

특수 유색미, 향류미 및 한국 재래종 벼 종자의 층위별 항산화 및 간보호 활성

곽태순 · 박희준[†] · 정원태* · 최종원**

상지대학교 생명자원과학대학

*일양약품 중앙연구소

**경성대학교 약학대학

Antioxidative and Hepatoprotective Activity of Coloured-, Scented and Korean Native Rice Varieties Based on Different Layers

Tae-Soon Kwak, Hee-Juhn Park[†], Won-Tae Jung* and Jong-Won Choi**

College of Life Science and Natural Resources, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

*Central Research Institute, Il-Pharm, Res., Yongin 449-900, Korea

**College of Pharmacy, Kyung-Sung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

Fifteen varieties of *Oryza sativa* mainly including those of Korean native rice were exactly cutted into three layers such as L₁ layer(the outer part of 92% from rice center), L₂ layer(the part of 81~91% from the rice center) and L₃ layer(the inner part of 80% from the rice center) We biologically evaluated the antioxidative effect on the every layer(L₁, L₂ and L₃) of all the varieties, by observing malondialdehyde (MDA) produced by galactosamine in the mouse. L₁ layer of some varieties showed significant antioxidative effect, while L₂- and L₃ layer didn't show the activity. It was also suggested that coloured rice(Suwon 425 and Sanggaehangbyeolna) showed stronger activity than other general rices, probably due to high contents of anthocyanins. Successively, we evaluated antihepatotoxic effect, based on the determination of serum ALT- and AST activity. Some varieties of only L₁ layer, except for L₂ and L₃ layer, significantly decreased the serum ALT- and AST activity. This finding indicate that oral diet of some raw rice are able to protect hepatotoxicities. Among all the samples tested, L₁ layer of Suwon 425 showed the strongest antihepatotoxic effect. From quantitative analysis on ferulic acid derivatives, it was found that the more it enters from the surface into the rice center, the more those secondary metabolites contents were highly reduced. These findings above suggested that Suwon 425 could be a promising candidate for the development of health rice food.

Key words: Korean native rice, Suwon 425, antihepatotoxic, ferulic acid

서 론

쌀은 동양인의 가장 중요한 식량자원으로 생체 에너지의 대부분을 차지하고 있다. 그래서, 쌀은 한국에서도 경작지의 가장 넓은 부분을 차지하고 있으며 과거로부터 이의 생산량에 가장 큰 관심이 있었던 것으로 볼 수 있다. 그러나, 최근에는 쌀의 농업적 생산량만을 도모할 것이 아니라 이의 식품학적 가치 및 이차 대사산물을 활용한 건강미의 개발을 추진할 때가 왔다고 하겠다. 생체내에서 중요한 세포막 구성성분으로 되어 있는

다가 불포화 지방산은 환경 및 생체내의 산소의 존재에 의해서 자동산화라고 하는 라디칼 연쇄반응에 의하여 다종다양한 과산화지질 및 산화분해물을 생성하는 것으로 알려지고 있다. 식품 중에서 생성하는 과산화지질은 식품의 영양가 및 기호성에 영향을 미칠 뿐 아니라 급성 및 만성 독성의 원인이 되고 있다. 한편, 과산화지질은 체내에서도 생성되는 것으로 알려져 있어서 세포의 기능저하 및 동맥경화 및 간질환 등의 원인이 되거나 프로스타글란딘 생합성 및 약물대사에 의한 생리작용 등의 많은 문제에 관여한다.

[†]To whom all correspondence should be addressed

이와 같은 배경으로부터 최근에 특히 주목받고 있는 것이 식품 중의 항산화 성분이다. 많은 연구에 의하면 산소와 태양광의 환경으로부터 진화의 과정에 따라 항산화적 방어기구를 획득하여 왔다고 보고 있다. 특히, 불포화 지방산을 다량 함유하는 종자 및 곡류, 두류 등의 식물종자는 종의 보존을 위하여 산화적 스트레스(oxidative stress)에 대한 방어작용이 강한 물질을 함유하고 있다고 생각되고 있다. 그러므로, 주곡이 되는 쌀의 항산화 성분의 함량을 검토하는 것은 건강미 품종개발에 중요한 자료가 되리라 본다.

쌀에서 얻어지는 미강유 중 triterpene alcohol과 sterol의 ferulic acid ester를 γ -oryzanol이라고 하며 γ -Oryzanol의 구성 triterpene은 cycloartenol, 24-methylcycloartanol, cycloartanol, 24-methylenecycloartanol 등이고, 구성 sterol은 cholesterol, trimethylsterol, dihydro- γ -sitosterol, dihydro- β -sitosterol, β -sitosterol, campesterol 및 stigmasterol 등이다(1). 그러나, γ -oryzanol의 주된 구성 triterpene 및 sterol은 campesterol (16%), β -sitosterol(7%), cycloartenol(30%), 24-methylenecycloartenol(23%)과 cycloartenol로 구성된다(2). 그 외에 미강유 중에는 triglyceride, diglyceride, monoglyceride, 유리 지방산(palmitic acid가 50%), squalene, ferulic acid, sterol, 고급지방산 알코올, 탄화수소, 인지질, lipoprotein, vitamin B₁₅, B₁, E 등이 함유되어 있다(1). Ozaki(3)은 유색미에 함유된 안토시아닌 색소인 cyanidin-3-O- β -D-glucoside 성분을 동정하고 이 화합물이 산화적 스트레스에 대한 방어작용을 나타내어 종자의 보존성을 증가시킨다고 보고한 바 있다. 이 화합물 이외에 유색미로부터 pelargonidin-3-O- β -D-glucoside, delphinidin-3-O- β -D-glucoside 등의 색소 화합물도 동정된 바 있다(4). Tanchotikul과 Hsieh(5)는 향미로부터 팝콘향을 나타내는 2-acetyl-1-pyrroline 성분의 정량법을 high-resolution/mass spectrometry/selected ion monitoring 방법으로 체계화 하였다.

본 연구에서 감손상 유도약물로 사용된 galactosamine은 galactose 대사장해를 UTP, UDP 및 UMP 등의 농도 감소로 RNA의 합성이 저해되어 지질의 축적을 유도하고, 또한 세포막 성분 중 탄수화물의 조성과 세포내 Ca⁺⁺ 농도를 변화시켜 간조직의 손상을 유도한다고 알려져 있으며 galactosamine의 급성중독시에는 간괴사, 만성중독시에는 간경변과 세포성 종양이 일어나게 된다.

일반적으로 생체조직의 세포막의 손상은 세포막 구성성분인 polyunsaturated fatty acid의 과산화가 그 한 가지 요인으로 지적되고 있는데, 지질과산화의 생체 외적인 요인 뿐만 아니라 내적인 요인에 의하여 생성된

oxygen free radical들 때문에 야기되며, 세포의 성분이나 기질, 특히 불포화지방산이 다량 존재하는 생체막에 연쇄적인 과산화적 손상을 입힌다. 또한, 생체는 free radical의 독작용을 저지시켜 주는 free radical scavenging system 사이의 불균형이 초래되어질 때에는 조직의 손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같이 여러 가지 독작용이 유발된다고 한다.

이에 본 연구에서는 한국 재래종 벼 품종의 부위에 따른 항산화활성을 측정할 목적으로 galactosamine을 투여하여 질병의 모델을 만든 생쥐에 시료를 투여하여 간조직 중의 지질과산화 함량을 검색하였다. 그리고, galactosamine으로 유도된 지질과산화를 억제하는 효과를 측정하는 것은 *in vivo*에서 항산화활성을 측정하는 것으로서 다양한 성인병을 예방하는 것과 관련된 것이라 할 수 있지만 본 연구에서는 추가적으로 보다 직접적으로 간장의 손상을 예방하는 효과를 실험하고자 하였다.

실제로 γ -oryzanol은 쌀에 존재하는 ferulic ester 화합물로서 항산화활성(6)과 혈청지질저하효과(7,8)가 알려져 있다. 그러나, 저자들은 토코페롤과 같은 다른 화합물에 의해서도 활성이 나타나리라 보았기 때문에 생물학적 방법에 의한 건강미의 개발을 위한 품종선택이 필요하리라 보았다.

이에 본 연구에서는 한국인이 주식으로 하고 있는 쌀의 항산화효과를 측정하기 위한 목적으로 재래종 15 품종 벼의 도정부위별 ferulic acid의 함량을 측정함과 동시에 galactosamine으로 유도된 모델 쥐에 대한 항산화효과와 간보호효과를 측정하였다.

재료 및 방법

식물재료

재래종벼 및 유색향류미 등 15품종의 현미를 사용하여 L₁, L₂, L₃층으로 나누어서 총 45종의 시료를 확보하였다. L₁층은 쌀의 중심으로부터 92%까지 도정된 외층부이고 L₂층은 81~91%의 층이며 L₃층은 80% 이하의 층이다.

추출

미강 3g씩을 화학천평에서 정밀히 평량하여 100ml의 메타놀과 함께 삼각플라스크에 넣은 다음 온도를 60°C로 고정하여 초음파로 5시간씩 1회 추출하였다.

Ferulic acid 유사체의 함량측정

추출한 여액을 4배로 희석시키고 고정된 파장 323

nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고, 검량선 작성을 위하여 먼저 ferulic acid 10mg을 정밀히 취하여 100ml의 메탄올에 녹였다. 이를 순차적으로 희석하여 각각 2배, 4배, 8배, 16배 및 32배 희석용액을 제조하였다. 여기서, 8배 희석액, 16배 희석액 및 16배 희석액의 UV spectrum(200~400nm)을 기록하였을 뿐만 아니라 323nm에서 흡광도 값을 읽은 결과 1.548, 0.771 및 0.381의 값을 나타내었다. 이로부터 회귀직선방정식을 구한 결과 $Y=80.31 \times ABS + 0.65$ 의 식을 나타내었다. Y는 희석액 중의 농도를 나타내며 단위는 $\mu\text{g/ml}$ 이다.

식물재료 중 ferulic acid 유사체를 ferulic acid로 환산했을 때의 함량(X)을 다음 식에 따라 계산하였다.

$$X(\text{mg/g}) = Y \times 100 \times 4 \times 1/1000 \times 1/3 = 0.133 \times Y$$

유색미의 안토시아닌의 함량 측정

흑미인 12번과 13번의 L₁, L₂ 및 L₃를 대상으로 하였다. 유색미는 안토시아닌을 함유하므로 중성의 메탄올에는 잘 추출되지 않으므로 시료 0.5g을 1%-HCl성 MeOH 20ml에 가하여 50°C로 온도를 고정하고 초음파로 추출하였다. 이를 여과한 다음 1%-HCl성 MeOH로 20배 희석시키고 UV spectrophotometer로 200~600nm에서 scanning하였다. 또, 고정된 파장 529nm에서 측정하였다.

유색미의 안토시아닌 성분의 검량선 작성을 위하여 흑미로부터 Whatmann 3MM의 paper를 사용하여 PPC를 행하였고 cyanidin-3-O-β-D-glucoside를 분리하였다. 이 화합물의 75.0 $\mu\text{g/ml}$, 37.5 $\mu\text{g/ml}$ 및 18.8 $\mu\text{g/ml}$ 용액을 제조하고 흡광도를 측정하여 각각 1.566, 0.791 및 0.406의 값을 얻었다. 이의 회귀직선 방정식을 구하면 $Y(\mu\text{g/ml}) = 48.39 \times ABS + 0.01$ 의 식이 얻어진다. 여기서 Y는 용액 중 안토시아닌의 농도이다.

유색미 중 안토시아닌의 함량계산을 위하여 식물재료 중 cyanidin-3-O-β-D-glucoside의 함량(X)를 다음 식에 따라 계산하였다.

$$X(\text{mg/g}) = 1/1,000 \times 400 \times Y = 0.4 \times Y$$

실험동물

대한실험동물센터에서 구입한 20±1g의 ICR계 mouse를 최소한 일주일 이상 경성대학교 동물사에서 일정한 조건(온도: 22±1°C, 습도: 55±5%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

시료투여 및 간독성의 유발

간독성 유발은 galactosamine(Sigma, 400mg/kg)을

복강 내에 투여하였고, 1주일 후부터 5일간 시료(250mg/kg, 500mg/kg)을 needle jonde를 사용하여 경구 투여하였다.

간조직 중 지질과산화의 함량측정

간조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 가해 마쇄하였다. 이 마쇄액에 동일한 buffer를 동량 가하여 3시간 preincubation시킨 후 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 이를 실온에서 냉각 후에 n-BuOH : pyridine(15 : 1)을 첨가하여 15분간 원심분리하여 생성된 홍색의 n-BuOH : pyridine 층을 취하여 파장 532nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간조직 1g당 malodialdehyde(MDA) nmole로 표시하였다.

혈청-ALT 및 AST 측정

실험동물을 CO₂ 가스로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하였다. 이 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 생화학적 검사를 하였다. Reitman과 Frankel 방법(9)에 준하여 kit(아산제약)를 사용하여 alanine transaminase(100ml 당 DL-alanine 1,780mg 및 α-ketoglutaric acid 29.2mg 함유), aspartate transaminase(100ml 당 L-aspartic acid 2,660mg 및 α-ketoglutaric acid 29.2mg 함유) 기질액 1.0ml를 37°C에서 5분간 preincubation시킨 후 혈청 0.2ml를 넣어 37°C에서 alanine transaminase는 30분, aspartate transaminase는 60분 반응시킨 후 정색시액(2,4-dinitrophenylhydrazine, 19.8mg/100ml) 1.0ml를 첨가하고 0.4N-NaOH 용액 1.0ml를 가하여 혼합한 후 10분간 실온에서 방치하고 파장 505nm에서 흡광도를 측정하여 활성도를 표준 검량선에 준하여 1ml당 Karman unit로 표시하였다.

결과 및 고찰

항산화활성 혹은 지질과산화의 중요한 지표가 되는 MDA(malodialdehyde)의 함량을 galactosamine(GalN)을 중독시킨 mouse에서 측정하였다. 그 결과, Table 1에서 나타내었듯이 항산화물질의 함량이 낮은 L₂, L₃층에서는 유의성 있는 활성이 나타나지 않았다. 그러나, L₁층에서는 몇 품종에서 활성이 나타남을 알 수 있었으므로 건강미로서는 최외각 층의 도정은 가장 세심하게 주의해야 할 부분이라고 생각된다.

Table 1. Effect of L₁, L₂ and L₃ layers on the hepatic lipid peroxidation content in galactosamine-treated rats

Group	Dose(mg/kg)	MDA content (nmole/g of tissue)		
		L ₁	L ₂	L ₃
Control	-	22.9±2.69 ^{2(a3)}	22.9±2.69 ^b	22.9±2.69 ^b
GalN ¹⁾	400	52.9±2.23 ^b	52.9±2.23 ^b	52.9±2.23 ^b
Seogsando	250	52.2±1.43 ^b	52.8±2.30 ^b	52.8±1.57 ^b
	500	53.8±0.95 ^b	52.7±3.15 ^b	53.0±2.31 ^b
Sanjo	250	53.1±2.26 ^b	53.1±2.31 ^b	52.4±3.05 ^b
	500	53.4±1.00 ^b	53.0±1.84 ^b	53.1±1.79 ^b
Daisolbyeo	250	53.0±1.80 ^b	53.5±2.05 ^b	53.1±2.18 ^b
	500	53.4±1.00 ^b	53.0±3.19 ^b	53.0±2.66 ^b
Pyeongyangdo	250	53.3±3.16 ^b	53.4±1.20 ^b	53.2±1.79 ^b
	500	54.1±3.45 ^b	53.1±2.59 ^b	53.0±1.51 ^b
Obaegjo	250	53.5±2.24 ^b	52.7±2.98 ^b	52.5±2.86 ^b
	500	45.4±1.98 ^c	53.0±1.46 ^b	52.8±3.34 ^b
Olwaedo	250	53.5±2.84 ^b	53.0±1.31 ^b	53.1±1.82 ^b
	500	45.4±0.82 ^c	53.2±2.74 ^b	52.9±2.47 ^b
Jojeongdo	250	53.4±2.67 ^b	52.6±2.35 ^b	52.9±2.36 ^b
	500	40.6±1.39 ^e	52.2±2.65 ^b	53.0±1.63 ^b
Yuweoldo	250	54.4±1.80 ^b	52.4±2.52 ^b	52.5±3.19 ^b
	500	53.8±3.55 ^b	52.9±2.61 ^b	52.9±2.81 ^b
Hyangmibyeo	250	52.9±2.41 ^b	52.7±2.54 ^b	52.8±2.41 ^b
	500	45.7±1.34 ^c	52.6±2.51 ^b	53.0±1.53 ^b
Miyagari	250	53.6±1.25 ^b	52.9±2.61 ^b	52.8±1.50 ^b
	500	52.8±2.65 ^b	53.2±1.70 ^b	52.7±2.33 ^b
IR 841-76-1	250	40.3±1.04 ^{d,e}	52.3±2.76 ^b	52.7±2.22 ^b
	500	35.2±2.05 ^f	53.1±2.08 ^b	52.4±2.67 ^b
Suwon 425	250	38.6±1.10 ^{e,f}	52.5±3.72 ^b	52.7±1.60 ^b
	500	30.9±2.31 ^f	53.3±1.75 ^b	53.1±1.62 ^b
Sanghaehyangbyeol	250	52.8±1.68 ^b	52.9±1.65 ^b	52.5±3.32 ^b
	500	43.1±1.93 ^{c,d}	53.2±1.86 ^b	52.7±3.20 ^b
Nonglimna 1	250	52.8±2.36 ^b	52.9±2.32 ^b	53.0±1.57 ^b
	500	53.7±2.39 ^b	52.8±2.24 ^b	53.6±1.19 ^b
Hwasunchalbyeo	250	53.0±2.94 ^b	52.7±3.34 ^b	52.6±3.11 ^b
	500	53.4±0.90 ^b	52.9±3.65 ^b	52.6±2.02 ^b

¹⁾Galactosamine(400mg/kg) was intraperitoneally injected once at the day of the first week, and sample were orally administered once a day for five days.

²⁾Data were presented as mean±S.D.(n=5).

³⁾Values having the same superscript are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's new multiple range test.

생리활성 화합물의 함유 부위를 측정하기 위하여 쌀을 층위별로 나누었는데 쌀의 중심으로부터 92% 이상의 층을 L₁층이라 하였고 81~91% 사이의 층을 L₂층이라 하였고 80% 이하의 층을 L₃층이라 하였다.

Table 1에서 표현한대로 오백조, 올왜도, 조정도, 상해향혈나의 시료는 250mg/kg의 용량에서는 효과가 없었으나 500mg/kg의 투여에서는 유의성있는 항산화효과를 나타내었다. IR 841-76-1과 수원 425호의 sample은 250mg/kg 및 500mg/kg의 투여에서 좋은 활성을 나타내었다. 그러므로, 이 실험에서 유색미는 일반미보다 강한 항산화 효과를 보여주었다.

일반미를 포함하여 유색미 등 모든 쌀에 있어서 성인병과 관련한 노화방지 식품으로 사용할 때에는 항산화작용 등을 일으키는 중요한 생리활성물질이 쌀 종자

의 표면에 집중적으로 존재하므로 완전 현미식이는 도정미와는 분명히 식품영양학적으로 다른 의미를 지닌다는 것을 인식해야 할 것이다.

본 연구에서는 미질에 대한 생물학적 평가로서 쌀의 항산화물질에 의한 항산화작용 이외에도 보다 구체적으로 산화성 물질에 의한 간보호작용을 혈청 ALT 및 AST 수준(이를 GOT 및 GPT라고도 함)을 지표로 측정하였다.

먼저, Table 2에 L₁, L₂ 및 L₃층을 식이한 흰쥐를 galactosamine으로 중독시켰을 때의 혈청 ALT치를 나타내었는데 L₂, L₃층에서는 전혀 활성이 인정되지 않는 것을 볼 수 있다. 그러나, L₁층에서는 활성이 나타나는 품종들을 볼 수 있다. 즉, 500mg/kg 투여군에서 효과를 나타낸 것은 오백조, 올왜도, 조정도, 향미벼, IR

Table 2. Effect of L₁, L₂ and L₃ layer of Korean native rice on the serum ALT in galactosamine-treated rats

Group	Dose(mg/kg)	Karmen unit/ml of serum		
		L ₁	L ₂	L ₃
Control	-	35.3±1.03 ^{2)a3)}	35.3±1.03 ^a	35.3±1.03 ^a
GalN ¹⁾	400	67.9±1.40 ^b	67.9±1.03 ^b	67.9±2.40 ^b
Seogsando	250	67.3±1.45 ^b	68.5±1.45 ^b	68.5±2.44 ^b
	500	58.9±2.19 ^b	68.3±1.63 ^b	68.4±1.39 ^b
Sanjo	250	68.5±1.64 ^b	68.8±2.87 ^b	68.2±2.58 ^b
	500	68.2±2.17 ^b	68.0±1.54 ^b	67.7±1.44 ^b
Daisolbyeo	250	68.7±2.06 ^b	68.2±2.00 ^b	68.6±2.65 ^b
	500	66.7±1.99 ^b	67.6±1.72 ^b	67.6±1.55 ^b
Pyeongyangdo	250	68.6±2.42 ^b	68.5±1.82 ^b	68.3±1.64 ^b
	500	68.3±2.03 ^b	68.3±2.99 ^b	67.3±1.70 ^b
Obaegjo	250	68.9±2.18 ^b	68.9±1.30 ^b	68.8±2.46 ^b
	500	56.0±1.82 ^c	55.7±2.51 ^b	66.3±1.52 ^b
Olwaedo	250	68.2±1.53 ^b	67.4±2.60 ^b	69.0±1.57 ^b
	500	55.6±1.12 ^c	67.2±1.63 ^b	68.2±1.55 ^b
Jojeongdo	250	67.1±1.67 ^b	68.3±1.70 ^b	68.6±1.18 ^b
	500	49.2±1.78 ^d	67.1±3.01 ^b	67.9±1.73 ^b
Yuweoldo	250	65.5±2.53 ^b	67.8±2.16 ^b	68.8±1.80 ^b
	500	69.0±2.77 ^b	68.3±1.87 ^b	68.3±2.72 ^b
Hangmibyeo	250	69.7±2.21 ^b	68.6±1.54 ^b	68.2±1.69 ^b
	500	55.4±1.81 ^c	68.2±2.47 ^b	67.1±1.56 ^b
Miyagari	250	68.6±1.63 ^b	68.5±1.45 ^b	68.0±1.55 ^b
	500	67.8±2.62 ^b	67.9±1.96 ^b	67.0±2.54 ^b
IR 841-76-1	250	49.4±1.43 ^d	68.8±1.73 ^b	67.4±1.64 ^b
	500	43.4±2.10 ^c	68.3±2.77 ^b	67.2±1.32 ^b
Suwon 425	250	47.4±1.94 ^d	68.4±1.55 ^b	68.5±1.52 ^b
	500	40.4±1.37 ^e	68.2±1.56 ^b	67.9±1.69 ^b
Sanghaehangbyeolna	250	69.8±1.69 ^b	68.8±2.72 ^b	68.3±2.74 ^b
	500	53.0±2.04 ^c	68.0±1.73 ^b	67.7±1.68 ^b
Nonglimna 1	250	67.6±1.54 ^b	68.2±1.87 ^b	68.4±1.63 ^b
	500	67.9±1.61 ^b	67.1±2.75 ^b	67.8±1.80 ^b
Hwasunchalbyeo	250	68.8±1.62 ^b	67.7±2.00 ^b	68.6±1.69 ^b
	500	68.3±1.70 ^b	67.1±2.98 ^b	68.2±2.72 ^b

¹⁾Galactosamine(400mg/kg) was intraperitoneally injected once at the day of the first week, and sample were orally administered once a day for five days.

²⁾Data were presented as mean±S.D.(n=5).

³⁾Values having the same superscript are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's new multiple range test.

841-76-1, 수원 425호 및 상해향혈나이었다 그 중 수원 425호 품종이 가장 강한 활성을 나타내었다. 수원 425호 품종은 500mg/kg 투여군은 혈청 ALT치가 약 84.4% 정도 감소되었다. 250mg/kg 투여로 효과를 나타낸 품종은 수원 425호와 상해향혈나 품종이었으며 상해향혈나 품종이 수원 425호 품종보다 효과가 낮게 나타났다. 수원 425호 품종은 250mg/kg 투여군에서 혈청 ALT치를 약 63% 정도 감소시켰다. 또, Table 3에서 L₁, L₂ 및 L₃층을 식이한 흰쥐를 galactosamine으로 중독시켰을 때의 혈청 AST치를 나타내었는데 L₂ 및 L₃층에서는 전혀 활성이 인정되지 않은 반면 L₁층에서는 몇몇 품종이 활성을 나타내었다. 먼저 500mg/kg 투여군에서 효과를 나타낸 품종은 오백조, 올왜도, 조정도, 향미벼 1호, 수원 425호, 상해향혈나, 농림나 1호이었다.

이 중 가장 큰 효과를 나타낸 품종은 수원 425호로서 혈청 AST치의 억제율이 약 71.5% 정도이었다. 250mg/kg 투여로 효과를 나타낸 품종은 수원 425호와 상해향혈나 품종 뿐이었으며 이 중 상해향혈나 품종이 더 나은 효과를 나타내었는데 수원 425호의 억제율은 52% 정도이었다. 이와 같은 전반적인 결과는 안토시아닌의 함유하는 유색미가 다른 향미벼나 기타 한국재래종 쌀에 비하여 항산화활성이 현저히 우수하게 나타나는 것은 본 연구 결과 얻은 중요한 결과 중의 하나이다. 또, 주로 오백조, 올왜도, 조정도와 같이 조생종이 만생종에 비하여 생리활성이 크게 나타나는 것은 농업적인 견지에서 좀더 연구해 볼 가치가 있는 것으로 생각되었다.

이상과 같이 쌀의 미강은 생체에서 지질의 과산화를 억제하는 항산화성을 나타낼 뿐만 아니라 이의 활성에

Table 3. Effect of L₁, L₂ and L₃ layer of Korean native rice on the serum AST in galactosamine-treated rats

Group	Dose(mg/kg)	Karmen unit/ml of serum		
		L ₁	L ₂	L ₃
Control	-	51.6±3.21 ^{2)a3)}	51.6±3.21 ^a	51.6±3.21 ^a
GalN ¹⁾	400	111.2±4.26 ^b	111.1±4.26 ^b	111.2±4.26 ^b
Seogsando	250	110.7±3.78 ^b	111.7±4.11 ^b	110.9±3.16 ^b
	500	109.4±4.01 ^b	110.9±3.98 ^b	109.8±4.04 ^b
Sanjo	250	112.1±3.94 ^b	111.9±4.21 ^b	111.5±2.06 ^b
	500	113.6±2.86 ^b	110.2±3.59 ^b	110.7±3.44 ^b
Daisolbyeo	250	111.8±4.29 ^b	110.8±3.49 ^b	111.9±4.20 ^b
	500	110.2±3.27 ^b	109.5±2.58 ^b	110.9±2.74 ^b
Pyeongyangdo	250	111.4±3.10 ^b	111.9±3.29 ^b	110.8±4.14 ^b
	500	109.8±2.87 ^b	110.2±4.01 ^b	109.9±3.29 ^b
Obaegjo	250	109.7±2.42 ^b	112.3±3.66 ^b	111.7±2.58 ^b
	500	92.8±2.18 ^c	110.8±2.78 ^b	109.8±3.51 ^b
Olwaedo	250	111.6±3.74 ^b	112.5±3.54 ^b	112.5±4.65 ^b
	500	92.3±2.89 ^c	110.2±4.05 ^b	109.7±2.69 ^b
Jojeongdo	250	109.6±2.87 ^b	111.5±4.10 ^b	110.8±4.64 ^b
	500	84.2±2.37 ^{d,e}	110.7±3.86 ^b	109.1±3.60 ^b
Yuweoldo	250	111.6±3.14 ^b	111.9±4.26 ^b	111.5±4.06 ^b
	500	110.8±4.02 ^b	110.8±3.57 ^b	110.4±3.20 ^b
Hangmibyeo	250	112.4±3.84 ^b	112.2±3.29 ^b	112.1±4.21 ^b
	500	91.2±2.05 ^c	110.5±3.11 ^b	109.8±2.74 ^b
Miyagari	250	112.5±2.89 ^b	112.7±4.21 ^b	111.4±2.89 ^b
	500	110.7±3.09 ^b	110.6±2.40 ^b	110.7±2.86 ^b
IR 841-76-1	250	84.4±2.72 ^{d,e}	111.8±3.27 ^b	111.3±4.36 ^b
	500	74.1±2.76 ^f	109.5±3.44 ^b	110.1±3.66 ^b
Suwon 425	250	80.2±2.63 ^c	112.5±3.66 ^b	112.2±4.12 ^b
	500	68.6±2.71 ^f	109.9±3.81 ^b	109.9±2.64 ^b
Sanghaehangbyeolna	250	111.7±4.04 ^b	110.5±2.36 ^b	110.4±3.72 ^b
	500	89.3±2.64 ^d	109.3±3.58 ^b	111.5±4.09 ^b
Nonglimna 1	250	110.5±3.66 ^b	111.3±4.15 ^b	112.3±3.54 ^b
	500	110.8±2.97 ^b	110.2±4.01 ^b	110.4±2.58 ^b
Hwasunchalbyeo	250	111.5±2.75 ^b	110.5±3.28 ^b	112.7±3.86 ^b
	500	110.7±3.09 ^b	109.1±4.11 ^b	109.4±2.94 ^b

¹⁾Galactosamine(400mg/kg) was intraperitoneally injected once at the day of the first week, and sample were orally administered once a day for five days.

²⁾Data were presented as mean±S.D.(n=5).

³⁾Values having the same superscript are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's new multiple range test.

기인한 간보호작용을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 그 활성은 쌀의 품종에 따라 큰 차이를 나타내었다. 또, 생체에서 생리활성은 쌀의 표면층에서 현저히 관찰될 뿐 아주 내층인 L₂ 및 L₃층에서는 본 실험 중에서는 전혀 관찰되지 않음으로써 현미식의 유효성을 입증하고 있다고 하겠다. 이와 같은 쌀의 층위별로 생리활성을 추적한 것은 본 연구가 처음이다.

Ferulic acid 유사체의 함량 비율을 15 전체 품종에 대하여 층별로 고려하여 평균치를 계산하면 L₂층은 L₁층에 비하여 38.9% 정도의 수준이고 L₃층은 L₁층에 비하여 8.5% 정도의 수준으로 함유되어 있는 것으로 나타났다. 즉, 이들 성분이 내층으로 갈수록 급속히 감소하는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 경향을 Fig. 1에 나타내었다. 또, 일반적으로 쌀의 표면으로부터 깊이가

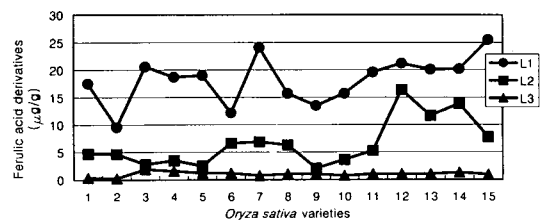


Fig. 1. Contents of ferulic acid derivatives in L₁, L₂ and L₃ layer of *Oryza sativa*.

Oryza sativa varieties: 1(Seogsando), 2(Sanjo), 3(Da-isobyeeo), 4(Pyeongyangdo), 5(Obaegjo), 6(Olwaedo), 7(Jojeongdo), 8(Yuweoldo), 9(Hyangmibyeo), 10(Miyangari), 11(IR 841-76-1), 12(Suwon 425), 13(Sanghaehyanghyeolna), 14(Nonglimna 1), 15(Hwasunchalbyeo)

20% 이상 도정되면 항산화물질이 극소량만 남는다는

Table 4. Anthocyanin content in the every layer of colored rice

Sample No.	Suwon 425			Sanggaehangbyeolna		
	Layer	ABS	Y ¹⁾ (µg/ml)	anthocyanin (mg/g)	ABS	Y(µg/ml)
L ₁	1.204	57.46	23.0	1.536	74.34	29.7
L ₂	1.001	47.64	19.1	0.803	31.21	12.5
L ₃	0.00	0.01	0.0	0.00	0.28	0.1

¹⁾Y value was calculated from calibration curve(Y=48.39×ABS+0.01).

것을 보여주고 있다. 한편, L₂층에서도 10mg/g 이상으로 비교적 많은 함량을 나타내는 품종은 수원 425호(유색 향미벼), 농립나 1호(찰벼), 올웨도 등이었다. 그런데, 현미 식이의 문제점은 hemicellulose 등의 섬유질 때문에 소화의 문제점이 있다. 쌀의 섬유질은 소화되지 않은 채 장내에서 유산균의 기질이 되어 유산균의 증식제가 되어 정상 역할을 하기도 하지만 소화에 관한 문제점이 맛의 문제점보다 식이의 기피 원인이 되고 있다. 그러므로, hemicellulose의 주된 존재 부위를 검토함으로써 적절한 수준에서 조정하는 연구가 진행되기를 기대한다. 즉, 위의 4 품종은 8% 정도 조정하더라도 항산화물질을 상당히 함유된다는 사실이 이용될 수 있을 것이다.

Lee 등(10)은 얼레지 화피에서 delphinidin 3-O-β-rutinoside를 동정하고 이의 함량을 군락지별로 평가한 바 있다. 이와 유사한 방법으로 수원 425 품종으로부터 cyanidin 3-O-β-D-glucoside를 분리하고 농도에 따른 스펙트럼의 곡선을 얻은 다음 파장 529nm에서 흡광도를 구하였다. 안토시아닌은 산성용액에서만 안정하고 추출되므로 상법에 따라 별도로 1%-hydrochloric acid methanol로 추출하여 그 함량을 측정하였으며 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 유색미 두 품종인 수원 425호와 상해향혈나를 층위별로 함량을 평가한 결과 L₁층에서는 상해향혈나(29.7mg/g)가 수원 425(23.0mg/g)보다 높게 나타났으나 L₂층에서는 수원 425호가 상해향혈나보다 훨씬 높게 나타났다. 즉, 안토시아닌 성분이 수원 425호는 L₂층에 L₁층의 83% 수준으로 존재하고 상해향혈나의 경우에는 L₂층에 L₁층의 42% 정도의 수준으로 존재하는 것으로 나타났다. 그리고, L₃층에서는 안토시아닌이 존재하지 않았다. 이상의 사실들은 안토시아닌의 수원 425호 쪽이 더 내면에 존재한다는 사실을 나타내어 주고 있다. 그런데, 여기서 아주 흥미 있는 사실은 전체의 안토시아닌 함량을 계산하면 수원 425호가 42.1mg/g이며 상해향혈나는 42.3mg/g으로서 거의 유사한 수치를 나타낸다는 사실이었다.

건강미의 품종 선발에 관하여 본 연구를 통하여 알 수 있는 사실은 항산화물질의 함량이 많은 차이를 나타

낸다는 사실이며 몇몇 품종에서는 상당히 내면에도 이들 성분들을 함유하고 있다는 사실이다. 따라서, 식이 문화에서 기호성에 따라 찰벼, 향미벼, 유색미 등을 활용하면 실질적인 효과와 더불어 심리적인 효과까지 얻을 수 있을 것이다. 본 실험의 결과를 전반적으로 고찰하면 활성이 좋은 품종들은 대체로 ferulic acid 유도체의 함량이 높게 나타났으나 반드시 그렇지 않은 품종도 있으므로 건강미의 개발은 이화학적 평가 뿐만 아니라 생물학적인 평가에 의해서 결정되어야 할 필요성을 이 실험은 보여 주었다.

본 연구 결과 수원 425호 품종은 유색향미이므로 홍색과 팝콘향을 느낄 수 있을 뿐만 아니라 상당히 내층에도 ferulic acid 유사체 및 안토시아닌 함량을 나타내므로 건강미로 개발할 것을 제안한다. 또, 수원 425 품종은 안토시아닌의 함량, ferulic acid의 함량, 생체에서의 항산화성 및 간보호효과에서 아주 높은 수치를 나타내고 있으므로 건강미의 개발을 위한 품종이 될 수 있는 조건을 갖추었다고 본다. 수원 425호는 유색향미로서 홍색을 나타내고 팝콘향을 나타내는 것이 기호성과 특징으로서 영향을 주리라고 본다.

요 약

한국 재래종 벼 15 품종의 쌀을 세 층, L₁층(중심부부터 92% 이상), L₂층(중심부로부터 81-91%), L₃층(중심부로부터 80% 이하)로 나누어 항산화활성과 간보호활성 및 ferulic acid 함량 평가를 위한 재료로 사용하였다. 갈락토사민을 투여한 흰쥐에서 이들 세 층의 시료를 급여함으로써 혈중 MDA를 측정함으로써 항산화활성을 측정하였다. 그 결과 anthocyanin을 함유하는 수원 425호 및 상해향혈나의 품종이 가장 높은 항산화활성을 나타내었다. 또한 간보호활성을 측정하기 위하여 ALT 및 AST의 활성을 측정했을 때 L₁층에서만 몇몇 품종에서 활성이 나타났다. 따라서 쌀의 생리활성 물질의 표면 부위에 집중적으로 분포함을 알았다. 간보호활성의 경우에도 수원 425호 품종이 가장 강한 효과를 나타내었다. Ferulic acid의 함량 평가에서도 표면으로부터

터 안으로 진입할수록 급격히 감소함을 알 수 있었다. 결과적으로 수원 425호의 품종은 건강미의 개발을 위한 중요한 대상이 될 수 있는 것으로 평가되었다.

감사의 말

본 논문은 농촌진흥청 농업특정 연구과제 “한국재래종 벼의 식품학적 및 약화학적 이용성 평가” 연구결과의 일부이며 당국에 감사드립니다.

문헌

1. Shanghai Science publishing company : *Encyclopedia of Chinese drugs*. Shokakan, p. 4717(1985)
2. Shinomiya, M., Morisaki, N., Matsuoka, N., Izumi, S., Saito, Y., Kumagai, A., Moritani, K. and Morita, S. : Effects of γ -oryzanol on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *Tohoku J. exp. Med.*, **141**, 191 (1983).
3. Ozaki, J. : *Antioxidant effect of coloured rice*. Annual meeting of Japanese food industry, p. 58(1993)
4. Tsuda, T., Oshima, K., Nakayama, T., Kawakishi, S. and Osawa, T. : Antioxidative activity of the antocyanin pigments cyanidin 3-O- β -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2407(1994)
5. Tanchotikul, U. and Hsieh, T. : An improved method for quantification of 2-acetyl-1-pyrroline, a “popcorn”-like aroma, in aromaticrice by high-resolution gas chromatograph/mass spectrometry/selected ion monitoring. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 944(1991)
6. Tajima, K., Sakamoto, M., Okada, K., Mukai, K., Ishizu, K., Sakurai, H. and Mori, H. : Reaction of biological phenolic antioxidants with superoxide generated by cytochrome p-450 model system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **115**, 1002(1983)
7. Sakamoto, K., Tabata, T., Shirasaki, K., Inagaki, T. and Nakayama, S. : Effects of γ -oryzanol and cycloartenol ferulic acid ester on cholesterol diet induced hyperlipidemia in rats. *Japan. J. Pharmacol.*, **45**, 559 (1987)
8. Yoshino, G., Kazumi, T., Amano, M., Tateiwa, M., Yamasaki, T., Takashima, S., Iwai, M., Hatanaka, H. and Bata, S. : Effects of gamma-oryzanol on hyperlipidemic subjects. *Current Therapeutic Research*, **45**, 543(1989)
9. Reitman, S. and Frankel, S. K. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Amer. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56(1967)
10. Lee, M. S., Lim, S. C. and Park, H. J. : Phthalate ester and flavonoids isolated from leaves of *Erythronium japonicum*. *Korean J. Pharmacognosy*, **24**, 251(1993)

(1998년 10월 23일 접수)