. Yildirm A, Mave A, Kara AA. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* 49: 4083-4089.
24. Zhang GJ, Bown AW. 1997. The rapid determination of γ -aminobutyric acid. *Phytochemistry* 44: 1007-1009.
25. Park HR, Ahn HJ, Kim SH, Lee CH, Byun MW, Lee GW. 2005. Determination of the phytic acid levels in infant foods using different analytical methods. *Food Control* 17: 727-732.
26. Kim JH, Kim HJ, Kim CY, Jung HY, Kim YO, Ju JY, Shin CS. 2007. Development of lipase inhibitors from various derivatives of monascus pigment produced by *Monascus* fermentation. *Food Chem* 101: 357-364.
27. Birari RB, Bhutani KK. 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: Unexplored potential. *Drug Discovery Today* 12: 879-889.
28. Kim YH, Ou SW, Kim YS, Chun JH, Yang J, Yoon YS, Lee ES. 2005. The factors affecting the fat distribution in the abdomen of obese women. *Korean J Obesity* 14: 39-46.
29. Lee HJ, Lee CS. 2005. The effects of aerobic exercise and muscular resistance exercise on abdominal fat in middle aged obese women. *Korea Sport Res* 16: 487-494.
30. Murakami M, Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T. 2003. Effects of ascorbic acid and α -tocopherol on antioxidant activity of polyphenolic compounds. *J Food Sci* 68: 1622-1625.
31. Cho YS, Kim CK. 1990. Effect of fed of phenolic acids in plant on serum cholesterol concentration in rats. *Korean J Food Sci Technol* 22: 824-827.
32. Khan W, Prithiviraj B, Smith DL. 2003. Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *J Plant Physiol* 160: 859-863.
33. Kim JY, Kim OY, Yoo HJ, Kim TI, Kim WH, Yoon YD, Lee JH. 2006. Effects of fiber supplements on functional constipation. *Korean J Nutr* 39: 35-43.
34. Bown AW, Shelp BJ. 1997. The metabolism and functions of γ -aminobutyric acid. *Plant Physiol* 115: 1-5.
35. Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic Biol Med* 8: 61-9.
36. Rickard SE, Thompson LU. 1997. Interaction and biological effects of phytic acid. In *Antinutrient and phytochemicals in food*. ACS Symposium Series 662. Shahidi F, ed. American Chemical Society, Washington, DC. p 294-312.

(2008년 3월 21일 접수; 2008년 7월 21일 채택)