

감마선 조사에 의한 왕겨, 미강, 맥강의 항산화능의 변화

배성문 · 김정한 · 조철우 · 정태준 · 육홍선* · 변명우* · 이승철†

경남대학교 생명과학부 식품생물공학전공
*한국원자력연구소 방사선식품공학연구실

Effect of γ -Irradiation on the Antioxidant Activity of Rice Hull, Rice Bran and Barley Bran

Sung-Moon Bae, Jeong-Han Kim, Cheol-Woo Cho, Tae-Joon Jeong, Hong-Sun Yook*,
Myung-Woo Byun* and Seung-Cheol Lee†

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

*Team for Radiation Food Science & Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute,
Daejeon 305-353, Korea

Abstract

Effect of γ -irradiation to cereal processed by-products was examined for antioxidative ability. Rice hull (RH), rice bran (RB) and barley bran (BB) were irradiated with 5, 10, 15 and 20 kGy of γ -ray at 4.2 kGy/h. The amount of total phenol compounds of unirradiated RH, RB, and BB were 0.873 mM, 0.643 mM, and 0.377 mM, respectively. Irradiation up to 20 kGy did not show noticeable effect to the amount of total phenol compounds in RH, RB and BB. Electron donating abilities of RH, RB and BB were very similar, and they were not affected by irradiation. According to TBARS analyses, the inhibition abilities of lipid peroxidation of RH and RB were not affected by γ -irradiation, while those of BB were decreased with irradiation. These results indicate that BB is more sensitive to γ -irradiation than other rice processed by-products.

Key words: γ -irradiation, cereal, by-products, antioxidant activity

서 론

일반적으로 곡물의 배유 부분에는 전분이 저장되어 있고 외피 부분에는 비타민 및 무기질 등의 영양 성분이 함유되어 있다. 또한, 외피 부분에는 외부로부터의 산화와 열화 등을 방지할 수 있는 항산화 물질도 어느 정도 함유되어 있다. 왕겨에 함유된 항산화 성분으로는 flavonoid, cyanidin, phytic acid, ferulic acid 등이 알려져 있는데(1-3), Ramarathnam 등(4)은 특히 왕겨의 주된 항산화 성분이 C-glycosyl flavonoid인 isovitexin이라 하였다. 또한, 미강에는 α -tocopherol, α -tocotrienol, γ -tocopherol, γ -tocotrienol 및 γ -oryzanol 등이 함유되어 있어 항산화 작용을 담당하며, 혈청의 콜레스테롤 수치도 낮출 수 있다고 보고되었으(5), 보리의 가공 부산물인 맥강에도 catechin, procyanidin, ferulic acid, tocopherol 등의 다양한 페놀 화합물의 존재로 강한 항산화력이 있는 것으로 보고되었다(6,7).

한편, 식품 중에 존재하는 항산화 물질 중 superoxide dismutase나 catalase, peroxidase 등과 같은 고분자 항산화 물질은 가열이나, 인체내 흡수과정에서의 위액에 의한 분해로

그 활성이 소실되어 효력을 발휘하지 못한다. 또한 flavonoid, carotenoid, polyphenol류 등의 저분자 항산화 물질은 식물에서 반복적인 중합체의 상태로 존재하고 식품을 섭취하더라도 유리되지 못하여, 인체내에서 제 기능을 발휘하지 못하는데(8), 이들 저분자 항산화 물질의 가용화를 증대시키기 위한 시도로 원적외선 처리와 발효(9), microwave 처리(10, 11) 등의 여러 가공처리에 대한 연구가 보고되기도 하였다.

감마선은 물질 투과시 원자, 원자단, 분자에 이온을 생성하게 하는 전리 방사선 중의 하나로서 그 투과력이 강하여 제품을 완포장된 상태로 연속처리할 수 있는 장점이 있어, 농산물의 발아 및 발근 억제, 멸균, 속도 지연, 식품 물성 개선, 식품첨가물, 향신료의 위생화, 기타 화장품 및 의료산업에 많이 쓰이고 있다(12). 감마선을 포함한 방사선은 생체에 활성 산소종들을 과다하게 발생하여 방사선장해를 유발하여 인체에 치명적인 장해를 주고(13), 고에너지로 인하여 물분자의 산소-수소결합을 분해하여 수산 라디칼을 생산하고 단백질의 저분자화를 유도한다고(14) 보고되었다. 그러나, 저선량의 감마선은 다양한 생물자극 효과에 의해 뇌질환을 막아주고 산화적 스트레스에 대한 내성을 증가시키며(15), 식물 유

†Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684. Fax: 82-55-249-2995

지의 항산화능을 증가시킨다고(16) 한다. 본 연구에서는 우리나라에서 다량으로 발생하는 미강, 왕겨, 맥강 등의 곡물 가공 부산물을 항산화성 소재로 이용하기 위한 방법으로 감마선 조사처리가 항산화 성분들의 활성에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 미강과 맥강은 경상남도 고성군 두보식품에서 구입하였으며, 왕겨는 경상남도 고성군의 정미소에서 구입한 것으로 방앗간에서 조면 로울러와 활면 로울러로 분쇄한 후 48 mesh 체를 통과한 것을 시료로 이용하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), butylated hydroxy toluene(BHT), 2-thiobarbituric acid(TBA), fish oil, tannic acid 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 그리고 분석을 위한 기타 시약은 특급 이상을 사용하였다.

감마선 조사

왕겨, 미강, 맥강을 각각 200 g씩 질소 치환한 후 밀봉하여 한국원자력연구소에서 선원 10만 Ci, Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 실온에서 분당 70 Gy의 선량율로 각각 5, 10, 15 및 20 K Gy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며, 흡수선량 확인은 ceric cerous dosimeter(USA)를 사용하였고 총 흡수선량의 오차는 ±0.2 K Gy였다. 감마선 조사 후 시료는 대조구와 함께 4°C에서 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 추출

왕겨, 미강, 맥강 시료들은 시료 1 g당 99.5%(v/v) 메탄올 20 mL 첨가하여 교반한 후 상온에서 1시간 방치하였다. 이를 1,200×g에서 5분간 원심분리하여 그 추출물을 실험에 사용하였다(10,11).

총 페놀함량 측정

총 페놀함량은 Gutfinger(17) 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 상기 추출물 1 mL에 2% Na₂CO₃용액 1 mL를 가하여 3분간 방치한 후 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 30분간 상온에서 방치하였다. 13,400×g, 10분간 원심분리 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준물질로는 tannic acid를 사용하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois법(18)에 준하여 상기 추출물 0.2 mL에 4.1×10⁻⁵ M의 DPPH 용액(99.9% 에탄올에 용해) 1.0 mL를 가한 후 10초 동안 진탕하고, 10분간 반응시켜 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 100 - [(시료 첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100]로 나타내었고 표준품으로 BHT를 사용하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 분석

TBARS분석은 Buege와 Aust(19) 방법에 준하였다. Oil emulsion은 0.1 M maleic acid buffer(pH 6.5) 8 mL에 유화제(Tween-20) 50 μL, fish oil 0.5 mL를 섞어 15분간 교반한 후 KOH 0.02 g과 증류수 150 mL를 첨가하여 다시 교반하면서 0.1 N HCl로 pH 6.5가 되도록 조제하였다(20).

지질의 산화를 촉진하기 위한 산소종 시료로서 3종류 즉 H₂O₂, O₂⁻와 ·OH를 이용하였는데 H₂O₂ 발생을 위해서는 40 mM H₂O₂를, O₂⁻ 발생을 위해서는 50 ppm FeCl₂를, ·OH 발생을 위해서는 40 mM H₂O₂와 50 ppm FeCl₂를 1:1로 섞어서 사용하였다(20). 분석방법은 oil emulsion 0.5 mL에 앞서 서술한 산소종 시료 0.1 mL와 상기 추출물 0.1 mL를 가하여 증류수로 전체가 1 mL가 되게 첨가하였고 대조구는 추출물 0.1 mL 대신에 물을 첨가하여 사용하였다. 1 mL 반응혼합물이 채워진 시험관을 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시키고 7.2% BHT 50 μL를 시료에 첨가하여 산화반응을 정지시켰다. 여기에 TCA/TBA 시약 2 mL를 가하여 끓는 물에서 15분간 가열시킨 후, 찬물에서 식히고 2,000×g에서 15분간 원심분리하여 532 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하였다. 지질의 과산화 평가는 활성 산소에 의해 유발되는 지질의 과산화를 대조군과 비교하여 왕겨, 미강, 맥강 추출물이 억제하는 비율로서 % inhibition으로 나타내었다.

결과 및 고찰

총 페놀 함량

식물체에 존재하는 다양한 페놀 화합물은 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화능력을 나타낸다(21). 왕겨, 미강 및 맥강에도 각종 페놀 화합물이 존재하는데, 이들이 주된 항산화 물질으로 알려져 있다(1-7). 따라서, 감마선 조사가 곡물 가공 부산물의 항산화력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 먼저 감마선 조사에 따른 페놀 화합물의 변화를 측정하였다(Fig. 1). 무처리구의 페놀 함량은 왕겨 0.873 mM, 미강 0.643 mM, 맥강 0.377 mM로 각각 측정되었다. 감마선 조사에 따른 총 페놀 함량은 흡수선량에 상관없이 일정하게 유지하는 경향을 나타내었다. Beaulieu 등(22)은 양송이에 처리 속도를 달리하여 2 kGy의 감마선을 조사하였을 때 4.5 kGy/h로 처리한 경우에는 32 kGy/h로 처리한 경우보다 페놀 함량이 증가하였고, 처리 속도에 관계없이 2 kGy의 감마선을 처리한 경우가 무처리구에 비하여 페놀 함량이 증가하였다고 보고하였다. 또한, Ramarathnam 등(23)은 왕겨가 함유된餅에 감마선을 0, 5, 10 kGy 조사시에 α-tocopherol은 급격히 감소하나 페놀 화합물인 oryzanol은 감마선에 비교적 안정하다고 보고하였다. 이는 감마선의 처리 속도 및 페놀 화합물의 전구체 양 및 종류에 따라 다양한 변화가 있음을 의미한다. 그러나 본 실험에서는 4.2 kGy/h

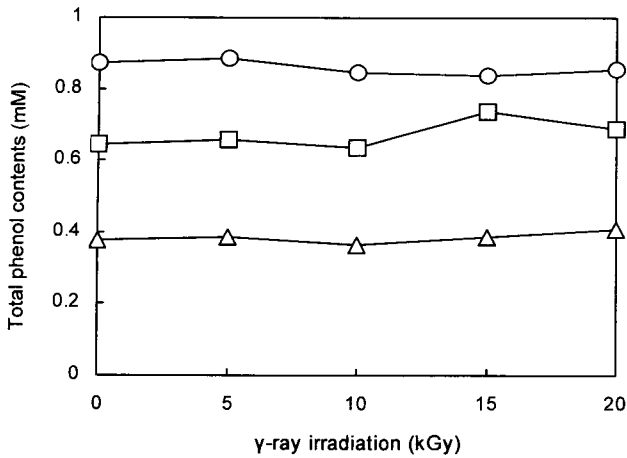


Fig. 1. Changes of total phenol contents of cereal by-products by irradiation with γ -ray.
 ○: Rice hull, □: Rice bran, △: Barley bran.

의 속도로 각각 5, 10, 15 및 20 KGy를 조사하였으나, 유의적인 변화가 발견되지 않았다.

전자공여능 측정

DPPH는 항산화능을 가진 물질의 전자공여능에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색되며, 탈색의 정도로 어떤 물질의 항산화능을 측정할 수 있다(18). 감마선 조사 시료의 DPPH에 대한 전자공여능의 결과는 Fig. 2와 같다. 무처리구의 왕겨, 미강, 맥강의 전자공여능은 각각 84.86%, 87.32%, 89.79%로 거의 비슷한 활성을 나타내었고 대조구로 이용된 BHT (10 mg/mL)는 91% 활성을 나타냄으로서, 쌀과 보리의 높은 항산화 방어계의 보유를 확인할 수 있다. 총 페놀 함량에서는 왕겨가 맥강보다 두 배 이상의 높은 함량을 나타내었지만 (Fig. 1), 전자공여능은 거의 비슷한 활성을 나타내는 것으로 보아 쌀과 보리의 항산화 관련 물질에 차이가 있음을 알 수 있었다. 왕겨에는 미강과 맥강에 함유되어 있지 않는 주된

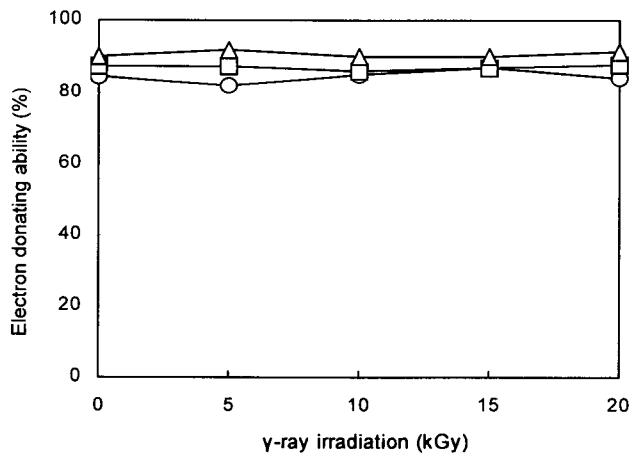


Fig. 2. Changes of electron donating ability (EDA) of cereal by-products by irradiation with γ -ray.
 ○: Rice hull, □: Rice bran, △: Barley bran.

항산화 물질로서 페놀 화합물인 isovitexin이 다량 존재하는데(4), 이는 벼의 가장 외층으로부터 가해지는 산화와 열화 등으로부터 종자를 보호하기 위해서라고 추측된다. 한편, 맥강에는 항산화성 페놀 화합물인 flavan-3-ol류, flavonol류, phenolic acid와 비극성 ester 화합물 이외에도 비페놀성 항산화물질인 carotenoid류(lutein과 zeaxanthin)와 tocopherol류가 함유되어 있다(7). 따라서, 이러한 항산화 성분의 차이로 인하여 총 페놀 함량과 전자공여능 간에 차이가 있다고 보여진다.

한편, 감마선 조사선량에 따른 각 시료의 전자공여능은 무처리구와 감마선 처리구 모두 유의적인 변화를 보이지 않았다. 감마선 조사와 항산화능과의 관계에서 50 Gy의 저선량 감마선을 C57BL/6 쥐에 처리하였을 때, DPPH에 대한 각 조직의 항산화능은 증가하였다고 보고하였으나(15), 본 실험과는 조사선량이 다르고 조직 자체가 다르므로 관련성을 발견할 수는 없었다. 한편, 왕겨와 미강(10), 맥강(11)에 microwave를 처리한 경우에도 전자공여능의 변화는 관찰되지 않았는데 이는 이들에 존재하는 항산화물질이 매우 안정함을 시사한다.

TBARS 분석

TBARS분석(19)은 불포화도가 높은 어유에 활성산소종을 첨가하고 지질의 과산화를 유발시킨 후 여기에 감마선을 조사한 각 시료의 추출물을 첨가하여 지질의 과산화 억제능을 조사하였다. H₂O₂에 의해서 유발된 지질의 과산화 억제능은 감마선 무처리구의 미강과 왕겨가 약 54%의 활성을 보였으나, 맥강의 경우에는 45%의 활성을 보여 왕겨와 미강보다 억제력이 약함을 알 수 있었다(Fig. 3). 이는 쌀과 보리에 내재된 항산화 성분의 차이에 의한 것으로 추측된다. 과산화 억제능에서, 감마선 조사된 왕겨와 미강은 조사선량에 상관없이 유지하는 경향을 보였으나, 맥강은 조사선량이 높을수록 감

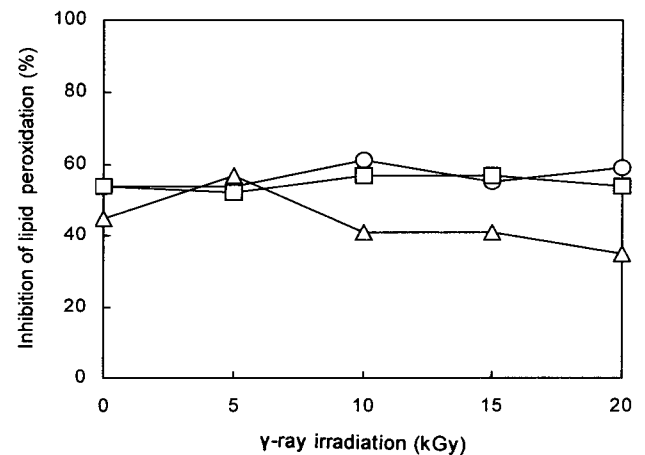


Fig. 3. Effects of cereal by-products by irradiation with γ -ray on the inhibition of lipid peroxidation induced by hydrogen peroxide.
 ○: Rice hull, □: Rice bran, △: Barley bran.

소하는 경향을 보였다.

한편, 지질의 과산화 개시인자로서 중요한 역할을 하는 O₂⁻에 의해서 유발된 과산화 억제능은 감마선 무처리구의 왕겨와 미강 추출물이 각각 73%, 82%로 비교적 높은 활성을 보여주었으나, 맥강의 경우에는 31%로 상대적으로 낮은 활성을 보였다(Fig. 4). 감마선 조사에 따른 변화에서 왕겨와 미강은 대체로 조사선량에 상관없이 유지하는 경향을 보여주었으나, 맥강의 경우에는 조사선량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다.

·OH에 대한 과산화 억제능에서 감마선 무처리구의 경우 왕겨는 46%, 미강은 49%, 맥강이 39%로 측정되었으며, 왕겨와 미강이 맥강보다 우수한 지질의 과산화 억제능을 보였다(Fig. 5). 감마선 조사선량에 따른 영향을 보면, 왕겨와 미강은 비교적 고선량인 20 kGy의 조사에서도 활성이 유지되었으나, 맥강은 조사선량이 높아질수록 과산화 억제능이 점차

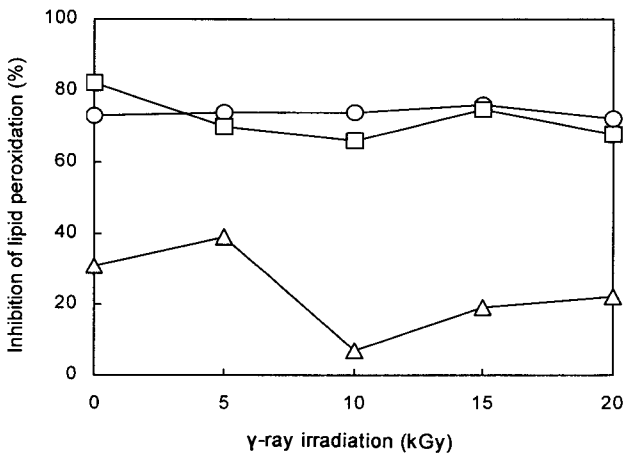


Fig. 4. Effects of cereal by-products by irradiation with γ -ray on the inhibition of lipid peroxidation induced by superoxide.

○: Rice hull, □: Rice bran, △: Barley bran.

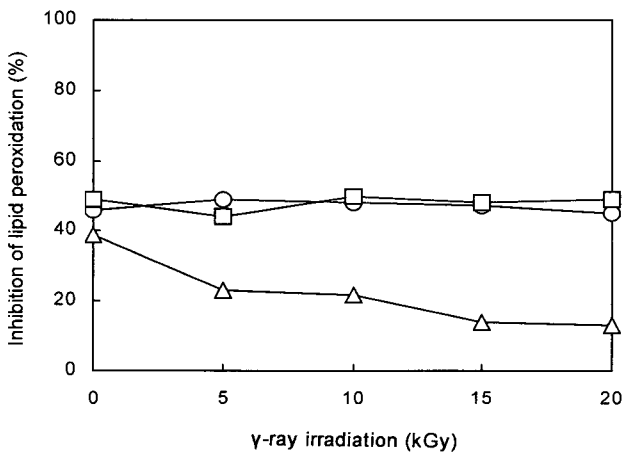


Fig. 5. Effects of cereal by-products by irradiation with γ -ray on the inhibition of lipid peroxidation induced by hydroxyl radical.

○: Rice hull, □: Rice bran, △: Barley bran.

감소되어 20 kGy에서는 가공전보다 약 26%의 활성소실 즉, 13%의 활성을 보였다. 왕겨는 감마선 조사와 같은 고에너지의 방사선에 대해 물리적으로 직접적으로 보호할 뿐만 아니라, 감마선 조사 동안에 생성된 활성산소종들에 의한 산화적 손상에 대하여 화학적 방어 작용을 가진 것으로 보고된 바가 있다(23). 이상의 TBARS 결과로 맥강보다 왕겨와 미강이 감마선 조사에 대하여 항산화 활성의 안정성이 높음이 확인되었다. 이것은 쌀과 보리의 가공 부산물에 내재된 항산화 성분의 차이에 기인하며, 어떤 성분이 관여하는지에 대해서는 앞으로 더욱 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

감마선 조사가 왕겨, 미강, 맥강의 항산화능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 4.2 kGy/h의 속도로 각각 5, 10, 15, 20 kGy를 조사한 후, 메탄올 추출물을 제조하여 항산화능의 변화를 측정하였다. 감마선을 조사하지 않은 시료의 총 페놀함량을 측정된 결과, 왕겨가 0.873 mM, 미강이 0.643 mM, 맥강이 0.377 mM로 측정되었으며, 감마선 조사에 따른 총 페놀함량은 조사선량에 상관없이 일정하게 유지되었다. 전자공여능의 측정결과 감마선을 조사하지 않은 왕겨, 미강, 맥강에서 모두 비슷한 활성을 보였으며, 감마선을 조사한 경우에도 모든 시료에서 조사선량에 따른 유의적인 변화를 나타내지 않았다. TBARS분석에서는 감마선을 조사하지 않은 왕겨와 미강 추출물이 맥강 추출물보다 지질 과산화 억제력이 높았으며, 감마선 조사시에도 왕겨와 미강은 활성이 유지 또는 보유되었으나 맥강은 조사선량이 높을수록 지질의 산화 억제력이 상당히 감소되었다. 따라서 왕겨, 미강, 맥강의 페놀 성분과 전자공여능에 관여하는 성분이 감마선에 매우 안정하며, 지질 과산화 억제능에 관여하는 성분은 왕겨와 미강의 경우에는 감마선에 안정하지만 맥강의 경우 불안정하였다.

문 헌

- Osawa T, Ramarathnam N, Kawakishi S, Namiki M, Tashiro T. 1985. Antioxidative defense systems in rice hull against damage caused by oxygen radicals. *Agric Biol Chem* 49: 3085-3087.
- Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M, Tashiro T. 1986. Studied on the relationship between antioxidative activity of rice hull and germination ability of rice seeds. *J Sci Food Agric* 37: 719-726.
- Asamarai AM, Addis PB, Epley RJ, Krick TP. 1996. Wild rice hull antioxidants. *J Agric Food Chem* 44: 126-130.
- Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. 1989. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, a c-glycosyl flavonoid. *J Agric Food Chem* 37: 316-319.
- Xu Z, Hua N, Godber JS. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis(2-methylpropanamide) dihydrochloride. *J Agric Food*

- Chem* 49: 2077-2081.
6. Nordkvist E, Salomonsson AN, Aman P. 1984. Distribution of insoluble bound phenolic acids in barely grain. *J Food Sci Agric* 35: 657-661.
 7. Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot MJ. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J Sci Food Agric* 49: 1625-1634.
 8. Niwa Y, Miyachi Y, Ishimoto K, Kanoh T. 1991. Why are natural plant medicinal products effective in some patients and not in others with the same disease? *Planta Med* 57: 299-304.
 9. Niwa Y, Kanoh T, Negishi M. 1988. Activation of antioxidant activity in natural medicinal products by heating, brewing and lipophilization. A new drug delivery system. *Drugs Exptl Clin Re* 14: 361-372.
 10. Bae SM, Kim JH, Cho CW, Jeong TJ, Ha JW, Lee SC. 2001. Effect of microwave treatment on the antioxidant activity of rice processed by-products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1026-1032.
 11. Bae SM, Kim JH, Cho CW, Jeong TJ, Kim JM, Lee SC. 2001. Effect of microwave on the antioxidant activity of barley bran. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 44: 235-239.
 12. Byun MW. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioisotope News* 9: 32-37.
 13. Kergonou J, Bernard P, Braquet M, Rocquet G. 1981. Effect of whole-body gamma irradiation on lipid peroxidation in rat tissues. *Biochim* 63: 555-559.
 14. Lim SI, Yuk HS, Yoon HH, Kim YJ, Byun MW. 1998. Effect of gamma irradiation on egg white protein. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 291-295.
 15. Kojima S, Matsuki O, Kinoshita I, Gonzalez TV, Shimura N, Kubodera A. 1997. Does small-dose γ -ray radiation induce endogenous antioxidant potential *in vivo*? *Biol Pharm Bull* 20: 601-604.
 16. Farag RS, el-Khawas KH. 1998. Influence of γ -irradiation and microwaves on the antioxidant property of some essential oils. *Inter J Foos Sci Nutr* 49: 109-115.
 17. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
 18. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1202.
 19. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52: 302-310.
 20. Lee YJ, Han JP. 2000. Antioxidative activities and nitrite scavenging abilities of extracts from *Ulmus davidiana*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 893-899.
 21. Shahidi F, Wanasundara PK. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32: 67-103.
 22. Beaulieu M, Daprano MB, Lacroix M. 1999. Dose rate effect of γ irradiation on phenolic compounds, polyphenol oxidase, and browning of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J Agric Food Chem* 47: 2537-2543.
 23. Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. 1989. Studies on changes in fatty acid composition and content of endogenous antioxidants during γ -irradiation of rice seeds. *JAOCS* 66: 105-108.

(2001년 11월 2일 접수; 2002년 3월 5일 채택)