

유색미의 항산화기능 및 신물질 oryzafuran과 allantoin의 추출분리

한국방송통신대학교 : 한상준

Antioxidant Activity of Colored Rice and Identification of New Substances, Oryzafuran and Allantoin

Sangjun Han

Korea National Open University

1. 서 언

우리나라에서 연간 생산되는 쌀은 2004년도 기준 약 4,451 천톤 수준에서 유지되고 있으나 1인당 연간 소비량은 1980년의 132.4 kg 에서 2003년 81.8 kg 수준으로 20년 동안 50.6 kg 이나 감소하였다. 이는 국민 식생활 패턴이 다양해졌음을 의미한다고 하겠다. 한편 최근에 이는 웰빙 열풍은 시장에서 기능성 농산물에 대한 요구를 증대시켰고 또한 이에 상응하는 다양한 브랜드 농산물이 등장하는 계기가 되기도 하였다. 쌀의 경우 밥맛을 증진시키기 위한 저아밀로스 함유 쌀, 당도를 높인 당질미, 향기 성분을 강화한 향미 등을 비롯하여 연질미, 분상질미 등이 그 예이다. 그러나 쌀의 주목적(1차 기능) 이외의 각종 질병의 예방 및 치료에 효과적인(3차 기능) 성분을 다량 함유하고 있는 쌀의 개발은 아직도 미미한 수준이다. 따라서 본고를 통해 쌀이 가지고 있는 여러 기능성 성분들에 관한 연구 결과를 제시하여 쌀의 기능성을 부각시키고 산업적 이용을 촉진하여 국민보건 향상에 기여하고 나아가 농가소득 증대에 기반이 되어 갈수록 축소되는 농경지 면적을 유지할 수 있는 계기가 되기를 기대한다

2. 식물의 항산화 물질

체내에서 항산화 기능은 매우 중요하다. Superoxide anion (O_2^-)이나 hydroxyl radical(OH^\cdot)같은 활성산소종은 어느 면에서는 필수적인 방어수단이 될 수 있으나, 때로는 조직손상과 염증, 노화, 암, 동맥경화, 고혈압 및 당뇨병 같은 질병을 유발할 수도 있다. 한편 이와 같은 산화기작에 대응하는 superoxide dismutase (SOD)나 catalase (CAT)등의 효소적인 방법과, 비타민 C, α -tocopherol, β -carotene, glutathione, flavonoid 등의 비효소적인 방법의 항산화기작이 잘 알려져 있다. 식품 분야에서도 지질의 과산화물은 식품의 가치를 떨어뜨리는 주원인으로 이를 방지하기 위해 산화억제제를 사용하고 있으며, 가장 널리 사용되고 있는 것은BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butyllated hydroxytoluene), PG (propyl gallate), 및 TBHQ (tert-butyl hydroquinone) 등이다. 그러나 이들 대부분의 합성제제가 암을 유발할 가능성이 제기됨에 따라 (Madavi and Salunkhe, 1995) 인체에 무해한 천연의 대체 항산화제를 찾기 위한 노력이 광범위하게 진행되고 있다.

연락처 : 한상준

E-mail : sjhan00@snu.ac.kr

전화 : 02-3668-4630

식물계에는 이러한 기능을 충족시켜줄 만한 대체 항산화제가 광범위하게 분포하고 있는데, 그 대표적인 예가 catechin, flavonoid, anthocyanin 등과 같은 페놀성 화합물이다. 녹차의 경우 이와 같은 페놀성 화합물이 건물의 약 30% 수준으로 함유되어 있다 (Lin et al., 1998).

3. 유색미의 항산화기능

현미에는 α , β , γ , δ 토코페롤과 토코트리엔올 등의 비타민 E, 식물성스테롤과 γ -오리자놀, 안토시아닌을 비롯한 각종 페놀성 화합물들이 함유되어 있다. 이들은 모두 강력한 항산화 능력으로 유명한 화합물들이다. 현미 추출물에 대한 항산화 기능을 FTC, 환원력, 그리고 DPPH 라디칼 소거능력 등을 통해 평가한 결과 일품벼 및 추청벼와 같은 일반백미와 흑진주벼, 흑향찰벼, 적진주벼와 같은 유색미 모두에서 순수한 α -토코페롤과 유사한 높은 항산화 능력을 관찰할 수 있었다. 그러나 환원력에서는 일반 백미의 추출물보다 유색미에서 더 우수한 능력이 관찰되었고, 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거능력에서도 같았다. 특히 유색미 품종에서도 적진주벼와 같은 적갈색미에 비해 흑진주벼와 같은 흑자색 유색미에서 더 높은 항산화 능력을 관찰할 수 있었는데, 이는 흑자색 유색미에 함유된 안토시아닌에 기인한다고 판단된다. 식물계에 널리 분포하는 안토시아닌은 강력한 기능의 천연항산화제로 알려져 있다 (Satue-Gracia et al., 1997; Wang et al., 1997).

4. 흑자색미의 안토시아닌 함량과 항산화기능

현재 쌀에서 확인된 안토시아닌은 cyanidin, peonidin, malvidin, pelargonidin, 그리고 delphinidin flavylium 이온과 이들의 배당체들로 (Cho et al., 1996; Choi and Oh, 1996; Nagai et al., 1960; Reddy et al., 1994; Ryu et al., 1998; Tsuda et al., 1994), 이들은 α -토코페롤과 유사한 수준의 항산화 능력을 지니고 있다 (Kahkonen and Heinonen, 2003). 쌀에서 안토시아닌은 흑자색 과피를 보이는 품종에서만 관찰되며, 이 때 안토시아닌은 과피 부분에 고농도로 집적되어 검정색의 과피 색깔을 띠게 된다. 국내에 수집된 유색미 유전자원의 안토시아닌 함량을 분석한 결과 cyanidin-3-glucoside (C3G)가 전체 안토시아닌 함량의 약 80% 수준으로 함유되었고, peonidin-3-glucoside가 5% 내외로 분포하고 있었으며, 기타 malvidin 이나 pelargonidin, 그리고 delphinidin 등은 매우 낮은 수준이었다. 또한 대부분의 품종에서 C3G의 함량이 현미 100 g 당 50 mg 미만이었으며, 200 mg 이상인 겨우는 6 품종에 지나지 않았다. P3G는 거의 대부분의 품종에서 현미 100 g 당 5 mg 미만의 함량을 보였으며 20 mg 이상인 것은 5 품종이었다. 이들 가운데 C3G 함량이 가장 높았던 품종은 흑진주벼로 현미 100 g 당 500 mg 수준이었다.

C3G 함량이 높은 쌀의 식품 안정성을 평가하기 위해 흑진주벼의 색소 분획을 이용해 급성독성을 ICR계 생쥐를 대상으로 14일간 경구 투여하여 평가한 결과 대상 쥐 모두에서 안전성이 입증되었다 (Ryu et al., 2000). 또한 평균체중 19.91 \pm 1.80 kg의 돼지 15두를 대상으로 C3G가 함유된 쌀겨를 급여하여 생리학적 이용성을 평가한 결과 일반쌀겨, C3G 함유 쌀겨를 각각 2%와 4%로 첨가한 처리구간 사양성적은 유의한 차이를 보이지 않았으나 콜레스테롤과 중성지방 함량이 C3G 쌀겨를 처리한 돼지에서 일반쌀겨를 처리한 돼지에 비해 낮은 것으로 관찰되었고, 특히 C3G 쌀겨를 4%로 처리한 처리구에서 가장 낮았

다. 항산화 능력의 지표라고 할 수 있는 GOP (glutamate oxaloacetate transaminase), GPT (glutamate pyruvate transaminase) 수준은 통계적으로 유의하지는 않았지만 C3G가 함유된 쌀겨를 먹인 처리구에서 낮은 수치를 보였다.

5. 흑자색미 안토시아닌 함량의 변이

흑자색미에 함유된 안토시아닌 함량은 유전적 특성 이외에도, 재배시기, 재배지역, 등숙기 기상환경 등의 영향을 크게 받는 것으로 확인되었다. 흑진주벼를 대상으로 안토시아닌 함량에 재배시기가 미치는 영향을 평가한 결과 4월 1일 파종한 처리구에서 C3G 함량은 471.5 (mg/100 g 현미) 수준이었고, 그 보다 20일 늦게 파종한 경우 (보통기 재배) 371.1 (mg/100 g 현미) 수준으로 약 100 mg 정도 낮았다. 그러나 5월 30일 이후에 파종한 경우는 540 (mg/100 g 현미) 이상으로 높게 조사되었다. 한편 다른 흑자색 품종인 수원 425호의 경우 5월 30일 파종의 경우에 307.3 (mg/100 g 현미)으로 가장 높았다. 한편 흑진주벼를 대상으로 등숙기의 주야간 온도 조건을 달리한 실험에서 주야간 온도차가 크고 야간의 온도가 낮은 경우 C3G 함량이 증가하였다. 또한 안토시아닌의 착색과 깊은 관련이 있는 것으로 알려진 ethephon [(2-chloroethyl)phosphonic acid] (Faragher and Brohier, 1984) 수용액을 흑진주벼를 대상으로 출수 후 일정 간격으로 벼 이상 전체에 처리한 결과 출수 후 18일 경에 처리한 경우 C3G 함량이 2~3배 증가하였다.

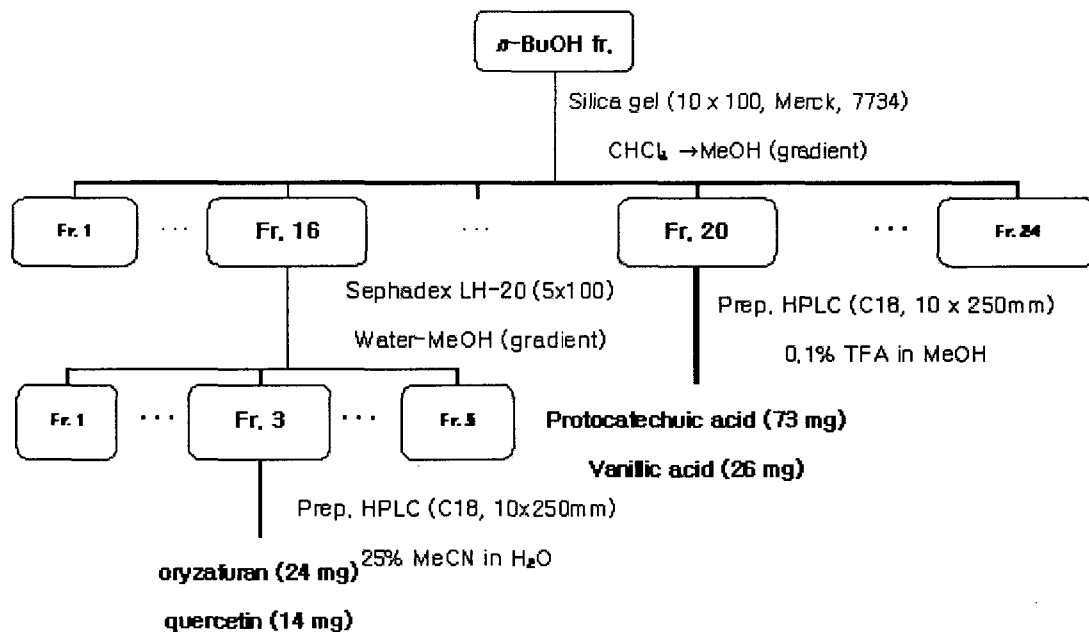


Fig. 1. isolation scheme of compounds from the BuOH fraction of Heugjinjubyeo.

6. 항산화 신물질 oryzafuran과 allantoin의 추출분리

흑진주벼 미강의 메탄올 추출물을 n-hexane, CH₂Cl₂, n-BuOH 순으로 분획한 후 n-BuOH 분획을 Fig. 1과 같은 방법으로 성분 분리를 수행하여 oryzafuran, quercetin, vanillic acid, 그리고 protocatechuic acid를 분리하고 그 구조를 확인하였다. 이 가운데 oryzafuran은 자연계

에서 처음으로 확인된 천연화합물이다.

n-BuOH 분획에서 분리된 페놀성 화합물들에 대한 항산화 능력을 수행한 결과 vanillic acid를 제외한 나머지 세 화합물에서 vitamin C보다 뛰어난 강한 활성을 확인하였다(Table 1).

적진주벼 미강의 메탄올 추출물을 n-hexane, CH₂Cl₂ 로 분획한 후 CH₂Cl₂ 분획으로부터 γ -oryzanol의 구성성분인 24-methylenecycloartanol ferulate와 알칼로이드의 일종인 allantoin을 분리 그 구조를 확인하였다. Allantoin은 마나 얀과 같은 식물에는 다량 함유되어 있으나 쌀에서는 처음으로 분리된 물질로 항산화 기능이 뛰어나고 피부질환에 탁월한 치료효과가 있어 고급 기능성 화장품의 원료로 사용되고 있다.

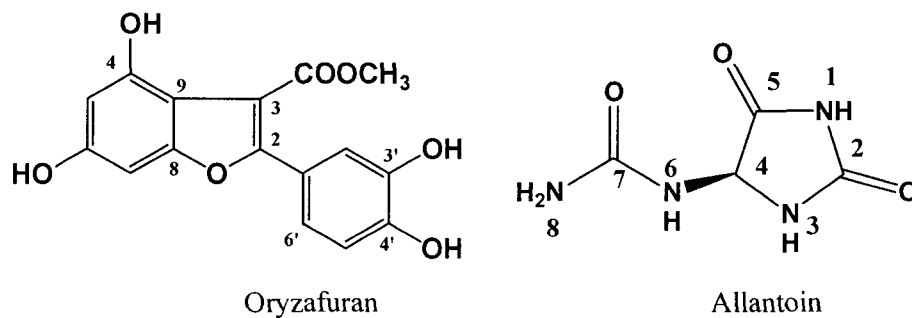


Fig. 2. Chemical structure of oryzafuran and allantoin

Table 1. DPPH free radical scavenging activity of compounds isolated from BuOH fraction of Heugjinjubyeo.

Compounds	EC50 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Oryzafuran	1.58 \pm 0.001
Quercetin	2.73 \pm 0.004
Protocatechuic acid	2.33 \pm 0.007
Vanillic acid	>20.00
Ascorbic acid	3.35 \pm 0.006

6. 적 요

질병의 예방, 노화억제, 돌연변이 억제 등 다양한 생리활성을 나타내는 안토시아닌 색소 C3G가 다량 함유되어 있는 흑자색 유색미의 성분연구를 수행한 결과 9가지의 천연화합물을 분리하였으며, 그 중 항산화 기능이 매우 뛰어난 페놀성 화합물 oryzafuran을 최초로 분리 그 구조를 확인하였다. 또한 allantoin과 같은 알칼로이드도 쌀에서는 처음으로 분리하였다. 이러한 결과를 통해 흑자색 유색미는 식용이상의 역할을 수행할 것으로 판단된다. 아울러 이러한 성분의 정량분석 방법과 합성과 관련된 메커니즘, 성분의 약리적 기능, 유전자원 평가 등 산업화를 위한 체계적인 연구가 수행되어야 할 것이며, 더 나아가 고 C3G, 저단백, 저알레그렌, 고불포화지방산 등과 같은 다기능성 유색미 품종을 육성 보급

함으로써 국민보건 및 농가소득에 크게 기여할 것으로 판단된다. 특히 이와 같은 성분이 주로 분포하는 미강은 도정과정을 통해 대부분 제거되기 때문에 회수하기가 용이하고, 따라서 부산물로 발생하는 흰쌀을 식품가공분야에서 이용할 수 있어 산업적으로 가치가 매우 높다고 판단된다.

인용문헌

- Cho, M.H., Y.S. Paik, H.H. Yoon, and T.R. Hahn. 1996. Chemical structure of the major color component from a Korean pigmented rice variety. *Agr. Chem. & Biotech.* 39:304-308.
- Choi, H.C., and S.K. Oh. 1996. Diversity and function of pigments in colored rice. *Korean J. Crop Sci* 41:1-9.
- Fragher, J.D., and R.L. Brohier. 1984. Anthocyanin accumulation in apple skin during ripening: regulation by ethylene and phenylalanine ammonia-lyase. *Sci. Hortic.* 22:89-96.
- Kahkonen, M.P., and M. Heinonen. 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:628-633.
- Lin, J.K., C.L. Lin, Y.C. Liang, S.Y. Lin-Shiau, and I.M. Juan. 1998. Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and blackteas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:3635-3642.
- Madavi, D.L., and D.K. Salunkhe. 1995. Toxicological aspects of food antioxidants, p. 267, *In*D. L. Madavi, et al., eds. *Food antioxidants*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Nagai, I., G. Suzushino, and Y. Tsuboki. 1960. Anthoxanthins and anthocyanins in *Oryzaceae*. I. *Japanese Journal of Breeding* 10:47-56.
- Reddy, V.S., K.V. Goud, R. Sharma, and A.R. Reddy. 1994. Ultraviolet-B-Responsive Anthocyanin Production in a Rice Cultivar Is Associated with a Specific Phase of Phenylalanine Ammonia-Lyase Biosynthesis. *Plant Physiology* 105:1059-1066.
- Ryu, S.N., S.Z. Park, and C.T. Ho. 1998. High performance liquid chromatographic determination of anthocyanin pigments in some varieties of black rice. *Journal of Food and Drug Analysis* 6:729-736.
- Ryu, S.N., S.Z. Park, S.S. Kang, E.B. Lee, and S.J. Han. 2000. Food safety of pigment in black rice cv. Heugjinjubyeo. *Korean J. Crop Sci.* 45:370-373.
- Satue-Gracia, M.T., M. Heinonen, and E.N. Frankel. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:3362-3367.
- Tsuda, T., M. Watanabe, K. Ohshima, S. Norinobu, S.W. Choi, S. Kawakishi, and T. Osawa. 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-b-D-glucoside and cyanidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42:2407-2410.
- Wang, H., G. Cao, and R.L. Prior. 1997. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:304-309.