

- 연구노트 -

여러 가지 특수미의 일부 항산화 성분 분석

서선정¹ · 최용민¹ · 이선미¹ · 김기종² · 손종록² · 이준수^{1*}

¹충북대학교 식품공학과

²농촌진흥청 작물과학원 품질관리과

Determination of Selected Antioxidant Compounds in Specialty Rice

Sun Jung Seo¹, Youngmin Choi¹, Seon-Mi Lee¹, Kee Jong Kim², Jong Rok Son² and Junsoo Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

²Crop Quality Division, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

Abstract

The objective of this study was to determine antioxidant compounds in specialty rice including milled rice, brown rice, red rice, giant embryonic rice, black rice, green rice, and Goami consumed in Korea. The concentrations of total polyphenols (insoluble and soluble polyphenols), phytic acid, and anthocyanin in the samples were measured using spectrophotometric methods and vitamin E analysis was carried out by HPLC. The contents of the total polyphenolic compounds were 565 mg/100 g for black rice, 405 mg/100 g for red rice, 140 mg/100 g for giant embryo rice, 138 mg/100 g for Goami, 133 mg/100 g for brown rice, 127 mg/100 g for green rice, and 66 mg/100 g for white rice. The black and red rices were significantly high in polyphenolic contents compared with the other rices, apparently due to their intense red-purple color. Black rice, red rice, and Goami showed significantly higher vitamin E and phytic acid contents compared with other rices. Anthocyanins were determined in only black rice (302 mg/100 g) due to the detection limits of spectrophotometric assay. Although vitamin E and anthocyanin contents were relatively lower than polyphenolics among the samples, the specialty rice may contribute to the significant supply of antioxidant compounds to prevent oxidative stress due to the fact that rice is used as a staple food and consumed in large amounts in our diets. The results can be used to increase rice consumption by enhancing consumer awareness on health benefits of the rice.

Key words: rice, antioxidant, polyphenolics, vitamin E, phytic acid, anthocyanin

서 론

식생활의 다양화와 고급화로 매년 쌀 소비량이 감소하여 쌀의 소비증대가 절실히 요구되고 있는 실정이며 쌀 시장 개방으로 인한 농촌의 경제·사회적 문제점을 해결하기 위해 생리활성이 풍부한 쌀 품종 개발의 필요성이 대두되었다. 이와 같은 필요성에 부응하여 유색미, 거대배아미, 고아미 등 다양한 종류의 쌀 품종이 개발되었다. 유색미는 DNA 손상억제, 항암 및 항산화 활성을 나타내는 탄닌계와 안토시아닌계 색소를 상당량 함유하는 것으로 보고되고 있다(1-3). 거대배아미는 배아의 크기가 큰 만큼 양질의 단백질과 비타민 및 생리활성 물질이 일반미에 비하여 상대적으로 높다(4). 쌀에는 식이섬유, phytic acid, polyphenolics, vitamins, γ -oryzanol 등 기능성 성분들이 함유되어 있으며, 이러한 생리활성 성분들은 체내에서 항산화 기능을 나타내는 것으로 밝혀지고 있다(5). 쌀에 존재하는 폴리페놀 화합물은 저분자

항산화 물질로 caffeic, ferulic, p-coumaric, sinapic acid 등이 대표적이다. 이러한 phenolic acid는 분자 내 활성 수소를 가지고 있어 체내 유리 라디칼 제거에 효과적인 것으로 잘 알려져 있다(6). Phytic acid는 쌀의 대표적 저분자 항산화 물질로 주로 칼슘, 마그네슘, 철과 결합한 염의 형태로 존재하며 pro-oxidant로 작용하는 금속 이온과 결합함으로써 유리 라디칼 형성을 억제하는 역할을 한다(7). 비타민 E는 식물로부터 합성되어지는 천연 항산화제로 쌀의 배아 및 미강층에 상당히 함유되어 있다. 비타민 E는 tocopherol과 tocotrienol을 총칭하는 것으로, 세포막내 불포화 지방산의 산화를 방지하고 혈중 콜레스테롤을 저하시켜 심혈관 및 동맥경화 등 만성질환의 예방에 효과적인 것으로 밝혀지고 있다(8). 또한 흑자색 유색미의 주요 색소 성분인 안토시아닌계 화합물은 강한 항산화 효과를 가지고 있으며 노화억제, 망막장애의 치료 및 시력개선 효과 등 다양한 생리활성을 갖는 것으로 보고됨에 따라 인체에 무해한 천연색소 및 기능성

*Corresponding author. E-mail: junsoo@chungbuk.ac.kr
Phone: 82-43-261-2566, Fax: 82-43-271-4412

소재로서 각광받고 있다(9).

본 연구에서는 쌀 섭취의 중요성에 착안하여 건강 기능성 쌀로 개발된 특수미의 항산화 성분 즉, 총 polyphenolics, vitamin E, phytic acid, anthocyanin을 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용된 일반미, 즉 백미(milled rice), 현미(brown rice)와 현미 상태인 특수미, 즉 적색미(적진주벼, Jeogjinjubyeo), 거대배아미(큰눈벼, Keunnunbyeo), 흑미(흑진주벼, Heugjinjubyeo), 녹미(green rice), 고아미(고아미2호, Goami2)는 2004년 생산된 것을 수원 농촌진흥청에서 2005년에 제공받아 사용하였다. 항산화 성분 분석에 사용된 gallic acid와 phytic acid 표준물질은 Sigma사에서, vitamin E는 Merck사에서 구입하여 사용하였다. 그 밖에 사용된 추출용매 및 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

Polyphenol 함량 분석

총 polyphenol의 함량은 soluble polyphenol과 insoluble polyphenol로 각각 추출하여 측정하였으며(10), 두 함량을 합하여 total polyphenol로 나타내었다. 시료 10 g에 methanol 20 mL를 가한 후 Polytron[®]으로 5분간 균질화한 뒤 원심분리하여 상정액을 soluble polyphenol 함량 측정에 사용하였다. Insoluble polyphenol은 원심분리된 잔사에 4.0 N NaOH 20 mL를 가해 2시간 동안 insoluble polyphenol을 가수분해한 뒤 6.0 N HCl를 이용하여 반응액을 pH 2로 보정하였다. 유리된 polyphenol은 ethyl acetate로 20 mL씩 3회 반복 추출하였다. Ethyl acetate 추출물은 감압 농축하여 용매를 완전히 휘발시키고 농축 잔사를 methanol에 재 용해하여 insoluble polyphenol의 함량 측정에 사용하였다. Soluble과 insoluble 추출물의 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu reagent를 사용하여 측정하였다. 추출물 100 μ L에 2% Na₂CO₃용액 2 mL를 가하고 3분 방치한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ L를 가하였다. 30분 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였고 표준물질로 0.1% gallic acid를 사용하였다(11).

Vitamin E 함량 분석

균질화된 시료 5 g을 원통여지에 넣은 후 Soxhlet 장치에서 비타민 E를 추출하였으며 이때 추출 용매는 0.01% butylated hydroxytoluene을 함유한 hexane:ethyl acetate(85:15, v/v)를 사용하였다. 추출물 2 mL를 취하여 추출용매를 휘발시킨 뒤 이동상에 재 용해하여 순상 HPLC에 주입하였다(12). HPLC 장치로는 solvent delivery pump(M930, Young Lin Instrument Inc, Korea)와 형광 검출기(LC305, Thermo Separation Products Inc, CA, USA)를 이용하였으며, 분석 컬럼은 Merck사(Darmstadt, Germany)로부터 LiChrosphere[®] Diol 100 column(250 \times 4 mm, 5 μ m, Hibar Fertigsaupe RT,

Darmstadt, Germany)을 구입하여 사용하였다. 형광 검출기의 excitation wavelength는 290 nm, emission wavelength는 330 nm를 이용하였고 이동상은 1.3% isopropanol을 함유한 *n*-hexane을 사용하였으며 유속은 1.0 mL/min이었다.

Phytic acid 함량 분석

Phytic acid 함량은 phytic acid와 반응하고 남은 Fe³⁺과 2,2'-bipyridine과의 반응정도를 측정하는 방법을 이용하였다(13). 일정량의 시료에 0.2 N HCl 20 mL를 가해 3,000 rpm에서 20분동안 원심 분리하였으며, 분리된 상정액 500 μ L에 ferric solution 1 mL를 가하고 100°C water bath에서 30분간 가열한 후 냉각시켰다. 위 반응액을 5분 간 10,000 rpm에서 원심 분리한 후 상정액 1 mL를 취해 1.5 mL의 2,2'-bipyridine solution과 정확히 1분 동안 반응시킨 후 흡광도 519 nm에서 측정하였다. 표준물질로는 0.15% phytic acid를 사용하였다.

Anthocyanins 함량 분석

일반미와 특수미의 총 안토시아닌 함량은 pH differential method를 이용하여 측정하였다(14). 시료에 0.1% HCl이 포함된 methanol 10 mL를 가하여 2시간 동안 혼합하여 4,500 rpm에서 20분 동안 원심 분리한 후 상정액을 취해 anthocyanin 분석시료로 사용하였다. 위 추출물 1 mL에 0.025 M potassium chloride buffer(pH 1.0) 1 mL를 가하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm와 700 nm에서 측정하였다. 마찬가지로 0.4 M sodium acetate buffer(pH 4.5) 1 mL를 위 추출물 1 mL에 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm와 700 nm에서 각각 측정하였다. 일반미와 특수미의 총 안토시아닌 함량(mg/L)은 cyanidin-3-glucoside의 몰흡광계수($\epsilon=26,900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\text{Anthocyanin content (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times 1,000}{\epsilon \times l}$$

$$A \text{ (absorbance)} = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

$$\text{MW (molecular weight of cyanidine-3-glucoside)} = 449.2$$

$$\epsilon = 26,900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

결과 및 고찰

Polyphenol 함량

특수미의 polyphenol 함량(mg/100 g)은 일반백미(milled rice) 및 현미(brown rice)와 비교하여 Table 1에 나타내었다. Polyphenol의 함량은 soluble polyphenol과 insoluble polyphenol을 각각 측정하고 두 함량을 합하여 total polyphenol로 표시하였다. 일반 백미와 현미의 total polyphenol 함량은 각각 66과 133 mg/100 g으로 상대적으로 도정비율이 적은 현미가 높은 함량을 보였다. 특수미의 경우 적색미(red rice)가 405 mg/100 g, 거대 배아미(giant embryonic

Table 1. Total polyphenolic contents in the specialty rice

	Polyphenolic content ¹⁾		
	Soluble	Insoluble	Total ²⁾
Milled rice	44.31 ± 4.44	21.57 ± 0.58	65.88
Brown rice	76.99 ± 8.39	56.13 ± 2.81	133.12
Red rice	302.86 ± 2.11	102.61 ± 2.91	405.47
Giant embryonic rice	76.66 ± 3.30	63.69 ± 1.50	140.35
Black rice	421.56 ± 17.73	143.62 ± 5.16	565.18
Green rice	67.32 ± 8.25	59.74 ± 2.64	127.06
Goami	89.55 ± 4.69	48.60 ± 0.48	138.15

¹⁾Each value was expressed as mean ± standard deviation (n=3).

²⁾Total polyphenolic content is a simple sum of soluble and insoluble polyphenolic contents.

rice)가 140 mg/100 g, 흑미(black rice)가 565 mg/100 g, 녹미(green rice)가 127 mg/100 g, 고아미(Goami)가 138 mg/100 g의 total polyphenol 함량을 나타내었다. 본 연구 결과 일반 백미에 비해 특수미는 그 종류에 따라 약 2~9배의 높은 total polyphenol을 함유하는 것으로 확인되었다. 특히 적색미와 흑미의 경우 다른 특수미에 비해 높은 total polyphenol 함량을 나타내었으며 이는 두 특수미에 함유된 상당량의 anthocyanin에서 기인되는 것으로 생각한다. Choi 등(15) 역시 본 연구 결과와 마찬가지로 다량의 anthocyanin을 함유하는 흑미가 백미에 비해 매우 높은 polyphenol을 함유하고 있는 것으로 보고하였다.

쌀에는 insoluble polyphenol이 total polyphenol의 약 25~47%를 차지하는 것으로 나타났다(Table 1). 이것은 곡류 및 과채류 등 식물성 식품에 함유되어있는 polyphenol이 유리형으로 존재하기보다는 다당류 및 올리고당과 ester 형태를 이루기 때문인 것으로 생각한다(16). 이처럼 polyphenol의 ester형은 곡류를 섭취하였을 경우 위장의 pH 변화 및 장내 미생물이 생산하는 esterase에 의하여 유리형으로 전환되어 증가된 항산화 효과를 나타내는 것으로 생각한다(17). 따라서 특수미뿐 아니라 일반백미 및 현미를 섭취함으로써 상당량의 생리활성을 나타내는 polyphenol을 얻을 수 있어 암, 심혈관질환, 동맥경화증 등과 같은 만성질환의 예방에 도움이 될 것으로 생각한다.

Vitamin E 함량

Vitamin E는 순상 HPLC를 통해 8가지 유도체를 분리하

여 그 중 생리활성이 가장 큰 α-tocopherol을 기준으로 그 함량(mg α-TE/100 g)을 나타내었다(Table 2). 본 연구에 이용된 쌀의 vitamin E 함량은 백미(0.23 mg α-TE/100 g)에 비해 현미(1.02 mg α-TE/100 g) 및 특수미(0.97~1.21 mg α-TE/100 g)에서 높은 함량을 나타내었다. Vitamin E는 곡류의 배아에 주로 존재하는데 백미의 경우 도정 과정 중 대부분의 배아가 손실되므로 상대적으로 도정 비율이 적은 현미와 특수미에 비해 그 수준이 낮은 것으로 생각한다. 일반적으로 쌀에는 중실류 및 유지류에 비해 vitamin E 함량이 낮지만 섭취빈도가 높아 훌륭한 급원식품이 될 수 있으며 특히 백미와 특수미를 혼합하여 섭취한다면 보다 효과적으로 vitamin E를 얻을 수 있을 것으로 생각한다. 또한 vitamin E는 생체막 불포화지방산의 산화를 방지하는 intracellular antioxidant로 본 연구에 이용된 현미 및 특수미는 동맥경화 및 심혈관질환 등의 만성질환 예방에 도움이 될 것으로 사료된다(18).

Phytic acid 함량

Phytic acid는 식품 무기질의 체내 흡수를 방해하는 anti-nutrient이지만 분자 내에 6개의 인산기를 가짐으로 강한 음성 전하를 띠어 체내물질의 산화에 촉매 작용을 하는 전이금속 이온을 효과적으로 제거하는 대표적인 항산화제이다. Phytic acid(inositol hexaphosphate)는 곡류 종류에 따라 0.8%~6.4%(w/w) 정도 함유되어 있는 것으로 보고되었다(7). 일반미와 특수미의 phytic acid 함량(mg/100 g)은 백미, 현미, 거대배아미, 녹미, 적색미, 고아미, 흑미 순으로 각각 529, 1,429, 1,507, 1,561, 1,732, 2,163 mg/100 g으로 나타났다(Fig. 1). Lee 등(19)은 쌀의 품종 간 phytic acid 함량을 측정하였으며 현미 68종의 평균 phytic acid 함량이 1,260 mg/100 g, 백미 8종의 평균 함량이 183 mg/100 g으로 본 연구 결과와 마찬가지로 도정 중 상당량의 phytic acid가 손실됨을 보고하였다.

Anthocyanin 함량

일반미와 특수미의 anthocyanin 함량을 측정된 결과 흑미(302 mg/100 g)를 제외한 나머지 시료에서는 검출되지 않았다(data not shown). 적색미의 경우 육안으로 적색 색소가 관찰되었으나 그 함량이 검출되지 않은 것은 본 연구에 이용된 비색법이 오차범위가 크고 검출한계가 높기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 일반미와 특수미의 anthocyanin 함량

Table 2. Vitamin E contents in the specialty rice

Sample ¹⁾	α-T ²⁾	β-T	γ-T	δ-T	α-T3	β-T3	γ-T3	δ-T3	α-TE	Total
Milled rice	0.23	- ³⁾	-	-	0.28	-	0.57	0.17	0.23	1.25
Brown rice	1.02	0.05	0.09	-	1.28	-	1.89	0.80	1.44	5.13
Red rice	1.21	-	0.30	-	1.42	-	2.14	0.78	1.67	5.85
Giant embryonic rice	1.02	0.05	0.18	-	0.77	-	1.14	0.11	1.29	3.27
Black rice	1.17	-	0.11	-	0.50	-	1.16	0.44	1.33	3.38
Green rice	0.97	0.05	0.10	-	0.73	-	1.43	0.59	1.22	3.87
Goami	1.05	0.08	0.27	-	1.24	-	1.99	0.26	1.49	4.89

¹⁾Mean of duplicate determinations expressed as mg per 100 g of grain.

²⁾Corresponding tocopherols and tocotrienols. ³⁾Not detected.

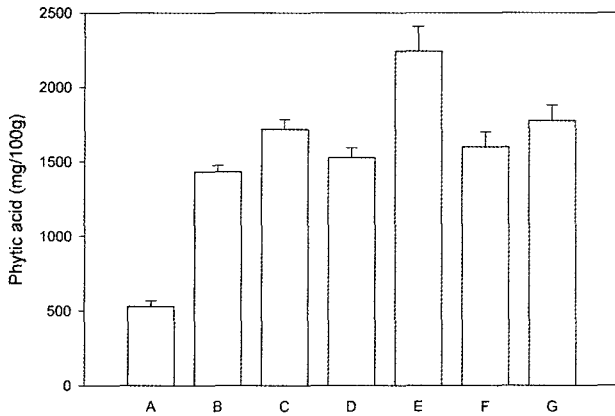


Fig. 1. Phytic acid contents in the specialty rice.

A, milled rice; B, brown rice; C, red rice; D, giant embryonic rice; E, black rice; F, green rice; G, Goami.

비교를 위해서는 HPLC 등을 이용한 정밀한 방법이 적용되어야 하겠다.

요 약

본 연구에서는 쌀 섭취의 중요성에 착안하여 건강 기능성 쌀로 개발된 특수미의 항산화 성분을 분석하고자 하였다. 특수미의 polyphenol, phytic acid, anthocyanin은 비색법으로 vitamin E는 순상 HPLC로 분석하였다. 본 연구 결과 일반백미에 비해 특수미는 그 종류에 따라 약 2~9배의 높은 total polyphenol 함유하는 것으로 확인되었다. 또한 쌀에는 insoluble polyphenol이 total polyphenol의 약 25~47%를 차지하는 것으로 나타났다. 쌀의 vitamin E 함량은 백미(0.23 mg α -TE/100 g)에 비해 현미(1.02 mg α -TE/100 g) 및 특수미(0.97~1.21 mg α -TE/100 g)에서 높은 함량을 보였고 phytic acid 함량은 백미, 현미, 거대배아미, 녹미, 적색미, 고아미, 흑미 순으로 각각 529, 1,429, 1,507, 1,561, 1,732, 2,163 mg/100 g으로 나타났다. 일반미와 특수미의 anthocyanin 함량을 측정된 결과 흑미(302 mg/100 g)를 제외한 나머지 시료에서는 검출되지 않았으며 일반미와 특수미의 anthocyanin 함량 비교를 위해서는 HPLC 등을 이용한 정밀한 방법이 적용되어야 하겠다. 본 연구 결과는 쌀의 항산화 성분과 항산화 활성 연구에 있어 기초 자료로서 활용될 것으로 예상되며, 건강증진 식품으로서의 쌀을 인식시켜 나아가 쌀의 소비 촉진에 상당한 영향을 미칠 것을 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Esdribano-Bailon MT, Stos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC.

2004. Anthocyanins in cereals. *J Chromatogr A* 1054: 129-141.
2. Hu C, Zawistowski J, Ling W, Kitts DD. 2003. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. *J Agric Food Chem* 51: 5271-5277.
3. Morimitsu Y, Kubota K, Tashiro T, Kamiya T, Osawa T. 2002. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. *Int Congr* 1245: 503-508.
4. Kang M, Lee Y, Koh HJ, Nam SH. 2004. Antioxidative and antimutagenic activity of ethanolic extracts from giant embryonic rices. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 61-66.
5. Slavin JL, Martini MC, Jacobs DR, Marquart L. 1999. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *Am J Clin Nutr* 70: 459S-463S.
6. Baublis AJ, Lu C, Clydesdale FM, Decker EA. 2000. Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants. *J Am Col Nutr* 19: 308S-311S.
7. Graf E, Eaton JW. 1990. Antioxidant functions of phytic acid. *Free Radic Biol Med* 8: 61-69.
8. Qureshi AA, Mo H, Packer L, Peterson DM. 2000. Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant, and antitumor properties. *J Agric Food Chem* 48: 3130-3140.
9. Hong W, Guohua C, Ronald LP. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 45: 304-309.
10. Sosulski F, Krzygier K, Hogge L. 1982. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J Agric Food Chem* 30: 337-340.
11. Velioglu YS, Mazza G, Cao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46: 4113-4117.
12. Lee SM, Lee HB, Lee J. 2006. Comparison of extraction methods for the determination of vitamin E in some grains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 248-253.
13. Haug W, Lantzsch H. 1983. Sensitive methods for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J Sci Food Agric* 34: 1423-1426.
14. Türker N, Erdoğan F. 2006. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). *J Food Eng* 76: 579-583.
15. Choi Y, Jeong HS, Lee J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103: 130-138.
16. Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Roberston JA, Williamson G. 1997. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *J Agric Food Chem* 45: 661-667.
17. Andreasen MF, Kroon PA, Williamson G, Carcia-Conesa MT. 2001. Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant deferic acid. *Free Radic Biol Med* 31: 304-314.
18. Qureshi AA, Mo H, Packer L, Peterson DM. 2000. Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant, and antitumor properties. *J Agric Food Chem* 48: 3130-3140.
19. Lee H, Rhee H, Lee S, Kim C, Choi Y. 1997. Contents of phytic acid and minerals of rice cultivars from Korea. *J Food Sci Nutr* 2: 301-303.

(2007년 1월 24일 접수; 2007년 2월 26일 채택)