

흑미(*Oryza sativa* L.) 호분층 추출물이 난소절제 흰쥐의 골밀도 및 골대사 지표에 미치는 영향

남송이^{1†} · 김남석^{1†} · 이영민^{2†} · 최봉겸¹ · 이선희¹ · 장환희¹ · 김정봉¹ · 이해정³ · 이성준⁴ · 이성현^{1*}
¹농촌진흥청 국립농업과학원 기능성식품과, ²서울여자대학교 식품영양학과,
³을지대학교 식품영양학과, ⁴고려대학교 식품공학과

Effects of *Oryza sativa* L. Aleurone Layer Extract on Bone Mineral Density and Bone-related Markers in the Ovariectomized Rat

Song-Yee Nam^{1†}, Nam-Seok Kim^{1†}, Young-Min Lee^{2†}, Bong-Kyoum Choi¹, Seon-Hye Lee¹, Hwan-Hee Jang¹,
Jung-Bong Kim¹, Hae-Jeung Lee³, Sung-Joon Lee⁴, Sung-Hyen Lee^{1*}

¹Functional Food & Nutrition Division, Department of Agro-food Resources,
Rural Development Administration, Wanju-gun 565-851, Korea

²Department of Food Science and Nutrition, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

³Department of Food and Nutrition, Eulji University, Seongnam-si, Gyeonggi-do 461-713, Korea

⁴Department of Food Bioscience & Technology, Korea University, Seoul 136-713, Korea

Abstract – Aleurone layer of Black rice (*Oryza sativa* L.) is enriched with anthocyanin that could increase bone density. This study was conducted to investigate the osteoporosis-preventing effects of the aleurone layer extract (BRE) on bone loss of ovariectomized (OVX) rats. OVX (or sham-operated) rats were assigned to three groups (n=8 per group): sham operated group (Sham); OVX control group (OVX); OVX-BRE group, OVX rats treated with BRE at 90 mg/kg B.W. The deionized water alone or deionized water with BRE was orally administrated to Sham, OVX or OVX-BRE groups, respectively for 12 weeks. High fat diet with 45 kcal% fat and water were fed to all rats ad libitum. Body weight was significantly decreased in the OVX-BRE group compared to the OVX group (p<0.05). The bone mineral density and bone length of tibia were significantly higher in the OVX-BRE group compared to the OVX group and breaking force was significantly higher for the both tibia and femur bones. Serum estradiol concentration and calcium concentration of femur were higher in the OVX-BRE group than those of OVX group. However, serum alkaline phosphatase activity and parathyroid hormone concentration were decreased in the OVX-BRE group compared to the OVX group. The results suggest that aleurone layer of Black rice is a potentially useful ingredient to protect against estrogen deficiency or menopause related osteoporosis.

Key words – *Oryza sativa* L., Aleurone layer, Bone mineral density, Bone mineral content, Ovariectomized (OVX) rats

과학과 문명의 발달로 점차 인간의 평균 수명이 연장되고 중년 이후 여성의 삶 중에서 약 1/3을 갱년기로 보내게 되기 때문에, 이 시기의 삶의 질을 향상시키기 위해 다양한 노력들이 이루어지고 있다.^{1,2)} 폐경이 진행되는 여성은 골 대사 이상에 따른 골다공증이 문제되는데, 골다공증은 골 구성성분의 감소로 정상인에 비해 골밀도와 골강도가 현저히 감소된 상태를 이르는 대사성 골질환으로, 연령 증가에 따

른 골 흡수와 골 형성의 불균형, 특히 폐경으로 인한 에스트로겐 결핍에 따라 갱년기 여성에게서 큰 문제가 되고 있다.³⁻⁵⁾ 에스트로겐은 조골세포에 작용하여 파골세포 활성을 억제하는 물질을 합성함으로써 골격대사에 관여하는데,⁶⁾ 골 소실 속도는 폐경 후 에스트로겐 결핍으로 인해 5~10년 후 빨라지며, 노화에 의해 서서히 골밀도가 감소된다.⁷⁾

골량의 감소는 개인차 또는 다른 여러 가지 원인으로 인해 그 정도의 차이가 있지만, 병적으로 과다하게 골량이 감소하여 일정치 이하로 저하되면 작은 충격에도 쉽게 골절이 생기게 된다.⁸⁾ 골다공증은 그 증세 자체보다는 골의 약

[†]Equal contribution

*교신저자(E-mail): lshin@korea.kr
(Tel): +82-63-238-3702

화에 따라 용이하게 초래되는 각종 골절, 특히 대퇴골 골절 등으로 장기간 활동을 제한하여 건강한 생활을 영위할 수 없고, 결과적으로 노인층 사망의 15%에 대한 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 과도한 파골세포의 활성화에 의해 유발된 골질환의 치료나 예방의 목적으로 내인성 조절인자들 이외에도 여러 약물들이 이용되고 있다. 그러나 이러한 약물들은 여러 가지 부작용과 복용상의 어려움을 갖고 있음이 알려져 있어,⁹⁻¹²⁾ 새로운 작용 및 약물구조를 가지면서 독성과 부작용이 적으며 골다공증의 예방 또는 치료에 효과적인 신물질의 개발이 요구되고 있다. 또한 이러한 신물질은 민간요법으로 예로부터 사용되어온 독성이 없는 천연물에서 발견될 가능성이 높기 때문에 천연물로부터 신약을 창출하려는 시도가 활발히 진행되고 있다.^{13,14)}

민간에서 뼈 건강을 목적으로 사용되는 식품 중에 흑미는 우리나라에서 전국적으로 재배 및 생산량이 증가하고 있으며, 흑미 소재를 이용한 다양한 제품이 개발되고 있다. 흑미의 안토시아닌은 수용성의 플라보노이드계 천연색소로, 다양한 형태의 식품으로도 가공되며 진한 검붉은색을 띠는 몸에 좋은 자연 식품이라 하여 'black food'로 많은 관심을 받고 있다.¹⁵⁾ 또한, phenolics hydroxyl기를 갖기 때문에 거대분자들과 결합하는 성질을 지니고 있어¹⁶⁾ 다양한 생리작용을 지니는 것으로 알려져 있는데, 흑미는 항산화¹⁷⁾, 항당뇨,¹⁸⁾ 염증 완화,¹⁹⁾ 지방간 개선,²⁰⁾ 동맥경화 예방 및 치료,²¹⁾ 면역기능 증진²²⁾ 및 골다공증 예방 효과가 있는 것으로 최근 보고되었다.²³⁾

따라서 본 연구에서는 우리가 주식으로 섭취하는 곡류 중에서 뼈 건강에 도움을 줄 수 있는 흑미에서 안토시아닌의 함량을 많이 추출할 수 있는 방법을 개발하여 특허출원하였고, 이 방법에 의해 추출된 흑미 추출물을 이용하여, 난소 절제 모델에서 뼈의 골밀도와 골강도 및 뼈 건강 관련 호르몬에 미치는 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

흑미 추출물 제조 - 흑미(*Oryza sativa* L.)는 진도 소재 정미소에서 구입하였고, 호분층을 분쇄하여 50% 에탄올로 40°C에서 48시간 동안 추출하였다. 추출물을 여과지로 거른 후에, 농축하고 동결건조하여 시료로 사용하였다.

실험동물 및 실험식이 - 실험동물은 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐(5주령)로, 난소절제군(ovariectomy, OVX)은 양측 난소를 절제하였으며, 비 난소절제군(Sham)은 개복수술만 시행한 것을 중앙실험동물(주)에서 구입하여 사용하였다. 실험동물(Sham 및 OVX 흰쥐)은 3주간의 회복기간을 거친 후, Sham군, 난소절제(OVX)군, 난소절제 + 흑미 호분층 추출물 90 mg/kg BW 투여군(OVX-BRE)의 총 3개 군으로 나누어 실험에 사용하였고, 증류수 및 추출물을 매일 1회씩

Table I. Composition of experimental diet

Ingredient	g/kg diet
Casein, 30 Mesh	200
L-Cystine	3
Corn Starch	72.8
Maltodextrin 10	100
Sucrose	172.8
Cellulose, BW200	50
Soybean Oil	25
Lard	177.5
Mineral Mix S10026	10
DiCalcium Phosphate	13
Calcium Carbonate	5.5
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5
Vitamin Mix V10001	10
Choline Bitartrate	2
FD&C Red Dye #40	0.05

경구 투여하였다. 실험식이(Research Diets, USA)는 지방함량이 에너지의 45% 수준에서 포함된 고지방식이(Table I)를 12주간 공급하였는데, 실험식이 및 식수는 실험기간 동안 자유급여 하였으며, 식이 섭취량은 주 3회, 체중은 주 1회씩 측정하였다. 실험동물은 개별사육 하였고, 실내온도 20±2°C, 습도 50±5%, 명암 12시간을 주기로 자동 조절되는 환경에서 사육되었으며, 모든 실험동물의 사육 및 관리 절차는 국립농업과학원 동물실험윤리위원회로부터 승인을 받아 수행하였다(승인번호 NAAS 1408).

골밀도, 강도 및 무기질 함량 측정 - 실험동물의 대퇴골(femur) 및 경골(tibia)에서 골밀도(bone mineral density: BMD)와 골무기질 함량(bone mineral content: BMC)을 동물전용 골밀도 측정기(PIXImus 2 2.00, LUNAR, USA)를 사용하여 측정하였다. 대퇴골과 경골의 강도는 조직특성 분석기(Texture analyzer, System micro systems, UK)를 이용하여 분석하였는데, pre speed 0.6 mm/sec, test speed 0.6 mm.sec, force 0.005 kg 조건으로 뼈의 중간 부분에서 일정하게 측정하였다.

경골의 칼슘과 인 함량을 식품공전 시험법에 의하여 분석하였는데,²⁴⁾ 경골을 600°C 회화로에서 건식 회화시키고, 질산용액에 분해시킨 후 분석용 시료로 이용하였다. 칼슘의 함량은 원자방출분광기(ICP-OES, Perkinelmer, USA)를 이용하여 분석하였고, 인의 함량은 폴리브덴청 비색법에 따라 분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Mecasys, Korea)를 이용하여 측정하였다.

생화학적 분석 - 혈액은 실험동물을 탄산가스(CO₂)로 마취시킨 후 심장으로부터 채취하였고, 실온에 30분 방치 후

3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 혈청을 칼슘대사 및 관련 호르몬 분비 분석에 사용하였다. 생화학적 항목으로 혈중 alkaline phosphatase(ALP) 활성도(아산제약, Korea)와 parathyroid hormone(PTH ELISA Kit, USCN life science, China), osteocalcin(Osteocalcin ELISA kit, Biomedical technologies Inc., USA) 및 estradiol(Estradiol ELISA kit, Biovision., USA)의 농도를 측정하였다.

통계 분석 - 실험결과는 측정 후 Mean±SEM로 나타내었고, 처리간의 차이는 SPSS 프로그램에서 ANOVA를 실시한 후 사후검정으로 Duncan's multiple range test에 의하여 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량과 체중에 미치는 영향 - 식이섭취량은 난소 절제군(OVX)에서 약 16.4 g으로 정상 대조군(Sham)의 14.4 g에 비하여 증가하였으나 두 난소절제군 사이에는 유의한 차이가 없었다(자료 제시하지 않음). 체중은 OVX에서 Sham에 비하여 증가하였으나, 흑미 호분층 추출물(BRE)을 섭취한 OVX-BRE에서 OVX군보다 유의한 수준에서 체중이 감소하였다(Fig. 1). 따라서 난소절제는 식이섭취량 및 체중 증가에 영향을 주지만, BRE를 섭취한 경우 OVX군과 같은 식이섭취량임에도 불구하고, 체중 증가를 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

골밀도, 골무기질 함량, 강도 및 길이에 미치는 영향 - 대퇴골과 경골의 골밀도(BMD)와 골무기질 함량(BMC)을 Table II에 나타내었다. 대체적으로 대퇴골과 경골의 골밀도가 골다공증 모델에서 5~6%씩 감소하였는데, 흑미 호분층 추출물을 섭취한 실험군(OVX-BRE)에서 대퇴골과 경골의

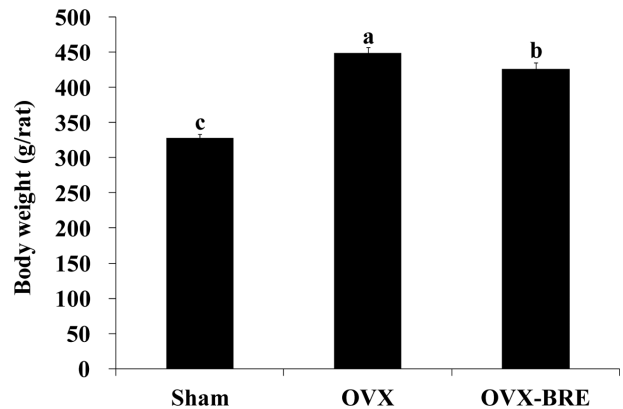


Fig. 1. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on body weight of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

골밀도가 OVX군보다 각각 2%와 8%가 증가하였고, 경골의 경우, OVX군과 유의한 차이를 보였다.

골무기질 함량(BMC)도 난소절제한 동물 모델에서 감소하는 경향을 보였고, BRE를 급여한 경우, 대퇴골과 경골에서 각각 3%와 18%가 증가하는 경향을 보였으나 실험군 사이에 유의한 차이를 보이지는 않았다(Table II). 특히 난소절제에 의해 경골의 칼슘 함량이 유의하게 감소되었으나, BRE를 급여한 경우 Sham 군과 가까운 수준으로 증가하였다(Fig. 2). 그러나 경골의 인 함량은 모든 실험군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다(결과 표시하지 않음). 따라서 BRE 공급은 경골에서 칼슘 함량을 증가시켰으므로 골무기

Table II. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on bone mineral density (BMD), mineral content (BMC), strength, and length of experimental rats

	Sham	OVX	OVX - BRE
Femur			
BMD, g/cm ²	1.99±0.04 ^{NS}	1.88±0.05	1.92±0.01
BMC, g	4.67±0.11 ^{NS}	4.57±0.12	4.70±0.12
Strength, kg	21.68±0.98 ^b	20.37±1.27 ^b	25.31±0.84 ^a
Length, cm	5.98±0.07 ^{NS}	6.09±0.08	6.12±0.07
Tibia			
BMD, g/cm ²	1.68±0.03 ^{ab}	1.60±0.04 ^b	1.72±0.02 ^a
BMC, g	3.30±0.37 ^{NS}	2.86±0.13	3.37±0.13
Strength, kg	18.74±0.20 ^{ab}	17.81±0.68 ^b	19.77±0.53 ^a
Length, cm	6.25±0.36 ^{ab}	5.77±0.16 ^b	6.65±0.15 ^a

Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Values are means±SEM (n=8). Different letters within each line are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P < 0.05$. NS: Not significantly different

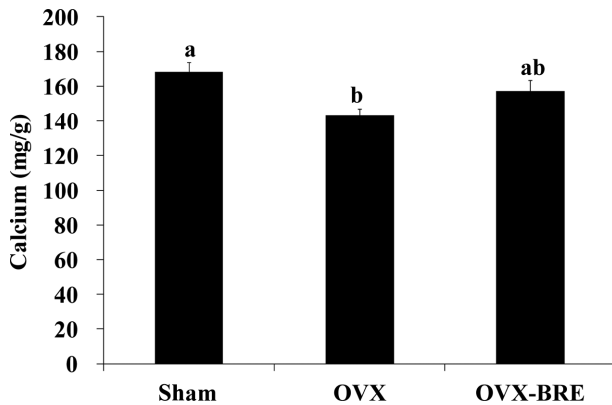


Fig. 2. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on Ca concentration in femur of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

질 함량에 영향을 줄 수 있는 것으로 보인다.

뼈의 강도(strength)는 OVX군에서 Sham군에 비해 대퇴골과 경골에서 각각 6%와 5%가 감소하였으나($p>0.05$), BRE를 투여한 OVX-BRE 군에서 OVX군보다 각각 24%와 11%가 유의하게 증가하였고($p<0.05$), 정상군인 Sham군보다 높게 나타났다(Table II). 그러므로 흑미 호분층의 추출물은 폐경기 여성에서 자주 일어나는 골질의 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

또한 BRE를 급여한 경우 경골의 길이가 OVX군보다 15% 증가하였는데($p<0.05$), BRE의 공급은 대체적으로 대퇴골보다는 경골의 골밀도와 골무기질 함량 및 발달에 영향을 줄 수 있는 것으로 보인다(Table II).

혈중 생화학적 지표에 미치는 영향 - Alkaline phosphatase (ALP)는 정상적인 혈액에서는 적은 농도로 존재하는데, 조직에서 이상이 생기거나 골육종(osteosarcoma)의 경우 혈청 내에서 ALP가 증가하게 된다.²⁵⁻²⁸⁾ Fig. 3은 흑미 호분층 추출물이 혈청 ALP 활성에 미치는 영향을 보여주고 있는데, OVX군이 난소를 절제하지 않은 Sham군에 비해 혈청 ALP 활성이 높아졌으나, BRE의 투여로 인해 OVX-BRE군은 OVX 군보다 ALP 활성이 유의적으로 감소하였다($p<0.05$). ALP는 조골 대사와 관련이 깊어 대사성 골 질환 등 조골 세포의 활동이 증가하여 골 교체율이 빠를 때 혈액 내에서 농도가 증가하는데,²⁹⁾ BRE 투여군에서 OVX군보다 ALP 활성이 낮아져 골 대사에 유익한 효과가 있는 것으로 보인다.

Osteocalcin(OC)은 골아세포에서 합성되어 뼈의 세포내 기질에 침착되고, 새로 합성된 일부가 혈액 내로 분비되므로 뼈의 무기질 대사 지표로 사용된다.³⁰⁾ 특히 혈청 OC농도는 폐경 후에 증가되며 폐경 후에 나타나는 골소실율을

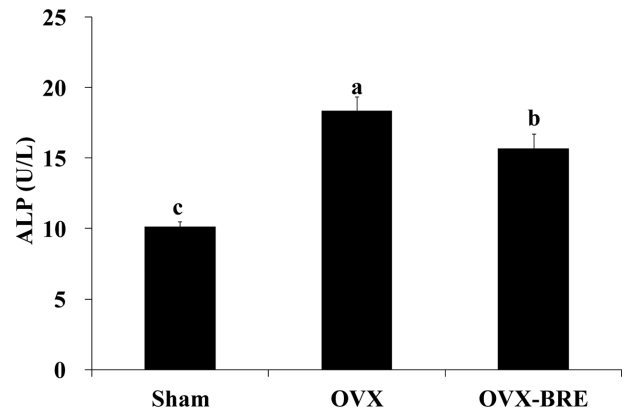


Fig. 3. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on serum alkaline phosphatase activity of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

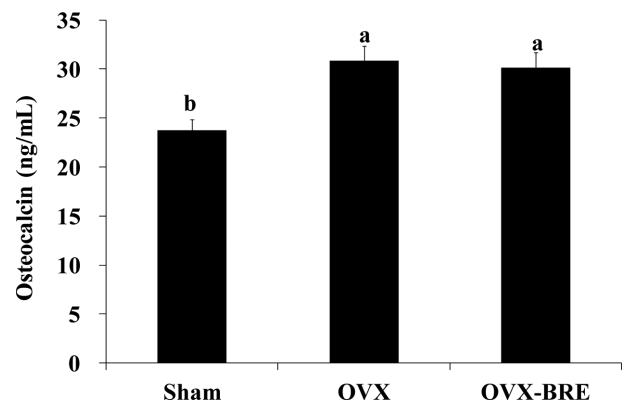


Fig. 4. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on serum osteocalcin level of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

잘 예측할 수 있는 지표로 알려져 있다.^{31,32)} 본 실험의 경우 OVX군의 혈중 OC농도는 Sham군보다 유의적으로 증가하였으나 BRE 투여에 따른 영향은 나타나지 않았는데(Fig. 4), 이는 식물 추출물이 다른 생화학 지표에는 영향을 주었으나 OC에는 영향을 주지 못했던 이 등(2005)의 보고와 일치하는 결과이다.³³⁾

골다공증의 진단 지표로 사용되는 혈중 estradiol 함량은 OVX군에서 Sham군에 비하여 45% 감소하였으나, BRE를 급여한 OVX-BRE은 OVX군에 비하여 23% 증가하여 유의한 효과를 보였다(Fig. 5). 이것은 홍삼 추출물을 이용하여

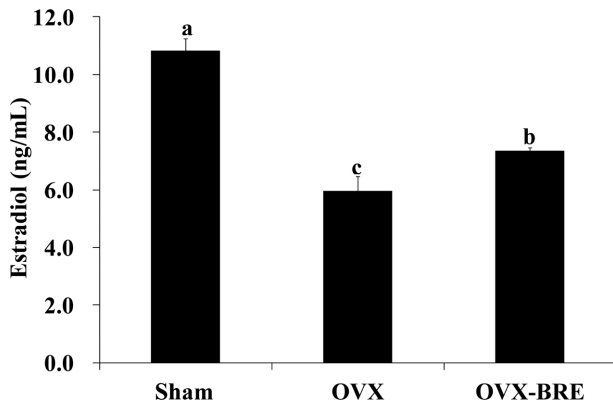


Fig. 5. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on serum estradiol level of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

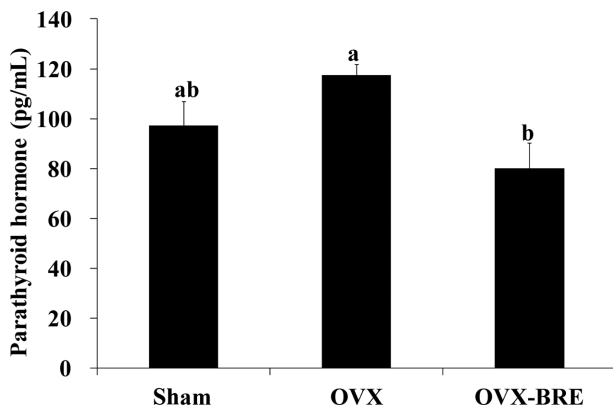


Fig. 6. Effect of *Oryza sativa* L. aleurone layer extract on serum parathyroid hormone level of experimental rats. Rats were treated with distilled water for Sham and OVX groups or BRE at 90 mg/kg body weight for OVX-BRE group for 12 weeks. Each bar represents the mean±SEM value (n=8). Bars not sharing the same letters are significantly different according to the Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

골다공증 모델의 혈중 estradiol 수준을 높일 수 있었던 연구 결과와 비교할 때,³⁴⁾ 흑미 호분층 추출물도 혈중 estradiol 수준에 영향을 줌으로써 폐경 후 여성의 뼈 건강 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

부갑상선 호르몬(PTH)은 혈중 칼슘농도에 따라 분비가 조절되는데, 칼슘 농도가 낮아지면 부갑상선에서 이 호르몬의 분비를 증가시킨다. 본 연구에서 Sham군에 비해 OVX군의 혈중 PTH 농도가 증가하였으나, 흑미 추출물(BRE)의 공급으로 혈중 PTH 수준이 유의적으로 감소하였고 Sham군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

결론

흑미 호분층 추출물은 난소절제로 인해 골 소실이 일어나는 실험동물모델에서, 골밀도, 골 무기질 함량 및 뼈의 강도에 영향을 줌으로써, 골 소실을 억제하는 효과가 있었다. 이것은 흑미 호분층 추출물이 골대사와 관련된 각종 혈중 생화학적 지표에 영향을 주고 이것이 골대사에 영향을 주기 때문인 것으로 분석된다. 따라서 흑미 호분층 추출물은 폐경 후 여성의 골다공증 예방 및 뼈 건강 개선을 위해 이용될 수 있을 것으로 보이며, 임상실험을 통한 인체에서의 적용 및 확인 실험 연구가 필요하다.

사사

본 연구는 농촌진흥청의 공동연구사업 ‘흑미의 *in vivo* 뼈 건강과 비만 동시조절 개선 기전 연구(PJ0109001)’ 연구비의 지원으로 이루어졌으며, 동물실험 과정에서 도움을 준 조수연, 조수정 선생, 뼈의 강도측정에 도움을 준 최수영 선생에게 감사드립니다.

인용문헌

1. Kwon, S. C. (1998) Effects of continuously added oral progestin (medroxy progesterone acetate) on the levels of serum lipid and lipoprotein during estrogen replacement therapy in postmenopausal women. *Korean Soc. Obstetrics & Gynecology* **41**: 2442-2446.
2. Han, S. H. (2004) A Study on the menopausal symptoms, menopausal management and quality of life in middle aged women. MA thesis. *Ewha woman's university*.
3. Lee, E. S. and Kang, B. H. (1997) Biochemical bone markers in postmenopausal osteoporotic Women. *Korean Soc. obstetrics and Gynecology* **40**: 1450-1457.
4. Clark, J. H. (2006) A critique of Women's Health Initiative Studies (2002-2006). *Nucl. Recept. Signal.* **4**, e023.
5. Kim, J., Lee, J. H., Kim, K. W., Lee, K. W., Han, S. B. and Kim, H. M. (2002) Effect of serum isolated from osteoporotic human on the growth and differentiation of normal human osteoblast. *J. Korean Assoc. Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg.* **24**: 277-292.
6. Mo, S. M., Lee, Y. S., Ku, J. O., Son, S. M., Seo, J. S., Yoon, E. K., Lee, S. K. and Kim, W. K. (2003) Dietary therapy. 2nd ed. *Kyomun Press; Seoul*. 450-478.
7. Yoo, S. W., Jo, H. H., Yeo, K. A., Lew, Y. O., Kwon, D. J., Chung, G. W., Kim, J. H. and Kim J. H. (2000) The effect of vitamin D₃ addition on bone mineral density in postmenopausal hormone replacement. *Kor. J. Obst. Gyne.* **43**: 992-997.
8. Wasnich, R. (1996) What is an osteoporotic fracture? In

- Osteoporosis: Diagnostic and Therapeutic Principles, edited by Rosen CJ, Totowa, NJ, *Humana Press*. 79-88.
9. Recker, R. P. (1993) Current therapy for osteoporosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **76**: 14-16.
 10. Rodan, G. A. (1994) Emerging therapies in osteoporosis. *Ann. Rep. Med. Chem.* **29**: 275-285.
 11. Reginster, J. Y. (1995) Treatment of bone in elderly subjects: calcium, vitamin D, fluor, bisphosphonates, calcitonin. *Horm. Res.* **43**: 83-88.
 12. Stock, J. L. (1996) Drug therapy. In Osteoporosis: Diagnostic and Therapeutic Principles, edited by Rosen CJ, Totowa, NJ, *Humana Press*. 173-187.
 13. Jun, J. Y., Lee, S. Y., Kim, B. M. and Jeong, I. H. (2011) Effect of lactic acid extracts of *Sargassum horneri* on bone formation in female sprague-dawley rats. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **44**: 25-30.
 14. Jung, Y. J. and Choi, M. J. (2012) Effects of Oolong Tea Supplementation on Bone Mineral Density and Bone-Related Markers in Ovariectomized Rats. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**: 480-488.
 15. Choi, S. W., Kang, W. W. and Osawa, T. (1994) Isolation and identification of anthocyanin pigments in black rice. *Food Sci. Biotechnol.* **3**: 131-136.
 16. Kim, S. K. (2008) Evaluation of antioxidant activity. *J. Fd. Hyg. Safety.* **3**: 35-40.
 17. Sangkitikomol, W., Tencomnao, T. and Rocejanasaroj, A. (2010) Effects of thai balck sticky rice extract on oxidative stress and lipid metanolism gene expression in HepG2 cells. *Genet Mol. Res.* **9**: 2086-2095.
 18. Guo, H., Ling, W., Wang, Q., Liu, C., Hu, Y., Xia, M., Feng, X. and Xia, X. (2007) Effect of anthocyanin rich extract from black rice (*oryza sativa* L. indica) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose fed rats. *Plant foods Hum. Nutr.* **62**: 1-6.
 19. Guo, H., Xia, M., Zou, T., Ling, W., Zhong, R. and Zhang, W. (2012) Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity associated insulin resistance and hepatic steatosis in high fat diet fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *J. Nutr. Biochem.* **23**: 349-360.
 20. Jang, H. H., Park, M. Y., Kim, H. W., Lee, Y. M., Hwang, K. A., Park, J. H., Park, D. S. and Kwon, O. (2012) Black rice (*Oryza sativa* L.) extract attenuates hepatic steatosis in C57BL/6J mice fed a high-fat diet via fatty acid oxidation. *Nutr. Metab.* **9**: 27-38.
 21. Xia, X., Ling, W., Ma, J., Xia, M., Hou, M., Wang, Q., Zhu, H. and Tang, A. Z. (2006) An anthocyanin-rich extract from black rice enhances atherosclerotic plaque stabilization in apolipoprotein E-deficient Mice. *J. Nutr.* **136**: 2220-2225.
 22. Wang, Q., Han, P., Zhang, M., Xia, M., Zhu, H., Ma, J., Hou, M., Tang, Z. and Ling, W. (2007) Supplementation of black rice pigment fraction improves antioxidant and anti-inflammatory status in patients with coronary heart disease. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* **16**: 295-301.
 23. Jang, W. S., Seo, C. R., Jang, H. H., Song, N. J., Kim, J. K., Ahn, J. Y., Han, J. J., Seo, W. D., Lee, Y. M. and Park, K. W. (2015) Black rice (*Oryza sativa* L.) extracts induce osteoblast differentiation and protect against bone loss in ovariectomized rats. *Food Funct.* **6**: 265-275.
 24. Korean food standards codex (2011) Korea food & drug administration, Seoul, Korea.
 25. Beeson, P. B. and McDermott, J. B. (1994) Wyngaarden. Text Book of medicine. *Saunders Co. Philadelphia*, 754-764.
 26. Corine, H.R. and Emma, S. W. (1984) Basic nutrition and diet therapy. 5th ed. *Macmillan Co., New York*. 272-273.
 27. Guyton, A. C. (1994) Text book of medical physiology 8th ed. 754-764. *Saunders Co., Philadelphia*.
 28. Park, Y. H., Yoon, S. and Yoo, T. M. (2001) The effect of isoflavone Supplementation on Bone Metabolism in Ovariectomized SD rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**: 657-661.
 29. Kim, I. G., Kim, S. B., Kim, J. G. and Kim, K. C. (1993) Serum enzymes as indicators of radiation exposure in rat. *J. the Korean academy of family medicine.* **18**: 37-44.
 30. Delmas, P. D. (1993) Biochemical markers of bone turnover. *J. Bone. Miner. Res. 8 Suppl.* **2**: 549-555.
 31. Johansen, J. S, Riis, B. J, Delmas, P. D. and Christiansen, C. (1988) Plasma BGP: anindicator of spontaneous bone loss and of the effect of estrogen treatment in postmenopausal women. *Eur. J. Clin. Invest.* **18**: 191-195.
 32. Slemenda, C, Hui, SL, Longcope, C and Johnston, C. C. (1987) Sex steroids and bone mass: a study of changes about the time of menopause. *J. Clin. Invest.* **80**: 1261-1269.
 33. Lee, J. W., Kim, H. J., Jhee, O. H., Won, H. D., Yu, Y. G., Lee, M. H., Kim, T. W., Om, A. S. and Kang, J. S. (2005) Effects of alternative medicine extract on bone mineral density, bone strength and biochemical markers of bone metabolism in ovariectomized rats. *Kor. J. Food and Nutr.* **18**: 72-80.
 34. Kim, B. W., Lee, Y. B., Park, J. S., Park, J. W. and Hwang, S. Y. (2013) The Effect of Red Ginseng Extracts on Blood Biochemical Parameters, Bone Density and Bone Inorganic Components in Ovariectomized Rats. *The Journal of Digital Policy & Management.* **11**: 493-505.

(2015. 5. 20 접수; 2015. 6. 15 심사; 2015. 6. 24 게재확정)