

거대배아미 에탄올 추출물의 항산화활성 및 항변이원성

강미영 · 이연리 · 고희종¹ · 남석현^{2,*}

경북대학교 식품영양학과, ¹서울대학교 농학과, ²아주대학교 생명과학과

(2003년 10월 18일 접수, 2003년 12월 17일 수리)

신선찰거대배아미, 화청거대배아미 및 남풍거대배아미 등 거대배 돌연변이 계통 쌀 3종류 및 일반미의 70% 에탄올 추출물을 제조하여, 이들의 항산화 활성 및 항변이원성을 비교·검정하였다. 거대배아미 추출물의 항산화 활성은 DPPH radical 및 Fenton 반응에 의해서 유도되는 hydroxy radical의 소거활성, hypoxanthine/xanthine oxidase system에서 생성되는 활성산소종인 superoxide radical의 소거활성, linoleic acid 자동산화에 대한 지질 과산화 억제활성 및 토끼 적혈구 막지질의 과산화 억제활성 등으로써 검정하였으며, 항변이원성은 *E. coli* PQ 37 균주를 사용하여 화학적 변이원 mitomycin C에 대한 변이원성 억제효과를 SOS chromotest에 의해서 검정하였다. 일반미 품종에 비해서 거대배아미 품종의 항산화 활성 및 항변이원성이 모두 높았으며, 거대배아미 품종 중에서는 남풍거대배아미가 가장 효과적인 경향이 있었다. 남풍거대배아미의 DPPH radical, superoxide radical 과 hydroxyl radical 소거활성, 그리고 지질과산화 억제활성은 일반미보다 각각 2.3배, 3.3배, 1.7배 및 2.5배 정도까지 더 높았다.

Key words: 거대배아미, 항산화성, 항변이원성, 지질과산화 억제

서 론

쌀의 과잉생산과 소비감소, 그리고 쌀시장 개방으로 인한 농촌의 경제·사회적 문제점을 해결하기 위해서는, 단순히 에너지 공급 또는 영양소 공급원으로서가 아니라 생리활성이 풍부한 건강보조식품으로 개발될 수 있는 기능성까지 구비된 품종이 개발되어야 할 것이다. 쌀 배아는 영양성분 중 양질의 단백질과 비타민, 그리고 필수지방산을 종실의 어느 부분보다도 다량 함유하고 있으며,¹⁾ α-tocopherol, γ-oryzanol, 피틴산 등 생리활성 물질의 보고로서도 의미가 있는 부위이다. 그러므로 배아의 크기가 큰 쌀 품종을 개발하는 것은 영양가의 면에서 뿐만 아니라 건강 기능성 식품용 신소재로 개발이라는 측면에서도 의미가 있는 일이다. 이에 기존의 유전자원 중 배아의 크기가 큰 품종을 찾고자 하는 노력과 돌연변이 육종기술 개발에 의해서 거대배 변이체가 개발되었다.^{2,3)} 이러한 거대배아미는 배아의 크기가 큰 만큼 배유 부분이 위축된 상태이므로 배유의 등숙상태가 충실하지 못한 경향이 있기 때문에 취반용으로서의 이용보다는 가공품 형태로의 이용이 바람직하다.

생활습관병인 성인성 만성질환의 원인은 활성산소 등의 유리가 관여하는 만성적인 염증반응일 경우가 많기 때문에,⁴⁾ 건강 기능성 식품을 일상적으로 섭취하고자 할 때에는 섭취하는 식품이 가지는 항산화 활성에 주목할 필요가 있다. 식품에 함유되어 있는 항산화 성분에 대한 연구 대상은 주로 식물성 식품으로서 야채 및 과일류에 함유되어 있는 polyphenol류, 엽산, 식이섬유, phytosterol류, catechine류 등 광범위하게 검토되고 있

으며, 이들 화합물들 가지는 다양한 항산화 효과는 결국 신진 대사 조절 능력 및 암과 순환기 계통의 질환에 대한 예방과 치료효과를 나타내고 있음이 속속 밝혀지고 있다.^{5,6)} 이에 본 논문에서는 찰벼 품종인 신선찰벼 그리고 메벼품종인 화청벼, 남풍벼에 각각 MNU(methylnitrosourea)를 처리하여 육종 개발한 신선찰거대배아미, 화청거대배아미, 남풍거대배아미 등 3품종의 거대배아미에서 제조한 70% 에탄올 추출물을 대상으로 항산화 활성의 지표인 각종의 radical(DPPH radical, hydroxyl radical, superoxide radical)의 소거능력 및 지질과산화 억제활성들을 검정하고, 아울러 *E. coli* PQ 37을 이용한 SOS chromotest를 실시하여 항변이원성을 검정하여 거대배아미의 건강기능성을 평가할 수 있는 지표를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

시료 및 시약. 신선찰거대배아미, 화청거대배아미 및 남풍 거대배아미 등 거대배 돌연변이 계통 쌀 3종류 및 일반미 1종류를 서울대 농생대로 부터 제공 받아, 현미상태의 쌀을 각각 분쇄하여 5배량의 70% EtOH로 80°C에서 3시간 동안 환류하면서 추출하여 감압건조 후 DMSO에 용해시켜 100 mg/ml의 농도로 만들어 -20°C에 냉동 보관하면서 사용하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), 2-dextrose, linoleic acid, TBA (thiobarbutyric acid), FeSO₄, ascorbic acid, α-tocopherol, BHT(butylated hydroxytoluene), ONPG(o-nitrophenyl β-D-galactosidase), PNPP(p-nitrophenyl phosphate), mitomycin C 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을, 그리고 ampicilline은 영진약품의 주사용 펜브락스를 멸균수로 희석하여 사용하였으며, bactotrypton, yeast extract 등과 같은 세균 배양을 위한 배지용 시약은 Difco사(Detroit, USA)의 제품을 사용

*연락처자

Phone: 82-31-219-2619; Fax: 82-31-219-1615

E-mail: shnam@ajou.ac.kr

하였다. SOS chromotest의 지시균주인 *Escherichia coli* PQ 37 (plasmid pKM 101, *sfi::Mud(AP lac)cts*, *lacΔU169*, *mal^t*, *urvA*, *galE*, *galY*, *Pho^c*, *rfaF*, *thr*, *leu*, *his*, *pyrD*, *thi*, *trp::Muc⁺*, *sr1300::Tn10*)은 서울대학교 천연물화학 연구소에서 분양받았고 LB broth(bactopeptone 1%, yeast extract 0.5%, NaCl 1%, ampicilline+)에서 배양하여 사용하였다.

DPPH 라디칼에 대한 전자공여능 측정. 에탄올 1 ml, 시료 10 μl, 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.5) 990 μl를 분주한 시험관에 0.5 mM DPPH 용액(Abs. EtOH soln.) 0.5 ml를 넣고 교반, 30초간 반응을 유도한 후, 잔존 radical 농도를 517 nm에서 측정하였다. 전자공여능(%)은 $[(1 - A_s/A_c) \times 100]$ 으로 나타내었고, A_s 와 A_c 에 실험군과 대조군의 흡광도값을 각각 대입하여 계산하였다.⁷⁾

Hydroxy radical(\cdot OH) 소거능 측정. 10 mM $FeSO_4 \cdot EDTA$ 200 μl, 10 mM 2-deoxyribose 200 μl, 0.1 M 인산완충액 1.39 ml에 시료 10 μl를 넣고 10 mM H_2O_2 200 μl로 hydroxy radical 생성을 유도하면서 37°C에서 4시간 반응시킨다. 반응 후 2.8% TCA(trichloroacetic acid)로 반응을 정지시키고, 0.8% TBA(thiobarbutyric acid)를 첨가하여 10분간 발색시켜, 532 nm에서 흡광도를 측정한다.⁸⁾ Hydroxyl radical 소거능(%)은 $\{(1 - (A_s - A_o)/(A_c - A_o)) \times 100\}$ 의 식에 의해서 계산하였으며, 여기서 A_s 와 A_c , A_o 는 각각 시료의 흡광도, 비교군의 흡광도 및 음성대조구의 흡광도를 나타내었다.

Superoxide radical($O_2^{\cdot-}$) 생성 및 ESR 측정조건. Superoxide radical 소거활성의 측정에 사용된 superoxide radical은 hypoxanthine(HPX)을 기질로 xanthine oxidase(XOD)를 사용하는 발생시스템(HPX/XOD system)을 이용하여 생성시켰으며, 생성된 라디칼은 spin trap agent인 5,5-dimethylpyrroline-N-oxide(DMPO)와 반응시킨 후 ESR spectrometer(TE-200, JEOL, Japan)로 정량하였다.⁹⁾ 간단히 설명하면, 적당량의 시료를 35 μl의 5.5 mM diethylenediamine-pentaacetic acid(DETAPAC), 15 μl의 9.2 M DMPO와 0.02 unit의 xanthine oxidase와 혼합하여 0.1 M 인산 완충액(pH 7.4)로 용량을 1 ml로 조절하였다. ESR spectroscopy를 위한 기기 설정조건은 다음과 같다. modulation amplitude, 0.1 mT; recording range, 4 mT; recording time, 1 min; time constant, 0.1 s; microwave power, 1.8 mW; microwave frequency, 9.40432.

Xanthine Oxidase에 대한 억제활성 측정. Xanthine oxidase의 억제활성은 Noro의 방법¹⁰⁾에 따라 수행하였다. 200 mM 인산완충액(pH 7.5)에 0.4 unit/ml의 xanthine oxidase를 첨가하여 37°C에서 10분간 preincubation 시킨 후, 2 mM hypoxanthin 50 μl를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킴으로써 uric acid를 생성시켜, 생성되는 uric acid의 양을 295 nm에서의 흡광도에서 UV/VIS spectrophotometer(V-550, Jasco, Japan)를 사용하여 측정하였다.

지질과산화 억제활성 측정. Linoleic acid model system을 이용한 지질 과산화 억제효과는 0.13% linoleic acid 5 ml, 증류수 2.4 ml, 50 mM 인산완충액(pH 7.0) 5 ml 및 시료 100 μl를 cap tube에 넣고 40°C incubator에 10일간 보관한 후 지질 과산화 정도를 thiocyanate법¹⁰⁾에 의해서 다음과 같이 측정하였다.

반응액 100 μl에 4.7 ml의 75% EtOH, 100 μl의 30% NH_4SCN 용액을 넣고 20 mM의 $FeCl_3$ 용액으로 발색시켰으며, 반응에서 나타난 발색 정도는 UV/VIS spectrophotometer(V-550, Jasco, Japan)를 사용하여 500 nm에서 흡광도로 측정하였다.

토끼 적혈구막 지질과산화 억제활성 측정. 토끼 적혈구막 지질분획의 조제 및 이를 이용한 지질과산화 억제활성의 측정은 주로 Ames 등이 확립한 방법에 따라 시행하였다.^{11,12)} 토끼의 혈액은 cardiac punching으로 얻었고, 저장액 조건(10 mM 인산완충액, pH 7.4)에서 얻어진 erythrocyte membrane은 Bradford법¹³⁾으로 단백질의 양이 2 mg/ml가 되도록 조정하여 -70°C에 보관하며 사용하였다. 지질과산화 억제활성의 측정방법은 다음과 같다. 최종적으로 1.8 mg의 단백질과 1.2 mM의 tert-butylhydroperoxide 및 적당량의 시료를 포함한 반응액 1 ml를 37°C에서 30분간 교반하면서 반응하였다. 여기에 TCA와 thiobarbituric acid(TBA)를 최종농도가 각각 4% 및 0.11%가 되도록 순차적으로 첨가한 후, 100°C에서 5분간 열처리하였다. 생성된 침전을 원심분리로 제거한 상정액의 흡광도를 UV/VIS spectrophotometer(V-550, JASCO, Japan)를 사용하여 535 nm에서 측정하였다.

항변이원성 측정. 항변이원성은 *E. coli* PQ 37을 지시균주로 사용한 SOS chromotest 기법을 이용하여 조사하였다.^{14,16)} 37°C에서 LB배지에 하룻밤 진탕배양한 배양액을 동일한 액체배지로 10배수 희석하여, 37°C에서 2시간 진탕배양하였다. 배양 후 액체 배지로 다시 4배수 희석한 배양액 0.4 ml를 취한 다음, 2 mg의 시료와 변이원인 mitomycin C를 6 ng/ml가 되도록 첨가한 다음, 최종 반응용량을 액체배지로 4 ml가 되도록 조정하여 37°C에서 2시간 재차 진탕배양하였다. 배양이 끝난 배양액 0.2 ml를 1.8 ml의 B buffer(60 mM Na_2HPO_4 , 10 mM KCl, 40 mM NaH_2PO_4 , 1 mM $MgSO_4$, 50 mM β-mercaptoethanol, pH 7.0)와 섞고, 여기에 1.6 mg의 ONPG를 첨가하여, 37°C에서 30분간 반응시켰다. Na_2CO_3 로 반응을 정지시킨 후, 420 nm에서 발색하는 반응액의 흡광도를 측정하여 시료의 첨가로 유도된, β-galactosidase의 활성을 측정하였고, 세균이 발현하는 alkaline phosphatase의 활성을 기준으로 β-galactosidase 활성의 유도값(R)을 평가하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical에 대한 전자공여능. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical은 화학적으로 유도되는 radical로서, 어떠한 반응계에서 전자를 공여받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있다. 그러므로 이 색차를 비색 정량하여 시료의 전자공여능을 측정할 수 있다. 비록 화학적으로 유도되는 radical이지만 lipoxigenase에 의한 지방 산화반응계에서의 항산화 활성 측정 결과와도 잘 부합되는 등 간편하면서도 신뢰성이 높은 항산화 활성 측정 방법이다.⁷⁾ 본 실험계에서 비교군으로 사용한 항산화성 비타민인 ascorbic acid 및 합성항산화제인 BHT들은 10 μg의 양에 의해서 약 89%정도의 전자공여 효과를 나타내고 있는데 비해서 쌀 추출물들의 경우에는 2 mg의 양에 의해서 약 33-76%의 전자공여 효과를 나타내고 있었다(Table 1). 그리고

Table 1. Scavenging activity of 70% ethanolic extracts from rice seeds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical and hydroxyl radical

Extracts	DPPH radical scavenging activity		Hydroxyl radical scavenging activity	
	Absorbance at 517 nm	(%)	Absorbance at 532 nm	(%)
Negative control	-	-	0.4771±0.001	100
Positive control	0.9259±0.078	0	0.0895±0.008	0
1% Ascorbic acid	0.1111±0.001	88.0	0.1632±0.021	80.9
1% BHT	0.0959±0.001	89.6	0.1768±0.013	77.5
Normal rice	0.6182±0.027	33.2	0.3112±0.029	42.8
Shinsunchal-giant embryonic rice	0.3041±0.032	67.2	0.2175±0.007	66.9
Whachung-giant embryonic rice	0.4100±0.009	55.7	0.2047±0.026	70.2
Nampung-giant embryonic rice	0.2523±0.016	75.8	0.2015±0.004	71.1

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean ± SE. Each rice extracts were used in a dose of 1 mg per reaction.

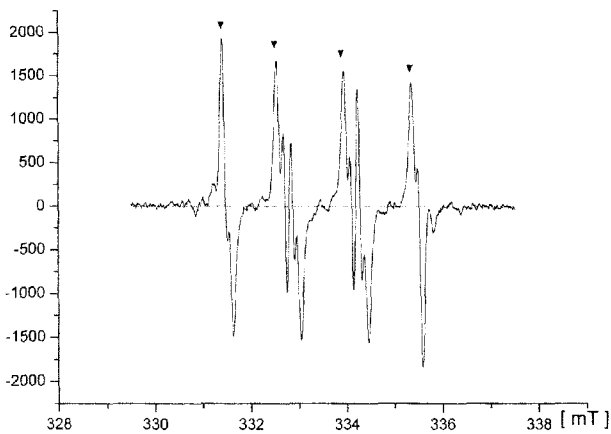


Fig. 1. ESR spectrum of DMPO-O₂⁻ radical adducts.

거대배아미 품종들은 일반 품종의 쌀에 비해서 에탄올 추출물의 전자공여능이 컸으며, 거대배아미 중에서는 남풍거대배아미 추출물의 전자공여능이 가장 컸고, 일반품종의 쌀에 비해서 2 배 이상의 전자공여능을 나타내고 있었다. 이들 거대배아미 품종들은 본 연구와 유사한 조건(2.5 mg의 시료 dose)에서 수행된 두류 중 검은콩, 쥐눈이콩, 팥 들(약 80% 정도)보다는 전자공여능이 낮지만 완두, 동부, 나물콩 들(약 30% 정도) 보다는 전자공여 효과가 높았다.¹⁸⁾

Hydroxyl radical(·OH) 소거능. 산소호흡으로 세포에너지를 획득하는 생물에 있어서 호흡과정의 부산물로 발생하는 유해 활성산소종(ROS; Reactive Oxygen Species)인 활성산소 라디칼이 생체 고분자의 산화를 통하여 노화나 암 발생 등 만성 질환의 원인이 된다는 사실이 알려져 있기 때문에,¹⁷⁾ 거대배아미 추출물이 ROS를 소거할 수 있는지 여부를 조사하고자 하였다. 특히 hydroxyl radical은 생체분자에 대한 높은 독성으로 잘 알려져 있어서 먼저 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 조사하였고, 품종별 쌀 에탄올 추출물 1 mg에 의한 hydroxyl radical 소거효과를 ascorbic acid 및 BHT 10 µg과 비교하여 Table 1에 나타내었다. 본 실험계를 사용하여 측정된 hydroxyl radical 소거효과에서 비교군으로 사용한 두 종류의 항산화제는 각각 80.9% 및 77.5%로서 유사한 정도의 항산화 효과를 나타내었다. 그리고 거대배아미 품종들이 일반품종에 비해서 DPPH

radical 공여능에 이어서 hydroxyl radical 소거 효과도 큰 것을 알 수 있으며, 거대배아미 품종 중에서는 찰품종에 비해서 메 품종들이 소거효과가 약간 높은 경향이 있는 것으로 관찰되었다.

Superoxide radical(O₂⁻) 소거활성. Hydroxyl radical은 세포에서 Fenton 반응을 통하여 H₂O₂에서 생성되는데, H₂O₂는 superoxide radical의 불균화반응으로도 생성되기 때문에, 시료의 superoxide radical에 대한 소거활성은 hydroxyl radical에 대한 소거효과도 연결되므로 superoxide radical에 대한 소거활성을 측정할 필요가 있다. 이를 위하여 본 연구에서는 hypoxanthine이 xanthine oxidase에 의해서 uric acid로 변환하는 과정을 이용한 HPX/XOD system으로 superoxide radical을 생성시켜 실험에 사용하였다. Superoxide radical은 반감기가 매우 짧기 때문에 spin trapping agent와 반응시켜서 안정화시킨 산물을 ESR spectroscopy로서 측정함으로써 radical의 소거 여부를 평가하였다. Fig. 1의 표시된 peak가 DMPO에 의하여 안정화된 superoxide radical에 해당하는 peak이며, 시료의 superoxide radical 소거활성은 시료처리 후 변환된 peak의 높이를 측정함으로써 소거효과를 계산하였다. Table 2에서 알 수 있듯이 0.5 mg/m의 시료농도에서는 남풍거대배아미가 9% 정도의 superoxide radical 소거활성이 있었을 뿐 일반미 및 신선찰, 화청 거대배아미의 경우 소거 효과가 거의 없거나 오히려 superoxide radical이 생성되는 결과를 나타내고 있었다. 그러나 시료의 농도를 10배 증가시킨 5 mg/m의 농도에서는 일반미 및 신선찰, 화청 거대배아미도 약 10% 정도의 소거효과를 나타내고 있었으며, 남풍거대배아미의 경우에는 약 40%의 소거효과를 나타내어, 상당한 정도의 superoxide radical 소거활성이 있음을 알 수 있었다. 이러한 효과는 동일한 조건에서 측정된 두류 중 백태 청태, 동부 등과 유사한 정도의 효과를 보였다.

Xanthine oxidase에 대한 억제활성. ESR로 쌀 시료의 superoxide radical 소거활성을 측정하고자 하는 경우, 실험조건상 hypoxanthine/xanthine oxidase system(HPX/XOD)에서 생성된 superoxide radical 자체를 쌀 추출물들이 소거할 수도 있지만, 쌀 추출물들이 xanthine oxidase에 직접 작용하여 효소활성 자체를 저해함으로써 원천적으로 radical의 생성을 불가능하게 만든 결과, superoxide radical 소거활성이 나타난 것일 수도 있다. 이러한 후자의 가능성을 배제하기 위해서 쌀시료 추출물의 xanthine oxidase에 대한 억제효과를 측정하였다. Table 2에서

Table 2. Scavenging effect of 70% ethanolic extracts from rices on superoxide radical

Extracts	O ₂ ⁻ scavenging (% of inhibition)		Activity of XOD (% of inhibition)	
	0.5 mg/ml	5 mg/ml	0.5 mg/ml	5 mg/ml
Normal rice	-7.56±1.59	10.98±2.84	25.01±0.199	-5.24±0.515
Shinsunchal-giant embryonic rice	-1.39±0.997	12.23±4.75	26.13±2.15	6.37±0.557
Whachung-giant embryonic rice	1.24±0.887	14.41±1.04	35.29±0.871	6.40±1.34
Nampung-giant embryonic rice	9.13±0.924	39.97±1.98	25.83±0.789	-11.67±0.207

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean±SE.

Table 3. Antioxidative activity of 70% ethanolic extracts from rices in the linoleic acid system

Extracts	2 days		10 days	
	Absorbance at 500 nm	Inhibition (%)	Absorbance at 500 nm	Inhibition (%)
Control	0.2356±0.001	0	1.063±0.067	0
α-tocopherol	0.1520±0.006	35.48	0.255±0.053	75.9
1% Ascorbic acid	0.1640±0.005	30.39	0.273±0.013	74.3
1% BHT	0.1651±0.007	29.92	0.337±0.019	68.3
Normal rice	0.2076±0.005	11.88	0.688±0.012	35.3
Shinsunchal-giant embryonic rice	0.1756±0.002	25.46	0.465±0.010	56.2
Whachung-giant embryonic rice	0.1706±0.002	27.58	0.388±0.021	63.5
Nampung-giant embryonic rice	0.1657±0.006	29.66	0.325±0.006	69.5

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean±SE.

알 수 있듯이 본 실험에서 사용한 쌀 시료들의 경우에는 낮은 농도에서는 xanthine oxidase의 활성을 20~30% 정도 억제하고 있으나, 고농도의 경우에는 오히려 억제효과가 감소하고 있었다. 특히 남풍거대배아미의 경우에는 xanthine oxidase의 억제 활성이 음의 수치를 나타내고 있어, 시료의 첨가가 오히려 효소의 산화활성을 증진시킨다는 결과를 얻었다.

Linoleic acid 자동산화에 대한 지질과산화 억제효과.

Linoleic acid 자동산화 모델계를 이용하여 품종별 쌀 에탄올 추출물 시료 20 mg에 대한 지질과산화물의 생성 억제효과를 측정하였으며, 실험의 대조군으로서 항산화성 비타민 α-tocopherol 및 ascorbic acid 그리고 합성 항산화제인 BHT들을 각각 1 mg씩 사용하였다. Table 3에서 알 수 있듯이 *in vitro*에서 지질 자동산화가 유발되는 것을 억제하는 효과는 일반품종의 쌀보다 거대배아미 품종들이 효과적이었으며, 찰품종 보다는 메품종이 약간 더 효과적임을 알 수 있었다. 그리고 남풍거대배아미의 경우는 1 mg의 BHT가 나타내는 지질과산화 억제 활성값과 거의 유사한 수치를 나타내고 있었는데(Table 3), 이와 같은 활성수준은 본 연구자들이 이미 조사한 두류의 지질과산화 억제활성 결과에 있어서 동일한 양의 시료첨가 조건 하에서 2일간의 반응결과에서 얻어진 쥐눈이콩이나 청태와 같은 이른바 건강식품으로서 인식된 검정콩들의 지질과산화 억제활성보다 더 높았다.¹⁸⁾ 이와 같은 경향은 10일간의 반응결과에서도 관찰되었다. 이 사실은 발아거대미의 장기간 일상적인 섭취를 통하여 생체 내 산화적 스트레스를 낮출 수 있는 가능성이 있음을 시사한다.

토끼 적혈구 막지질 과산화 억제효과와의 비교. Linoleic acid 자동산화 모델계로서는 *in vivo*에서 발생하는 지질과산화 현상을 재현시키기 어렵다는 기술적 제약점을 보완하기 위해서, 토끼 적혈구 ghost cell의 막지질을 사용하여, 시료의 지질과산화

에 대한 억제활성을 검토하였다. 각 시료는 2 mg씩 첨가하였고, 양성 대조군으로는 시료와 동일한 양의 vitamin E를 사용하였다. Linoleic acid 자동산화 모델계를 사용한 *in vitro* 실험계와 유사하게 막지질의 과산화를 억제하는 활성도 일반품종의 쌀(41.9% 억제)보다는 거대배아미 품종들이 효과적이었으며, 찰품종인 신선찰거대배아미(51.7% 억제) 보다는 메품종인 화청거대배아미(53% 억제) 및 남풍거대배아미(57.8% 억제)가 약간 더 효과적으로 작용하는 경향을 보였다(Table 4).

항변이원성 비교. 거대배아미 에탄올 추출물들은 품종에 따라 차이를 보이면서 DPPH radical에 대한 전자공여능, hydroxyl radical 소거능, *in vitro*(linoleic acid model system) 사용 및 *ex vivo*(토끼적혈구 막지질 분획을 이용) 지질 자동산화에 대한 억제활성을 나타내었기 때문에, 이러한 항산화 효과와 연관지워 항변이원성에는 어떠한 차이가 있는가에 관해서 검토하였다. 본 연구에서는 실험의 편의상 직접변이원인 mitomycin C를 사용하여 항변이원성을 검정하였다. Table 5에서 알 수 있듯이 일반 품종의 쌀에서는 항변이원성이 거의 나타나지 않는데 비해서 거대배아미 품종들은 그다지 높은 수치는 아니지만

Table 4. Antioxidative activity of 70% ethanolic extracts from rices in the rabbit erythrocyte membrane system

Extracts	TBA value	(% of inhibition)
Control	3.4026±0.0865	(0)
α-tocopherol	0.8861±0.1052	(73.4)
Normal rice	1.9763±0.1453	(41.9)
Shinsunchal-giant embryonic rice	1.6422±0.1203	(51.7)
Whachung-giant embryonic rice	1.5979±0.1359	(53.0)
Nampung-giant embryonic rice	1.4371±0.1024	(57.8)

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean±SE.

Table 5. Antimutagenicities of 70% ethanolic extracts from rices against mitomycin C using *E. coli* PQ 37 as an indicator cell

Extracts	Alkaline phosphatase activity (units)	β -galactosidase activity (units)	R-factora	Antimutagenicity (%)
Negative control	35.38±6.157	5.29±1.806	0.149	
Positive control	20.05±2.912	17.38±3.251	0.867	0
Normal rice	18.59±1.364	15.98±0.887	0.860	0.81
Shinsuchal-giant embryonic rice	17.79±1.636	14.05±1.231	0.790	8.88
Whachung-giant embryonic rice	19.49±2.584	15.26±2.303	0.783	9.69
Nampung-giant embryonic rice	18.87±2.023	14.35±1.111	0.760	12.3

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean±SE.

^aValues of mutation induction rate calculated as described in Materials and Methods.

신선찰거대배아미는 8.9%, 화청거대배아미는 9.7%, 남풍거대배아미는 12.3% 정도의 항변이원성을 나타내고 있었으며, 이러한 항변이원성의 경향도 항산화 효과의 경우와 유사하게 남풍거대배아미가 가장 효과적이었으며, 찰품종에 비해서는 메품종의 거대배아미 품종들의 항변이원성이 높게 나타나는 경향을 보였다. 식품이 가지는 항변이원성은 대체로 발암의 initiation 과정에서 변이원이 표적세포에 도달하는 것을 방지하는 이른바 blocking agent로서의 기능에 의한 것일 가능성이 높는데,¹⁹⁾ 실제로 식이섬유 및 gum질 등 다당류들이 바로 blocking agent로 작용하면서 항변이원성을 나타내기도 한다.²⁰⁾ 따라서 일반품종에 비해서 배아의 크기가 큰 거대배아미의 경우 일반품종에 비해서 항변이원성이 높다는 것은 어느 정도 예상했던 결과이지만 찰품종과 메품종 거대배아미 사이에서 나타나는 항산화 효과 및 항변이원 효과의 차이에 대한 정확한 이유의 구명에는 장차 보다 심도 깊은 연구가 요구된다고 하겠다.

이상의 실험 결과, 거대배아미는 일반미에 비하여 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능, hydroxyl radical 소거능 및 지질과산화에 대한 억제능이 높은 것으로 나타났다. 특히 활성산소 라디칼에 대한 소거활성에 있어서 superoxide radical보다는 hydroxyl radical 소거활성이 월등히 우수하다는 결과를 얻었다. Superoxide radical은 생체고분자들에 그다지 독성을 나타내지 않는 반면, hydroxyl radical은 독성이 강한 것으로 알려져 있는 것을 볼 때,¹⁹⁾ 거대배아미 추출물이 잘 알려진 항산화제 수준으로 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 보인다는 사실은 매우 고무적인 결과라고 하겠다. 이와 같은 항산화활성 이외에도 그다지 높지는 않지만 거대배아미가 mitomycin C에 의한 돌연변이 유발을 억제한다는 사실도 밝혀졌다. 특히 남풍거대배아미는 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 제외하고는 검정한 모든 생리활성이 우수함이 밝혀져, 이를 이용한 식품의 개발과 보급은 미각 육성과 만성염증성 질환의 일상적 예방에 크게 기여하리라고 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2001-2003년도 과학재단 목적기초 연구비지원(과제번호 R04-2000-00063) 및 2002-2003년도 농림첨단기술연구비지원(과제번호 201030-03-2-HD120)에 의해서 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Juliano, B.O. (1985) Rice-Chemistry and Technology, AACC Monograph Series. pp. 295-311.
- Sato, H. and Omura, T. (1981) New endosperm mutations induced by chemical mutagens in rice, *Oriza sativa*, L. *Jap. J. Breed.* **31**, 316-326.
- Kim, K. H., Park, S. Z., Koh, H. J. and Heu, M. H. (1992) In *Proceed. of SABRAO Intern. Symp. on the Impact of Biological Research on Agricultural Productivity: New mutants for endosperm and embryo characters in rice: Two dull endosperm and giant embryo.* pp. 125-131.
- Droge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* **82**, 47-95.
- Lin, R. I. S. (1994) In *functional Foods: Phytochemicals and antioxidants.* Chapman & Hall, New York.
- Troll, W., Lim, J. S. and Frenkel, K. (1994) In *Food Phytochemicals for Cancer Prevention: Prevention of cancer by agents that suppress production of oxidants.* ACS Symp. Series 547, American Chemical Society, Washington D.C.
- Yen, G. C. and Chen, H. Y. (1995) Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 27-32.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O. I. (1987) The deoxyribose method: a simple test tube assay for determination of rate constants for reaction of hydroxyl radicals. *Anal. Biochem.* **165**, 215-219.
- Mitsuta, K., Mizuta, Y., Kohno, M. and Hitamatsu, M. (1990) The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation of SOD-like activity of biological substances. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **63**, 187-190.
- Osawa, T. and Namiki, M. (1981) A novel type antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 735-740.
- Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E. and Hochstein, P. (1981) Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 6858-6862.
- Choi, S. W., Nam, S. H. and Choi, H. C. (1996) Antioxidative activity of ethanolic extracts of rice bran. *Food Biotechnol.* **5**, 305-309.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the

- principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
14. Quiladet, P. Huisaman, O. D. and Hofnung, M. (1982) SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 5971-5980.
 15. Chang, I. M., Chang, I. C., Pack, N. W. and Pyun, R. Y. (1987) Assay of potential mutagenicity and antimutagenicity of chinese herbal drugs by using SOS chromotest and SOS umu test. Proceedings of the 1st Korean-Japan toxicology symposium safety assessment of chemicals *in vitro*. *J. Toxicol. Pub. Health* **236-248**.
 16. Pang., H. A., Lee, Y. W., Suh, N. J. and Chang, I. M. (1990) Toxicological study on korean tea materials: Screening of potential mutagenic activities by using SOS chromotest. *Korean J. Pharmacol.* **21**, 83-87.
 17. Droge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* **82**, 47-95.
 18. Chang, S. M., Nam, S. H. and Kang, M. Y. (2002) Screening of the antioxidative activity, antimutagenic activity and mutagenic activity of the ethanolic extracts from legumes. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 1115-1122.
 19. Reiter, R. J., Tan, D. X. and Burkhardt, S. (2002) Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration and melatonin. *Mech. Ageing Dev.* **123**, 1007-1019.
 20. Nam, S. H. and Kang, M. Y. (2003) Screening of antioxidative activity of legume species. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**, 32-38.

Antioxidative and Antimutagenic Activity of Ethanolic Extracts from Giant Embryonic Rices

Mi-Young Kang, Yun-Ri Lee, Hee Jong Koh¹ and Seok Hyun Nam^{2*} (*Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea; ¹Department of Agronomy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea; ²Department of Biological Science, Ajou University, Suwon 442-749, Korea*)

Abstract: 70% ethanolic extracts were prepared from the three mutant rice cultivars with giant embryo termed Shinsunchal-giant embryonic rice, Whachung-giant embryonic rice and Nampung-giant embryonic rice, and its antioxidative and antimutagenic properties were evaluated and compared. For analysing antioxidativity, various antioxidative indices, such as electron donating ability to DPPH radical, scavenging capacity to hydroxyl radicals generated by Fenton reaction, scavenging capacity to superoxide radicals generated by HPX/XOD system, inhibitory effect on autoxidation of linoleic acid and inhibitory effect on membrane lipid peroxidation derived from rabbit erythrocyte ghost, were determined. For analysing antimutagenicity, suppressive effects on mutagenesis induced by the chemical mutagen, mitomycin C, were measured using *E. coli* PQ 37 as a indicator cell. The results showed that for both antioxidativity and antimutagenicity the giant embryonic rices were more effective compared to the general cooking rice. Among the giant embryonic rice cultivars, Nampung-giant embryonic rice tended to be most effective, showing its scavenging activity to DPPH radical, superoxide radical and hydroxyl radical, and inhibitory activity to lipid peroxidation was 2.3-, 3.3-, 1.7-, and 2.5-fold greater than those of normal rice, respectively.

Key words: giant embryonic rice, antioxidativity, antimutagenicity, inhibition of lipid autoxidation

*Corresponding author