

유색미 에탄올 추출물의 품종간 항산화 활성 변이

남석현 · 장수민¹ · 강미영^{1,*}

아주대학교 자연과학부, ¹경북대학교 식품영양학과

(2002년 9월 25일 접수, 2002년 12월 3일 수리)

갈색에서부터 흑자색까지의 색상을 가지는 국·내외에서 수집한 23종류 유색미의 항산화 활성, 색소체 함량의 변이 및 상관성을 검정하였다. 유색미 에탄올 추출물 시료가 나타내는 환원력은 일반미 품종인 추청에 비해서 거의 모든 품종에서 높게 나타났으며, 환원력이 특히 높은 품종은 LK 1-3-6-12-1-1, Elwee, DZ 78, Jumlalocal-1, SC-45 등이었다. 전자공여능이 높은 품종은 HP 883-1-1-1-B-1-1, HP 833-1-3-1-1-1, LK 2-7-12-1-1, DZ 78 등이었고 hydroxy radical 소거활성이 큰 품종은 DK-1, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5, SC-45 등이었으며, LK 2-7-12-1-1은 오히려 산화촉진효과를 나타내는 품종이었다. 자동산화에 의한 지질 과산화물 형성을 강하게 억제하는 품종들은 RGS No. 336, LK 1B-2-1-1, LK 1B-4-12-1-1, LK 1A-2-12-1-1, LK 2-7-12-1-1, HP 833-1-1-1-B-1-1 등이었고 Elwee, Jumlalocal-1, SC-45 등의 품종은 산화적인 활성을 나타내고 있었다. 23품종의 유색미 중에서 색소체의 함량이 가장 많은 품종은 Elwee이었으며, 색소체 함량은 환원력과 정의 상관성이 있었고, 추출물이 고농도로 처리되었을 때 높은 환원력을 보인 유색미 품종은 linoleic acid 자동산화반응에서 지질 과산화를 촉진하는 경향이 있었다. 유색미 23 품종 중에서 SC-5는 모든 반응계에서 비교적 높은 항산화 활성을 나타내었다.

Key words: 유색미, 항산화활성, DPPH, hydroxy radical, linoleic acid

서 론

현재 우리 나라에서 유통되는 유색미는 흑미, 적미 그리고 적미와 색이 유사하나 향이 강한 홍향미 등 3종류로 대별되며 산지, 품종에 따라 여러 종류가 있다. 대부분 취반시 백미와 혼용하는 일종의 잡곡의 형태로 이용되고 있으나 생리활성효과가 기대되는 기능성 쌀에 대한 관심이 높아지면서 쌀가공식품 제조를 위한 가공적성검정^{1,2)} 및 유색미 색소에 대한 다양한 연구³⁻⁷⁾가 이루어지고 있다. 유색미는 취반용 백미에 비해서 식미는 떨어지는 편이지만 생육이 왕성하고 다수확성이며 종자의 발아력이 우수한 특성이 있는데, 이렇게 종자의 발아력이 우수한 품종의 미강층에서 항산화 활성이 우수한 수용성 색소 성분인 isovitexin이 보고^{8,9)}되었고, 몇몇 유색미 품종의 에탄올 추출물 및 색소 분획의 항산화 활성 및 항암 활성에 대한 연구¹⁰⁻¹²⁾도 진행되었다.

우리는 산소 호흡을 통하여 생명현상을 유지하고 있는데, 다양한 요인에 의해 산소가 활성산소종으로 변하면서 이에 의해 생성되는 여러 종류의 유리기가 생체의 구성물질인 단백질, 아미노산, DNA, 당질, 효소 등과 비특이적으로 작용하여 단백질의 산화와 변성, DNA 변성, 세포막 지질의 산화 변성 등을 초래하여 세포의 기능 장애를 유발하고, 그 결과 각종 대사 장애, 염증, 발암, 동맥경화, 노화 등의 질병을 일으키게 된다. 그러므로 현대인의 건강을 위해서 매일의 식사를 통하여 항산화 활성이 높은 성분을 적극적으로 섭취하는 노력이 필요하다고 할 수 있다.

식품에 함유되어 있는 항산화 성분에 대한 연구대상은 주로 식물성 식품으로 야채 및 과일류에 함유되어 있는 polyphenol류, 엽산, 식이섬유, ascorbic acid, phytosterol류, catechine류 등이 다양하게 검토되고 있다. 쌀의 경우에도 미강층에 주로 함유되어 있는 불검화물로서 tocopherol, oryzanol, phytic acid 등에 의한 항산화 효과가 보고되고 있는데 취반용으로 사용하는 백미의 경우 미강층이 이미 제거된 상태이므로 이들에 기인하는 항산화 효과는 기대하기 어렵다. 이에 비해 유색미는 주로 현미의 형태로 이용되며, 특히 유색미 색소 성분의 항산화 효과는 이미 검정된 것이므로 미강층에 함유되어 있는 생리활성성분과 더불어 색소성분의 생리활성효과까지 첨가된 건강 기능성 쌀가공식품 제조용으로 개발해야 할 필요성이 큰 쌀품종이라 할 수 있다. 현재 시판되고 있는 몇몇 유색미 품종으로 식혜 및 강정의 제조가 시도되기는 하였으나 기대한 만큼의 기호성이 없어서^{13,14)} 건강 기능성 쌀가공식품 소재로서의 유색미 이용에 대해서 활발하게 연구되고 있지는 않은 실정이다. 본 연구에서는 우선 국내외에서 수집·재배한 23종류 유색미의 항산화 활성을 검정함으로써 항산화 효과가 우수한 유색미 품종을 선별하고, 아울러 유색미 함유 색소의 양을 측정하여 항산화 효과와 유색미 색소함량 간의 상관성을 검토함으로써, 건강 기능성 신소재로서의 유색미 이용을 위한 기본자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약. 국내외에서 수집하고 재배한 유색미 23 품종(Fig. 1)을 서울대학교 농학과에서 분양받았고, 대조군으로 일반미인 추청을 시중에서 구입하여 사용하였다. 품종별 시료의

*연락처

Phone: 82-53-950-6235; Fax: 82-53-952-8263

E-mail: mykang@bh.knu.ac.kr

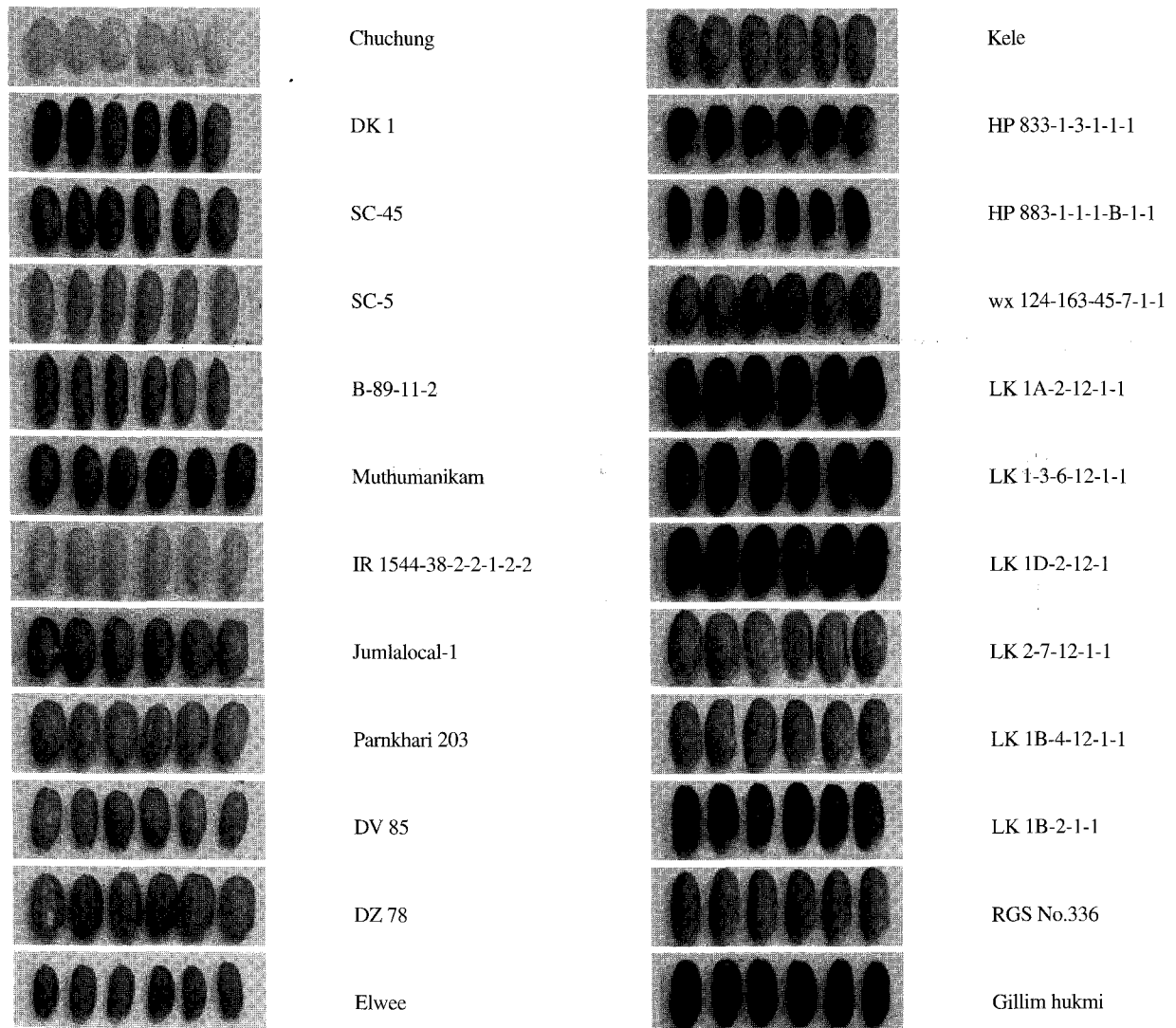


Fig. 1. Name and appearance of 24 varieties of colored rice cultivars and chuchung.

미강에 70% 에탄올을 5배량 첨가하여 40°C에서 14시간 동안 진탕하면서 추출한 후 감압 건조하고, DMSO에 용해시켜 200 mg/ml의 농도로 만들어 -20°C에서 냉동 보관하면서 사용하였다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), 2-deoxyribose, linoleic acid, *t*-BuOOH, TBA(thiobarbituric acid), FeSO₄, K₃Fe(CN)₆, ascorbic acid, α-tocopherol, BHT(butylated hydroxytoluene) 등은 Sigma사(St. Louis, USA), TCA (trichloroacetic acid), H₂O₂는 Junsei사(Tokyo, Japan)에서 그리고 MCI gel은 Mitsubishi사(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

환원력 측정. 1% K₃Fe(CN)₆ 용액 0.5 ml에 농도에 따라 적당량의 시료를 넣고 50 mM 인산완충액(pH 6.6)으로 1.2 ml로 조정 한 뒤 50°C에서 20분간 반응을 유발하였다. 반응 정지를 위해 10% TCA 용액 0.5 ml를 첨가한 후 원심 분리하고 상등액 0.5 ml에 탈이온수 0.5 ml, 0.1% FeCl₃ 용액 0.1 ml를 첨가하여 발색, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다¹⁵⁾.

DPPH radical에 대한 전자공여능. 에탄올 1 ml, 시료

0.01 ml, 100 mM 초산 완충액(pH 5.5) 0.99 ml를 분주한 시험관에 0.5 mM DPPH 용액(Abs. EtOH 용액) 0.5 ml를 첨가하여 교반하고 30분간 정치한 후 517 nm에서의 흡광도를 측정하였고, 유색미 추출물 자체의 색으로 인한 비색 정량 과정의 오류를 제거하기 위해 에탄올 1 ml, 시료 0.01 ml, 100 mM 초산완충액 1.49 ml의 시료대조군을 만들어 흡광도를 측정, 그 값을 시료대조군의 흡광도라 하였고 식 (1)에 의해 전자공여능을 계산하였다.

$$\text{DPPH radical에 대한 전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{(\text{As} - \text{Asc})}{\text{Ac}}\right) \times 100 \quad (1)$$

(As:실험군의 흡광도, Asc:시료대조군의 흡광도, Ac:대조군의 흡광도)

Hydroxy radical(·OH) 소거활성. 100 mM 인산완충액(pH 7.4) 1.39 ml, 10 mM FeSO₄·EDTA 용액 0.2 ml, 10 mM 2-deoxyribose 용액 0.2 ml 시료 0.01 ml를 cap tube에 넣은 뒤

10 mM H₂O₂ 용액(Buffer solution) 0.2 ml를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 교반하면서 hydroxy radical(\cdot OH) 생성 및 반응을 유도하였고, 2.8% TCA 용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 0.8% TBA 용액으로 100°C에서 10분간 발색을 유도, 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편 4시간의 반응 없이 10 mM H₂O₂ 용액으로 radical 생성을 유발하는 즉시 반응을 중단, 발색을 유도한 것을 미처리군으로 하였다. 비색정량에서 유색미 추출물 색의 영향을 배제하고, radical 생성반응 없이 추출물 자체가 2-deoxyribose를 산화하는지 알아보기 위해 100 mM 인산완충액 1.79 ml, 10 mM 2-deoxyribose 용액 0.2 ml에 시료 0.01 ml를 첨가하고 4시간 반응시켰다가 상기와 같은 방법으로 발색을 유도, 흡광도를 측정하여 시료대조군의 흡광도로 하였다. 식 (2)에 의하여 hydroxy radical 소거능을 계산하였다.

$$\text{Hydroxy radical 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{(As - Asc) - Ao}{Ac - Ao}\right) \times 100$$

(As: 실험군의 흡광도, Asc: 시료대조군의 흡광도, Ac: 처리군의 흡광도, Ao: 미처리군의 흡광도)

Linoleic acid autoxidation model system에서의 지질 과산화 억제효과. 0.13% linoleic acid/EtOH 용액 5 ml, 탈이온수 2.4 ml, 50 mM 인산완충액(pH 7.0) 5 ml, 시료 0.1 ml를 cap tube에 넣고 40°C incubator에 보관하면서 지질 과산화 정도를 thiocyanate법¹⁰⁾에 의해서 측정하였다. 즉, 8일 경과 후 반응액 0.1 ml에 75% EtOH 4.7 ml, 30% NH₄SCN 용액 0.1 ml를 넣

고 0.1 ml의 20 mM FeCl₂ 용액으로 발색시켜 3분 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{지질과산화억제능(\%)} = \left(1 - \frac{As}{Ac}\right) \times 100$$

(As: 실험군의 흡광도, Ac: 대조군의 흡광도)

색소체 함량 정량. 유색미 미강층에 함유되어 있는 색소는 CH₂Cl₂으로 지질을 제거한 미강층을 다시 3% TFA-70% MeOH, ethylacetate/H₂O(1:1, v:v)로 순차적으로 분획한 후 물 분획을 MCI gel column으로 chromatography하여 분리, 정량하였다.

통계분석. 여러 가지 항산화 활성 측정결과와 유색미 미강층의 색소체 함량과의 상관관계를 알아보기 위해 SPSS PC + (SPSS Inc., Chicago, USA)프로그램으로 correlation coefficient를 구하였다.

결 과

유색미 에탄올 추출물의 환원력. 항산화 성분들은 세포 막 지질이나 DNA의 손상을 유발하여 노화, 발암 등의 유해 작용을 하는 활성산소종 및 유리기의 발생이나 작용을 차단하여 산화적 손상을 예방하는 것으로 알려져 있다. 이런 작용의 여러 가지 기전 중에서 활성산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력이 환원력이므로 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용할 수 있으며 환원력이 클수록 녹색에 가깝게 발색되

Table 1. Reducing power of 70% ethanol extracts from bran fraction of colored rice seeds

	Absorbance at 700 nm		
	Dose (0.1 mg/tube)	Dose (0.2 mg/tube)	Dose (1 mg/tube)
Chuchung	0.2327 ± 0.0306	0.2763 ± 0.0268	0.6685 ± 0.0580
DK 1	0.2820 ± 0.0542	0.4260 ± 0.0510	1.404 ± 0.0795
SC-45	0.5607 ± 0.0592	0.9273 ± 0.0798	2.433 ± 0.0251
SC-5	0.2347 ± 0.0551	0.3163 ± 0.0548	0.9210 ± 0.0848
B-89-11-2	0.5097 ± 0.0626	0.8163 ± 0.0385	2.454 ± 0.0422
Muthumanikam	0.5197 ± 0.0540	0.8413 ± 0.0595	2.671 ± 0.0338
IR 1544-38-2-2-1-2-2	0.2653 ± 0.0483	0.3467 ± 0.0265	0.9980 ± 0.0520
Jumlalocal-1	0.5733 ± 0.0565	0.9303 ± 0.0222	2.734 ± 0.0887
Panrkhari 203	0.5407 ± 0.104	0.9013 ± 0.103	2.620 ± 0.0921
DV 85	0.5193 ± 0.107	0.8393 ± 0.113	2.510 ± 0.0250
DZ 78	0.6907 ± 0.0943	1.152 ± 0.120	2.758 ± 0.0360
Elwee	0.7237 ± 0.0790	1.220 ± 0.104	2.740 ± 0.0455
Kele	0.3683 ± 0.0735	0.5573 ± 0.0860	1.727 ± 0.0144
HP 833-1-3-1-1-1	0.2943 ± 0.0280	0.3977 ± 0.0453	1.110 ± 0.0245
HP 883-1-1-1-B-1-1	0.2593 ± 0.0717	0.3637 ± 0.0955	1.067 ± 0.0642
wx-124-163-45-7-1-1	0.4463 ± 0.0407	0.6877 ± 0.0211	2.020 ± 0.103
LK 1A-2-12-1-1	0.5417 ± 0.00563	0.8453 ± 0.0311	2.568 ± 0.0725
LK 1-3-6-12-1-1	1.070 ± 0.0421	1.689 ± 0.0440	2.777 ± 0.0146
LK 1D-2-12-1	0.4793 ± 0.0187	0.7470 ± 0.0374	2.223 ± 0.0105
LK 2-7-12-1-1	0.4503 ± 0.0289	0.6730 ± 0.0113	2.090 ± 0.0271
LK 1B-4-12-1-1	0.4247 ± 0.0419	0.6060 ± 0.0434	1.799 ± 0.100
LK 1B-2-1-1	0.3397 ± 0.0342	0.5210 ± 0.0141	1.622 ± 0.0740
RGS No. 336	0.3177 ± 0.0908	0.5173 ± 0.0300	1.689 ± 0.0281
Gillim hukmi	0.4337 ± 0.0332	0.5900 ± 0.0220	1.675 ± 0.0571

Table 2. Scavenging activity of 70% ethanol extracts from bran fraction of colored rice seeds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical and hydroxy radical

	DPPH radical scavenging activity		Hydroxy radical (\cdot OH) scavenging activity	
	Absorbance at 517 nm*	Inhibition (%)	Absorbance at 532 nm*	Inhibition (%)
Control (untreated)	-	-	0.05281 ± 0.00258	100.0
Control (treated)	1.058 ± 0.0533	0.0	0.2105 ± 0.0104	0.0
Ascorbic acid	0.07891 ± 0.00496	92.54	0.1326 ± 0.138	49.39
α -tocopherol	0.1144 ± 0.00293	89.18	0.1291 ± 0.0309	51.62
BHT	0.09732 ± 0.00253	90.80	0.09019 ± 0.0531	76.29
Chuchung	0.1453 ± 0.00666	86.26	0.07726 ± 0.0745	84.49
DK 1	0.1298 ± 0.0194	87.72	0.01283 ± 0.0162	125.4
SC-45	0.1091 ± 0.0247	89.68	0.06753 ± 0.0539	90.66
SC-5	0.1531 ± 0.0111	85.52	0.02450 ± 0.00556	118.0
B-89-11-2	0.1376 ± 0.0289	86.99	0.09815 ± 0.0412	71.24
Muthumanikam	0.1380 ± 0.0258	86.95	0.09718 ± 0.0351	71.85
IR 1544-38-2-2-1-2-2	0.1306 ± 0.00802	87.66	0.02061 ± 0.0168	120.4
Jumlalocal-1	0.1446 ± 0.0240	86.33	0.1141 ± 0.0311	61.10
Panrkhari 203	0.1134 ± 0.0186	89.28	0.09941 ± 0.0543	70.44
DV 85	0.1192 ± 0.0176	88.73	0.2063 ± 0.00704	2.670
DZ 78	0.1066 ± 0.0196	89.92	0.2003 ± 0.0737	6.417
Elwee	0.1100 ± 0.0142	89.60	0.1002 ± 0.0364	69.93
Kele	0.1346 ± 0.0192	87.28	0.1568 ± 0.0304	34.01
HP 833-1-3-1-1-1	0.05536 ± 0.00334	94.77	0.1068 ± 0.0428	65.75
HP 883-1-1-1-B-1-1	-0.1624 ± 0.00671	115.4	0.1517 ± 0.0259	37.25
wx-124-163-45-7-1-1	0.1588 ± 0.00854	84.99	0.08454 ± 0.0280	79.87
LK 1A-2-12-1-1	0.1167 ± 0.0185	88.97	0.1529 ± 0.0270	36.54
LK 1-3-6-12-1-1	0.1168 ± 0.0266	88.96	0.1775 ± 0.0579	20.91
LK 1D-2-12-1	0.1449 ± 0.0196	86.30	0.1781 ± 0.0166	20.50
LK 2-7-12-1-1	0.09062 ± 0.0151	91.43	0.2220 ± 0.0111	-7.326
LK 1B-4-12-1-1	0.2071 ± 0.102	80.42	0.1655 ± 0.0229	28.54
LK 1B-2-1-1	0.1227 ± 0.0140	88.40	0.1635 ± 0.0137	29.80
RGS No. 336	0.1308 ± 0.0149	87.64	0.1243 ± 0.0566	54.65
Gillim hukmi	0.1117 ± 0.00889	89.44	0.1348 ± 0.0236	47.99

*OD (optical density) = OD of sample test system - OD of sample control.

므로 항산화 활성이 큰 품종일수록 높은 흡광도 값을 나타낸다.

품종별 유색미 에탄올 추출물들의 환원력을 측정된 결과(Table 1), 일반미 품종인 추청에 비해 모든 유색미 품종이 높은 환원력을 나타내었다. 특히 LK 1-3-6-12-1-1, Elwee, DZ 78, Jumlalocal-1, SC-45, LK 1A-2-12-1-1, Parnkhari 203 등의 품종이 강한 항산화 활성을 보였다.

유색미 에탄올 추출물의 DPPH radical에 대한 전자공여능. DPPH radical은 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있어서 이런 색차를 비색정량하여 시료의 전자공여능력을 측정하는데 이용하며 화학적으로 유도된 radical이지만 lipoxigenase에 의한 지방 산화 반응계에서의 항산화 활성 측정 결과와도 잘 부합되는 등 간편하고 신뢰성 높은 항산화 활성 측정 방법이다¹⁷⁾.

유색미 에탄올 추출물 2mg이 나타내는 전자공여능을 ascorbic acid(0.1 mg), α -tocopherol(0.1 mg), BHT(0.1 mg) 등의 항산화제와 비교하여 Table 2에 나타내었다. 일반미 품종인 추청도 DPPH radical을 86.3% 정도 소거하였으며, 대부분의 유색미 품종이 추청과 유사하거나 약간 높은 정도로 80% 이상의 항산화 활성을 나타내었다. 전자공여능에 의한 항산화 활성이

비교적 높은 품종은 HP 883-1-1-1-B-1-1, HP 833-1-3-1-1-1, LK-2-7-12-1-1, DZ 78, SC-45, Elwee, 길림흑미 등이었다.

유색미 에탄올 추출물의 hydroxy radical(\cdot OH) 소거활성. 시료 2mg에 의한 hydroxy radical 소거 효과를 ascorbic acid (0.1 mg), α -tocopherol(0.1 mg), BHT(0.1 mg) 등의 항산화제와 비교하여 Table 2에 나타내었다. 본 실험에 사용한 hydroxy radical 소거활성 측정 방법은 과산화수소와 철이온과의 반응, 즉 Fenton 반응에 의해 생성되는 hydroxy radical에 의해 반응계의 기질로 사용된 2-deoxyribose가 산화되면서 생성되는 과산화물인 malondialdehyde의 양을 비색정량하는 방법으로 과산화물 생성의 억제정도를 평가하여 hydroxy radical 소거활성을 검정할 수 있다. Table 2에서도 알 수 있듯이 전자공여능의 경우와는 달리 hydroxy radical 소거활성은 품종에 따라 상당한 차이가 있었는데 DK-1, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5, SC-45, 추청, wx 124-163-45-7-1-1 등의 품종이 합성 항산화제인 BHT 보다 높은 radical 소거 활성을 보였다. 반면 LK 2-7-12-1-1은 radical 생성을 억제하거나 그 활성을 억제하지 못하고 과산화물의 생성을 촉진하는 산화효과를 나타내고 있었고, DV 85 및 DZ 78 등의 유색미는 아주 미약한 hydroxy radical 소거활성을

Table 3. Antioxidative activity of 70% ethanol extracts from bran fraction of colored rice seeds in the linoleic acid system and varietal differences in the amount of pigment fraction

	Absorbance at 500 nm	Lipid peroxidation	Yield (%)
		Inhibition (%)	
Control	0.1996 ± 0.0865	0.0	-
BHT	0.09777 ± 0.0552	51.03	-
Chuchung	0.1828 ± 0.00804	8.426	-
DK 1	0.2026 ± 0.0176	-1.477	2.14
SC-45	0.2439 ± 0.0444	-22.18	2.86
SC-5	0.1712 ± 0.0122	14.22	4.12
B-89-11-2	0.2161 ± 0.0392	-8.224	2.76
Muthumanikam	0.2398 ± 0.0392	-20.14	3.19
IR 1544-38-2-2-1-2-2	0.1781 ± 0.0147	10.79	4.76
Jumlocal-1	0.2562 ± 0.0572	-28.31	2.34
Panrkhari 203	0.2409 ± 0.0442	-20.67	1.69
DV 85	0.2402 ± 0.0361	-20.32	2.71
DZ 78	0.2234 ± 0.00156	-11.91	3.10
Elwee	0.2862 ± 0.0795	-43.37	5.87
Kele	0.2034 ± 0.0137	-1.864	3.81
HP 833-1-3-1-1-1	0.1733 ± 0.0305	13.20	2.03
HP 883-1-1-1-B-1-1	0.1681 ± 0.0292	15.81	3.52
wx-124-163-45-7-1-1	0.2003 ± 0.0269	-0.318	2.19
LK 1A-2-12-1-1	0.1031 ± 0.0273	48.37	3.07
LK 1-3-6-12-1-1	0.1874 ± 0.0461	6.138	3.91
LK 1D-2-12-1	0.1739 ± 0.00635	12.88	3.82
LK 2-7-12-1-1	0.1139 ± 0.0293	42.93	2.88
LK 1B-4-12-1-1	0.09191 ± 0.0253	53.96	3.79
LK 1B-2-1-1	0.08995 ± 0.0226	54.95	3.26
RGS No. 336	0.08571 ± 0.0237	57.07	4.77
Gillim hukmi	0.2119 ± 0.0106	-6.130	2.28

나타내는 품종임을 알 수 있었다.

유색미 에탄올 추출물의 지질 과산화 억제효과. 품종별 유색미 에탄올 추출물 20 mg에 의한 지질 과산화 억제 정도를 합성 항산화제 BHT(1 mg)와 비교하여 Table 3에 나타내었다. Linoleic acid를 가열 처리하여 자동산화반응을 유도한 후 시료를 첨가하여 40°C에서 보관하면서 유색미 추출물에 의한 linoleic acid의 산화억제 정도를 측정 한 하였는데 Elwee, Jumlocal-1, SC-45, Pankhari 203, DV 85, Muthumanikam, DZ 78, B-89-11-2, 길림흑미 등의 품종들은 linoleic acid의 자동산화과정에서 지질 산화물의 형성을 촉진하는 산화효과를 가지고 있었다. 이에 비해서 RGS No. 336, LK 1B-2-1-1, LK 1B-4-12-1-1 등은 BHT보다 높은 항산화 활성을 보여 50% 이상 지질 과산화를 억제하였으며 LK 1A-2-12-1-1, LK 2-7-12-1-1, HP 883-1-1-1-B-1-1, SC-5, HP 833-1-3-1-1-1, LK 1D-2-12-1, IR 1544-38-2-2-1-2-2 등의 품종이 비교적 높은 항산화 활성을 보였다.

품종간 유색미 색소체 함량. 적색 또는 흑색의 안토시아닌 및 탄닌색소들의 항산화 효과가 알려지면서^{18,19)} 이들 색소를 다량 함유하는 각종 식품들의 항산화 활성에 대한 연구들이 진행되었으며²⁰⁾, 유색미 품종 또한 일반미 품종에 비해서 안토시아닌 유도체 색소가 다량 함유되어 있어 그에 기인하는 항산화 활성들이 다수 보고되어 있다^{21,22)}. 본 논문에서도 품종별 유색미의 항산화 활성과 유색미 색소 함량과의 상관성을 검토하고

자 유색미 겨층을 CH_2Cl_2 으로 처리하여 지질분획을 분리하고 3% TFA-70% MeOH 추출을 통하여 얻은 색소포함분획을 다시 ethylacetate분획과 물분획으로 분리하였고 이 수용성 색소분획을 MCI gel column으로 chromatography하여 색소체분획을 얻어 이를 정량하여 Table 3에 제시하였다. 유색미 중 색소체의 함량이 가장 많은 품종은 Elwee이었으며, 품종에 따른 색소체 함량은 RGS No.336, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5, LK 1-3-6-12-1-1, LK 1D-2-12-1, Kele, LK 1B-4-12-1-1, HP 833-1-1-1-B-1-1, LK 1B-2-1-1, Muthumanikam, DZ 78, LK 1A-2-12-1-1, LK 2-7-12-1-1, SC-45, B-89-11-2, DV 85, Jumlocal-1, 길림흑미, wx-124-163-45-7-1-1, DK 1, HP 833-1-3-1-1-1, Pankhari 203의 순이었다.

유색미 에탄올 추출물의 항산화 활성 및 상관관계. 유색미 추출물의 색소체 함량과 앞서 측정하였던 환원력, DPPH radical에 대한 전자공여능, hydroxy radical 소거능, 지질과산화 억제 효과 등과의 상관관계를 검토한 결과 Table 4에 나타낸 바와 같이 색소체 함량과 전자공여능, hydroxy radical 소거능, 지질과산화 억제효과와는 상관성이 없었으며, 환원력에 있어서는 어떤 농도의 결과와도 정의 상관성이 있었다. 또한 유색미 추출물의 항산화 활성을 측정하기 위해서 사용한 여러 가지 항산화 활성 측정방법의 결과간에는 별다른 상관성이 없었으나, 추출물의 고농도 처리 시에 발현된 환원력과 지질 과산화 억제효과와는 부의 상관성이 있었다. 즉, 고농도에서 우수한 환원력을

Table 4. Correlation coefficients among various antioxidative activities and amount of pigments

Relevant characters	Correlation coefficient
Inhibition of lipid peroxidation	- Reducing power (0.2 mg) -0.422*
	- Reducing power (1 mg) -0.456*
Amount of pigments	- Reducing power (0.1 mg) 0.447*
	- Reducing power (0.2 mg) 0.442*
	- Reducing power (1 mg) 0.407*

*: Significant at 5% level

나타내는 유색미 품종이 linoleic acid의 자동산화 반응계에서는 오히려 산화촉진효과를 나타낼 수 있었고 따라서 유색미 추출물의 독성에 대한 검토도 시도하여야 할 필요가 있음을 시사하는 결과라고 생각되었다.

고 찰

식품에는 다양한 성분들이 복합적으로 존재하고 있기 때문에 70% 에탄올 추출물과 같은 조추출물의 항산화 활성을 비교 검증하기 위해서는 다양한 조건의 항산화 활성 측정법을 병행하면서 평가해야 한다고 생각된다. 시료에 함유된 복잡하고 다양한 성분들의 상호작용이나 항산화 활성의 발현이 여러 반응계의 서로 다른 조건의 영향에 따라 상당히 변화되리라 예상되며, 또한 정제 항산화제를 사용한 경우에도 실험방법에 따라 항산화 활성의 정도가 상당히 달라지는 것을 볼 때 동일 성분이라도 실험 반응계에 따라 용해도, 친화성, 반응성 등이 변화되어 각기 다른 결과를 가져올 수 있기 때문이다. 실제로 본 연구에서 실시한 환원력, DPPH radical에 대한 전자공여능력, hydroxy radical 소거활성, 지질 과산화 억제효과 등 4가지 항산화 활성 측정법에 의한 결과간에는 서로 상관성이 나타나지 않았고 따라서 여러 가지 실험 방법을 병행하여 평가함으로써 항산화 활성 측정 방법상의 오류를 보정할 필요가 있다고 할 수 있다.

각각의 항산화 활성 측정 결과를 살펴보면 유색미 에탄올 추출물의 환원력은 모든 유색미 품종이 일반미 품종인 추청에 비해서 높은 활성을 나타냈으며, 특히 환원력이 우수한 품종은 LK 1-3-6-12-1-1, Elwee, DZ 78, Jumlalocal-1, SC-45 등이었고 DPPH radical에 대한 전자공여능이 높은 품종들은 HP 883-1-1-B-1-1, HP 833-1-3-1-1-1, LK-2-7-12-1-1, DZ 78 등이었다. Hydroxy radical 소거활성이 큰 품종은 DK-1, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5, SC-45 등이었는데 LK 2-7-12-1-1은 기질인 2-deoxyribose에 대해 미약하나마 산화촉진효과를 보이고 있었다. Linoleic acid 자동산화에 의한 지질 과산화물 형성을 억제하는 품종은 RGS No. 336, LK 1B-2-1-1, LK 1B-4-12-1-1, LK 1A-2-12-1-1, LK 2-7-12-1-1 등이었고 Elwee, Jumlalocal-1, SC-45 등은 지질 과산화물의 생성을 상당히 촉진하고 있었다. 23품종의 유색미 중 색소체의 함량이 많은 품종은 Elwee, RGS No.336, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5 등이었다.

항산화 활성 측정 결과와 색소체 함량간의 상관성 검토에서

색소체 함량은 환원력과 정의 상관성이 있었으며, 항산화 활성 결과간의 뚜렷한 상관성은 나타나지 않았으나 지질 과산화 억제 활성과 환원력간에는 부의 상관성이 나타나 추출물이 고농도로 처리되었을 때 높은 환원력을 보인 유색미 품종은 linoleic acid 자동산화반응에서 지질 과산화를 촉진하는 경향이 있었다. Elwee, Jumlalocal-1, SC-45, Parnkhari 203 등의 품종에서 볼 수 있듯이 이들은 환원력이 우수하였고 DPPH radical과 hydroxy radical에 대해서도 우수한 소거능을 나타내었으나 linoleic acid 자동산화 반응계에서 20% 이상 산화를 촉진하고 있었다. 이외에도 여러 가지 항산화 활성측정 결과에서 일관된 상관성 없이 반응계에 따라 각기 다른 활성을 보인 유색미 품종이 있었는데 DZ 78의 경우 환원력과 DPPH radical 소거능은 우수하였으나 hydroxy radical에 대해서는 소거활성이 매우 낮았고 linoleic acid 자동산화반응은 오히려 촉진하고 있었다. 또한 LK 2-7-12-1-1은 hydroxy radical 활성을 억제하거나 소거하지 못하고 반응계에서 미약하나마 산화적인 영향을 미치고 있었으나 환원력과 DPPH radical 소거능은 우수하였고 linoleic acid 자동산화 반응계에서도 항산화 활성을 나타내고 있었다. 한편 본 연구에서 실시한 모든 항산화 활성 측정 결과에서 대체적으로 비교적 높은 항산화 활성을 나타낸 유색미 품종은 SC-5이었다.

감사의 글

이 논문은 2000년-2002년도 과학재단 특정기초 연구비 지원에 의해서 이루어졌으므로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Chang, S. M., Kim, K. H. and Kang, M. Y. (2001) Varietal difference in processing and sensory characteristics of Misutkaru in rice. *Korean J. Breed.* **33**, 73-79.
2. Shin, S. Y., Sung, Y. M. and Kang, M. Y. (2001) Saccharification and sensory characteristics of Shikhe made from glutinous rice varieties. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **11**, 11-18.
3. Choi, H. C. and Oh, S. K. (1996) Diversity and function of pigments in colored rice. *J. Crop Sci.* **41**, 1-9.
4. Yoon, J. M., Hahn, T. R. and Yoon, H. H. (1998) Effect of copigmentation on the stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 733-738.
5. Oh, S. K., Choi, H. C., Cho, M. Y. and Kim, S. U. (1996) Extraction method of anthocyanin and tannin pigments in colored rice. *Agri. Chem. and Biotechnol.* **39**, 327-331.
6. Yoon, J. M., Cho, M. H., Hahn, T. R., Paik, Y. S. and Yoon, H. H. (1997) Physicochemical stability of anthocyanins from a Korean pigmented rice variety as natural food colorants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 211-217.
7. Cho, J. M., Yoon, H. H. and Han, T. R. (1996) Thermal stability of the major color components, cyanidin 3-glucoside, from a Korean pigmented rice. *Agri. Chem. and Biotechnol.* **38**, 581-583.

8. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S. (1988) Chemical studies on novel antioxidants I. Isolation, fractionation and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.* **36**, 727-732.
9. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S. (1989) Chemical studies on novel antioxidants II. Identification of isovitexin C-glycosyl flavonoid. *J. Agric. Food Chem.* **37**, 316-319.
10. Kang, M. Y., Choi, Y. H. and Nam, S. H. (1996) Inhibitory mechanism of colored rice bran extract against mutagenicity induced by chemical mutagen Mitomycin C. *Agri. Chem. and Biotechnol.* **39**, 424-429.
11. Nam, S. H. and Kang, M. Y. (1997) *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts carcinogenicity. *Agri. Chem. and Biotechnol.* **40**, 307-312.
12. Choi, S. W., Nam, S. H. and Choi, H. C. (1996) Antioxidative activity of ethanolic extracts of rice brans. *Food Sci. Biotechnol.* **5**, 305-309.
13. Kim, D. W., Eun, J. B. and Rhee, C. O. (1998) Cooking condition and textural changes of cooked rice added with black rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 562-568.
14. Kim, S. S., Kim, S. Y. and Lee, W. J. (1998) Characteristics of germinated colored rice as a potential raw material of Shikhe. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1092-1096.
15. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepares from glucosamine. *Jpn. J. Nutri.* **44**, 307-315.
16. Osawa, T. and Namiki, M. (1981) A novel type antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 735-740.
17. Unno, T., Sakane, I., Masumizu, T., Kohono, M. and Kakuda, T. (1997) Antioxidative activity of water extract of Lagerstroemia speciosa leaves. *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**, 1772-1774.
18. Garbor, E. (1988) Possible biological role of some anthocyanins in food. *Bull. Liaison-Group Polyphenols.* **14**, 130-135.
19. Meunier, M. T., Duroux, E. and Bastide, P. (1989) Antioxidant activity of procyanidol oligomers and anthocyanins with regard to superoxide anion and lipid peroxidation. *Plant Med. Phytother.* **23**, 267-271.
20. Tsuda, T., Oshima, K., Kawasaki, S. and Osawa, T. (1994) Antioxidative pigments isolated from the seeds of Phaseolus vulgaris L. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 248-252.
21. Choi, S. W., Kang, W. W., Osawa, T. and Kawakishi, S. (1994) Antioxidative activity of cysanthemin in black rice hulls. *Food Sci. Biotechnol.* **3**, 233-238.
22. Tsuda, T., Watanabe, M., Oshima, K., Norinobu, S., Choi, S. W., Kawasaki, S. and Osawa, T. (1994) Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O- β -glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 2407-2410.

Varietal Difference in Antioxidative Activity of Ethanolic Extracts from Colored Rice Bran

Seok-Hyun Nam, Su-Min Chang¹ and Mi-Young Kang^{1,*} (Department of Natural Science, Ajou University, Suwon, 442-749; ¹Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Taegu, 702-701)

Abstract: Interrelation between the antioxidative activities of 70% ethanol extracts from bran fraction of 23 kinds of colored rice and chuchung as a control were examined. Antioxidative activities were evaluated by assaying reducing power, electron-donation ability to DPPH free radical, scavenging activity of hydroxy radical (\cdot OH) generated through Fenton reaction and inhibitory activity on lipid peroxidation using linoleic acid autoxidation system, respectively. Among 24 varieties of colored rice LK 1-3-6-12-1-1 had the strongest reducing power followed by Elwee, DZ 78, Jumlalocal-1 and SC-45 in decreasing order. The electron-donating ability to DPPH radical was higher in order of HP 883-1-1-1-B-1-1, HP 833-1-3-1-1-1, LK 2-7-12-1-1 and DZ 78. The hydroxy radical scavenging activity was higher in order of DK-1, IR 1544-38-2-2-1-2-2, SC-5 and SC-45 but LK 2-7-12-1-1 had oxidative effect. In the linoleic acid autoxidation model system, RGS No 336, LK 1B-2-1-1, LK 1B-4-12-1-1, LK 1A-2-12-1-1, LK 2-7-12-1-1 and HP 883-1-1-1-B-1-1 exhibited strong antioxidative activities but Elwee, Jumlalocal-1 and SC-45 showed to have oxidative effects. The rice variety of highest pigment content was Elwee and the next were RGS-No 336, IR 1544-38-2-2-1-2-2 and SC-5 with the order of higher content. The reducing power was correlated with the quantity of the pigment in the ethanolic extract of rice bran and SC-5 showed relatively high antioxidative activity in every results of antioxidative activity tests.

Key words : colored rice, antioxidative activity, DPPH, hydroxy radical, linoleic acid

*Corresponding author