

## 미강 페놀산 농축물의 특성 및 항산화 활성

정은희 · 황인경<sup>1</sup> · 하태열\*  
한국식품연구원, <sup>1</sup>서울대학교 식품영양학과

### Properties and Antioxidative Activities of Phenolic Acid Concentrates of Rice Bran

Eun Hee Jung, In Kyeong Hwang<sup>1</sup>, and Tae Youl Ha\*

Korea Food Research Institute

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition, Seoul National University

**Abstract** This study investigated the properties and antioxidative activities of phenolic acid concentrates of rice bran. Rice bran contains bioactive substances such as phenolic compounds, which can provide health benefits as natural antioxidants. This study examined how levels of phenolic acids can be obtained efficiently through various extraction methods. The extractions of defatted rice bran were followed by using ethylacetate (RBE-I), ethylacetate after alkaline hydrolysis (RBE-II), and 80% methanol (RBE-III). For all extracts, yields (%), total polyphenol contents (TPC), various phenolic acids and antioxidative activities were estimated. RBE-II had the highest total polyphenol contents (526.72 mg/100 g rice bran) and showed high antioxidative activity (74.7%). To concentrate the phenolic acids, RBE-II was passed through Sep-pak C<sub>18</sub> Vac cartridge and F1-RBE-II was collected by the elution of 50% methanol. The total phenolic content of F1-RBE-II (736.8 mg/100 g rice bran) was higher than that of RBE-II (367.1 mg/100 g rice bran), and the ratios of ferulic acid (73%) and sinapic acid (14%) increased. As RBE-II was analysed by HPLC, 6 different phenolic acids were found via chromatography, whereas F1-RBE-II showed 5 different peaks and the major phenolic acid was identified as ferulic acid. The ABTS radical scavenging activity of F1-RBE-II was the highest among the rice bran extracts. In a  $\beta$ -carotene-linoleic acid model system, linoleic acid oxidation was reduced by F1-RBE-II (73%) and RBE-II (35%).

**Key words:** rice bran, phenolic acid, antioxidative activity, ferulic acid

## 서 론

현대인의 건강에 대한 관심이 높아지면서 건강과 가장 밀접히 관련되어 있는 식품의 선택에도 많은 변화가 일어나고 있다. 가공 처리를 많이 했거나 단순 당 또는 지방이 과잉 함유된 식품의 소비형태에서 가공이 덜 된 슬로우 푸드나 채소, 과일 등 식품 그 자체를 이용해서 영양 성분을 얻으려고 한다. 최근 역학 조사에서 전곡류와 같이 가공이 덜 된 식품의 소비를 늘릴수록 심장병, 암, 당뇨병 등 만성 질환에 걸릴 위험을 줄일 수 있다고 보고하였다(1,2). 이러한 만성 질환 및 노화의 주된 원인은 스트레스로부터 기인한 신체 내 활성 산소량 증가를 들 수 있으며, 증가된 활성 산소들은 단백질, 세포막, DNA, 지질 성분 등을 불안정하게 하여 손상을 유도함으로써 세포나 조직의 정상적인 기능을 방해하여 다양한 질환을 유발시킨다(3). 이와 같은 활성 산소들을 조절하기 위해서는 외부로부터 항산화제를 적당히 섭취해 줌으로써 예방할 수 있으며, 자연에 존재하는 천연 항산화제로는 비타민 C, tocopherol과 최근에 연구가 많이 되어 주목받고

있는 dietary phytochemicals인 carotenoid, flavonoid, phenolic acid 등이 있으며 항산화 활성 뿐 아니라 항암, 항당뇨, 항콜레스테롤과 같은 다양한 생리활성을 나타내고 있어서 인간의 건강 유지와 질병 예방을 위해 이들 성분을 활용하고자 하는 연구가 진행되고 있다(3,4). 한편, 우리가 매일 섭취하고 있는 쌀에는 3대 영양소와 함께 다양한 생리활성을 갖는 물질이 존재하는데, 최근에는 전곡류 식품의 관심이 증대됨에 따라 백미보다는 현미, 발아현미, 미강 등의 영양성 및 기능성에 대한 연구가 활발하다. 현미의 외층과 배아 부분을 차지하는 미강에는 쌀의 주요 생리활성 물질인 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, 지질, phenolic acids가 다량 존재하고 있으며, 특히 페놀 화합물들은 쌀의 기능성에 중요한 역할을 하며, 항산화성, 항콜레스테롤, 성장 촉진, 항균, 항암 활성이 있는 것으로 보고되었다(5-7). 미강의 페놀 화합물(phenolic compounds)의 주요성분이 되는 phenylpropanoid는 방향족 환에 탄소 3개의 사슬이 달린 구조로서 hydroxycinnamic acids, hydroxybenzoic acids가 있으며, 일부는 유리형으로 존재하지만 대부분은 세포벽 다당체, 아미노산 등에 ester 결합상태로 존재한다(8). 그렇기 때문에 식품으로 섭취했을 때 결합형 페놀 화합물의 생체내 이용성에 대해서도 많은 연구가 이루어지고 있으며(9,10), 쌀의 페놀 화합물은 백미, 현미, 미강 등에서 분리된 바 있으며, 백미에는 85.6 mg/kg의 농도로 존재하며(11), 현미에는 338 mg/kg이 존재한다고 보고되었다(12). Kim 등(13)의 현미 및 미강의 특성 연구에서 페놀 화합물이 미강에 다량 존재하고 있었으며, 도정도가 증가함에 따라 백미 중 함유된 페놀 화합물의 함량은 감소한다고

\*Corresponding author: Tae Yeol Ha, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea  
Tel: 82-31-780-9054  
Fax: 82-31-780-9225  
E-mail: tyhap@kfri.re.kr  
Received April 23, 2010; revised May 24, 2010;  
accepted May 31, 2010

보고하였다. 연간 미강의 생산량은 385,000 톤에 해당되며, 이중 30%만이 미강유 제조에 재활용되고 있는 실정으로, 미강의 생리활성 자원으로서 다양한 활용방안이 필요하다(14).

본 연구에서는 미강의 페놀산 화합물 분리 및 농축을 위한 방법을 모색하고, HPLC을 이용해 농축물의 성분 분석 및 항산화 활성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험을 위해 사용된 미강은 시중의 대형마트에서 신선한 현미를 구입한 후 도정기계를 이용해 얻었고, 미강 시료는 성분변화 방지를 위해  $-70^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 보관하였다. Ferulic acid, *p*-coumaric acid, *m*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, sinapic acid, syringic acid는 Sigma Chemical Co.(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에서, HPLC(High performance liquid chromatography, Dionex Co., Idstein, Germany)을 위해 사용한 용매는 모두 Fisher Scientific Inc.(Pittsburgh, PA, USA)에서 구입하였고, 컬럼은  $\mu$ -Novapack(Waters Co., Dublin, Ireland)을 이용하였다. 미강 성분의 농축을 위해 Sep-pak  $\text{C}_{18}$  Vac cartridge(Waters Co.)를 이용하였다.

### 미강 페놀산 물질의 추출

미강을 헥산(n-Hexane)으로 48시간 동안 충분히 탈지한 후 건조된 탈지미강을 이용해 미강 내에 함유되어 있는 페놀산 물질을 효율적으로 얻고자 다양한 추출 방법을 실시하였다. 첫 번째 추출은 탈지미강 20 g에 에틸아세테이트 100 mL을 넣고 15시간 동안 상온에서 추출한 후 4,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상층액 부분만을 수거하고, 남은 잔사에 다시 에틸아세테이트를 넣어 같은 절차를 3회 반복하였고, 수거한 추출물은 evaporator를 이용해 감압·농축한 뒤 80% 메탄올에 녹여 준비하였다(RBE-I). 두 번째 추출은 탈지미강 20 g에 1 M NaOH 100 mL가하여 15시간 동안 가수분해를 실행한 후 1 M HCl을 가하여 pH 2로 맞추고 에틸아세테이트를 가하여 4,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 에틸아세테이트 분획층만을 수거하고(15), 남은 잔사에는 에틸아세테이트를 다시 넣어 3회 반복하여 추출하였으며, 에틸아세테이트 추출물은 감압·농축한 후 80% 메탄올에 녹여 수거하였다(RBE-II). 세 번째 추출은, 탈지미강 20 g에 80% 메탄올 100 mL을 넣고,  $27^{\circ}\text{C}$ 에서 15시간 동안 추출하여 준비하였다(RBE-III)(Fig. 1). 모든 시료는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

### 미강 페놀산 물질 농축

Sep-pak  $\text{C}_{18}$  Vac cartridge(Waters Co.)를 이용해 추출물의 페놀산 물질만을 농축하고, 페놀산 이외의 불순물들을 정제하였다. 먼저 메탄올을 이용해 Sep-pak  $\text{C}_{18}$  Vac cartridge를 활성화시킨 후, 미리 degassing된 3차 증류수로 수세하였다. 준비된 시료를 최대한 농축한 뒤 소량의 시료를 컬럼에 천천히 주입한 후 3차 증류수(100 mL)를 천천히 흘려주어 물에 잘 녹는 불순물들을 제거하였고, 이어서 50% 메탄올(200 mL)을 주입하여 Sep-pak  $\text{C}_{18}$  Vac cartridge로부터 분리되어 나오는 물질을 수거한 다음 evaporator를 이용하여 농축하였다(F1-RBE-II).

### 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 Folin-Ciocalteu 법(16)을 일부 변형하여 Folin-Ciocalteu reagent가 시료의 폴리페놀성 물질에

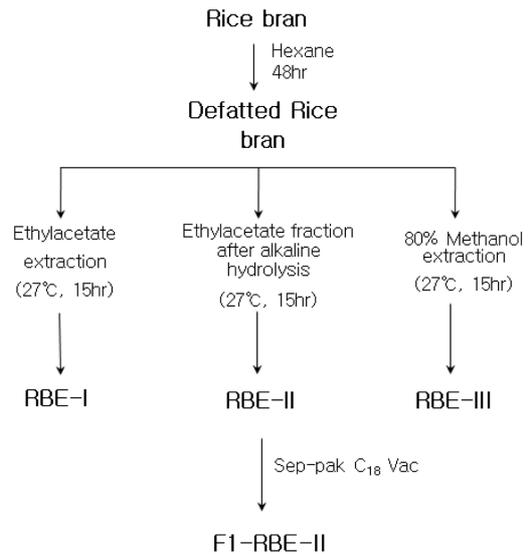


Fig. 1. Flow sheet for extraction of the phenolic acids from rice bran.

의해 환원되어 폴리브덴 청색으로 발색하는 원리를 이용하여 미강 분획물 내의 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 일정 농도로 희석시킨 각 시료 분획물 0.1 mL에 2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 mL을 첨가한 후 50% Folin시약 0.1 mL를 가하여 혼합, 발색시키고 실온에서 30분간 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferulic acid(Sigma Chemical Co.)로 표준 검량 곡선을 작성한 후 미강 분획물의 총 폴리페놀 함량은 100 g 중의 mg ferulic acid로 나타내었다.

### HPLC 분석

페놀산 분석을 위해 시료를 0.25  $\mu\text{m}$  syringe filter로 여과하여 HPLC(Dionex Co.)로 분석하였다. 컬럼은  $\mu$ -Novapack(3.9 $\times$ 300 mm internal diameter, Waters Co.), 검출기는 UV detector(280 nm), 이동상은 50 mM Sodium phosphate buffer와 70%메탄올(70:30, v/v),유속은 0.8 mL/min, 주입량 20  $\mu\text{L}$ 로 하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

Blois(17)의 방법에 의거하여, 각 시료 0.2 mL에  $4\times 10^{-4}$  M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Chemical Co.)용액 0.8 mL을 가한 후 혼합하여 상온에서 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 80% 메탄올 0.2 mL에 DPPH 용액 0.8 mL를 가한 후 상온에서 10분간 방치한 후 spectrophotometer(DU-650, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거 활성능은 다음 식에 의해 계산하였다.

DPPH radical scavenging activity(%)

$$= [1 - (\text{sample absorbance} / \text{control absorbance})] \times 100$$

### ABTS 라디칼 소거활성

Re 등(18)의 방법을 변형하여 ABTS(2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)라디칼 소거능을 측정하였다. 1 mM의 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride(AAPH)을 phosphate-buffered saline(PBS)에 녹인 2.5 mM의 ABTS와 혼합하여  $70^{\circ}\text{C}$ 의 항온조에서 30분간 반응시켜 ABTS 라디칼 용매로 만들어 실험

에 사용하였다. 실험에 사용된 PBS는 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)로서 150 mM NaCl을 포함한 용매를 사용하였다. Blue-green ABTS radical의 농도는 spectrophotometer(Beckman Coulter Inc.)를 사용하여 734 nm에서 0.7±0.02(mean±SD)가 되도록 조정하였다. 각 시료를 20 µL씩 취해서 980 µL ABTS radical 용액에 첨가한 뒤, 37°C에서 일정한 시간 동안 반응을 시키면서 734 nm에서 감소하는 흡광도 정도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 100% 메탄올 20 µL을 첨가하였다. 시료의 ABTS 라디칼 소거 활성능은 각각의 농도에 반응하는 항산화활성(%)으로 나타내었다.

**Peroxy radical 소거활성**

β-Carotene/linoleic acid system을 이용해 항산화 활성을 조사하기 위해 다음과 같은 순서에 따라 실험을 진행하였다(19). 2 mg의 β-carotene과 클로로포름 20 mL을 혼합하여 β-carotene chloroform 용액을 만들고, 40 mg linoleic acid에 400 mg의 Tween 40을 혼합한 후, 3 mL의 β-carotene chloroform 용액을 첨가하여 감압 여과 장치에서 클로로포름을 제거시킨다. 여기에 증류수 100 mL을 첨가하여 voltex mixer를 이용하여 잘 섞어주어 β-carotene-linoleic acid 용액을 제조하였다. 적당한 농도로 희석한 시료 40 µL와 β-carotene-linoleic acid 용액 3 mL와 섞은 후, 즉시 50°C로 맞춰진 항온 spectrophotometer에서 40분 동안 β-carotene의 탈색에 따른 흡광도의 변화를 470 nm에서 측정하였다. 시료의 antioxidant activity coefficient(AAC)는 산화되어 파괴되는 β-carotene의 분해율(degradation rate, dr)에 대한 저해율(%)로 나타내었다. 대조군은 시료를 포함하지 않고 용매만을 첨가한 후 emulsion의 흡광도를 측정하여 구하였다. 비교군(positive control)으로 합성 항산화제인 BHA(butylated hydroxyanisole)를 사용하였다.

$$\text{지질과산화 억제력(\%)} = (\text{dr control} - \text{dr sample}) / \text{dr control} \times 100$$

$$\text{Degradation rate(dr) of sample} = [\ln(A_0/A_T)]/T$$

$$A_0: A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}} \text{ (at 0 time)}$$

$$A_T: A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}} \text{ (at T=40 min)}$$

$$\text{Degradation rate(dr) of control} = [\ln(a_0/a_T)]/T$$

$$a_0: a_{\text{control}} - a_{\text{blank}} \text{ (at 0 time)}$$

$$a_T: a_{\text{control}} - a_{\text{blank}} \text{ (at T=40 min)}$$

**통계 분석**

통계처리는 SAS/STAT TM User's guide 8.0판 프로그램을 이용하여 평균치와 표준편차로 표시하였다. 분산분석(ANOVA) 후 유의성을 검증하였고, Duncan's multiple range test을 실시하였다. Probability values는 p<0.05 이상에서 해석하였다.

**결과 및 고찰**

**수율, 농축 및 총 폴리페놀 함량**

미강의 항산화 물질인 페놀산 물질의 추출효율을 알아보기 위해 에틸아세테이트, 80% 메탄올, 알칼리 분해 추출법으로 시료를 조제하였다. 추출된 시료들의 추출수율과 총 폴리페놀 함량은 Table 1과 같았다. 에틸아세테이트로 15시간 동안 추출하여 얻은 RBE-I의 수율은 2.6 g/100 g, 알칼리 분해 후 에틸아세테이트 추출물 RBE-II는 3 g/100 g, 80% 메탄올을 처리해 추출한 RBE-II는 1.35 g/100 g인 것으로 조사되었다. 한편, 각 시료의 총 폴리페놀 함량은 Table 1에서 보는 바와 같이, 알칼리 분해 후 에틸아세테이트에 의해 추출된 RBE-II는 526.7 mg/100 g으로 가장 높았으며,

**Table 1. Comparison of the yield and total polyphenol contents in rice bran extracts<sup>1)</sup>**

Samples	Yield <sup>2)</sup> (%)	TPC (mg/100 g rice bran) <sup>3)</sup>	Antioxidant activity (%) <sup>4)</sup>
RBE-I	2.56	22.64±0.57 <sup>d</sup>	30.0
RBE-II	3.00	526.72±0.50 <sup>b</sup>	74.7
RBE-III	1.35	54.13±0.33 <sup>c</sup>	41.3
F1-RBE-II	1.20	744.57±1.27 <sup>a</sup>	97.2

<sup>1)</sup>Data are expressed as mean±SD (n=3). <sup>2)</sup>Yield, weight recovered rate (w/w). <sup>3)</sup>Total polyphenol contents (mg ferulic acid equivalent/100 g rice bran). <sup>4)</sup>Means of DPPH radical scavenging activity on 1 mg/mL of each extract.

**Table 2. The phenolic acid contents of RBE-II and F1-RBE-II using HPLC analysis<sup>1)</sup>**

	RT <sup>2)</sup>	Contents (mg/100 g rice bran)	
		RBE-II <sup>3)</sup>	F1-RBE-II <sup>4)</sup>
<i>m</i> -OH-benzoic acid	7.21	14.5±0.05	ND
Vanillic acid	8.29	4.6±0.01	5.6±0.00
Syringic acid	8.97	27.0±0.08	6.7±0.00
<i>p</i> -Coumaric acid	13.22	126.9±0.42	90.3±2.92
Ferulic acid	15.33	476.7±1.09	528±1.95
Sinapic acid	16.63	87.1± 0.20	101.4±0.36
Total		367.1	736.8

<sup>1)</sup>Data are expressed as mean±SD (n=3).

<sup>2)</sup>RT, retention time (min)

<sup>3)</sup>RBE-II, rice bran extracts hydrolyzed with 1 M NaOH for 15hr at room temperature.

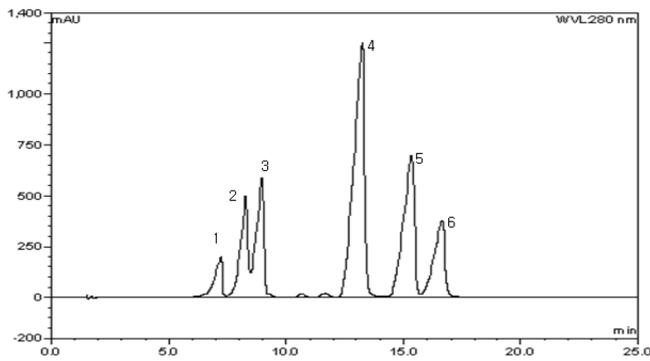
<sup>4)</sup>F1-RBE-II, the purified fractions of RBE-II eluted with 50% methanol in Sep-pak C<sub>18</sub> Vac cartridge

RBE-I과 RBE-II은 각각 22.64 mg/100 g, 54.13 mg/100 g으로 낮게 나타났다. 미강의 항산화 물질을 가장 많이 추출한 방법은 RBE-II 방법에 의한 것으로 알칼리 분해에 의해 불용성 항산화 물질들이 분해되어 용출되면서, 많은 폴리페놀 물질을 얻은 것으로 생각되며, 100% 에틸아세테이트 보다 80% 메탄올에 의한 추출이 더 많은 폴리페놀을 용출하는 것으로 조사되었다.

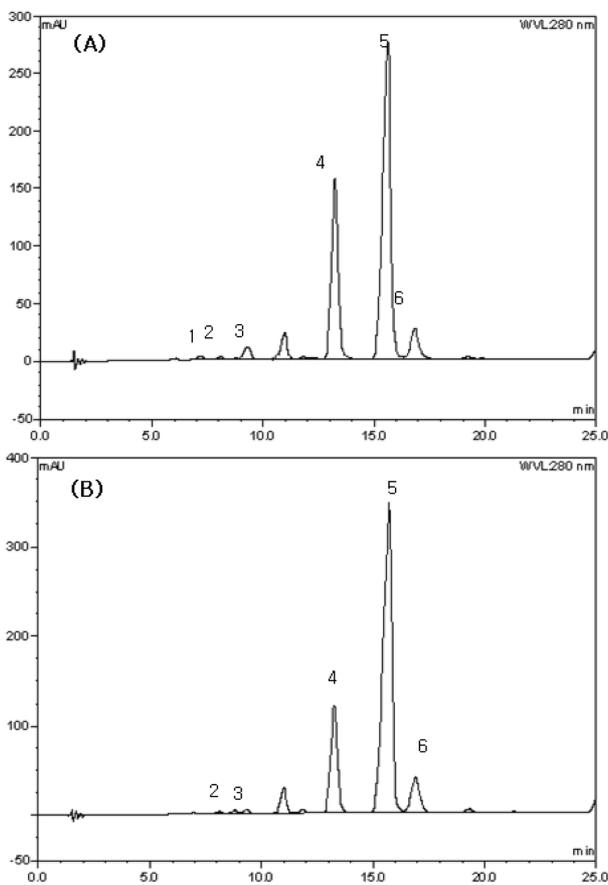
한편, RBE-II의 총 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타남으로서 추출물의 농축을 위해 불순물들을 제거하는 정제과정을 실시하였다. Sep-pak C<sub>18</sub> Vac cartridge(Waters Co.)을 이용해 추출물의 페놀산 화합물들을 농축하였고, 50% 메탄올에 용출되는 성분들을 수거한 F1-RBE-II의 총 폴리페놀 함량을 조사하였다. F1-RBE-II의 수율은 1.2%, 총 폴리페놀 함량은 744.57 mg/100 g으로 효과적인 미강 페놀 화합물을 농축할 수 있었다.

**HPLC를 이용한 페놀산의 분석**

시료들의 성분분석을 위해 HPLC(Dionex Co.)를 이용하여 UV 280 nm에서 조사하였고, 성분함량은 Table 2와 같았고, 페놀산 표준시료와 시료(RBE-II, F1-RBE-II)의 페놀산 분석은 Fig. 2과 Fig. 3에 각각 나타났다. RBE-II에 포함되어 있는 페놀산의 종류는 *m*-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid가 다량 존재하는 것으로 조사되었으며, RBE-II에서 *p*-coumaric acid(126.9 mg/100 g), ferulic acid(476.7 mg/100 g), sinapic acid(87.1 mg/100 g)의 함량이 다른 종류의 페놀산에 비해 높은 것으로 조사되었다. 또한 F1-RBE-II의 페

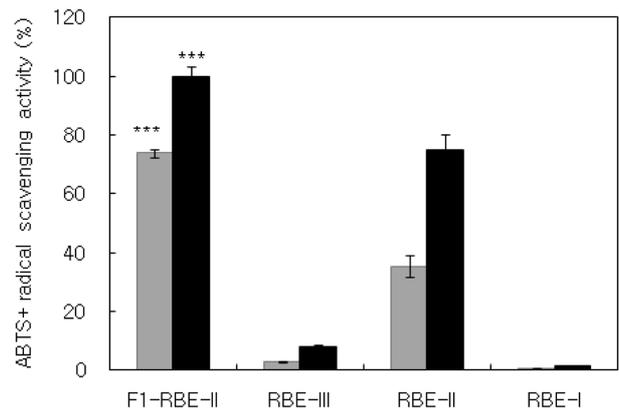


**Fig. 2.** HPLC profile of standards of phenolic acids at 280 nm. 1. *m*-Hydroxybenzoic acid; 2. Vanillic acid; 3. Syringic acid; 4. *p*-Coumaric acid; 5. Ferulic acid; 6. Sinapic acid.



**Fig. 3.** HPLC profile of phenolic acids in rice bran extract and high concentration of rice bran extract at 280 nm. (A) RBE-II (500 µg/mL); (B) F1-RBE-II (250 µg/mL); 1. *m*-Hydroxybenzoic acid; 2. Vanillic acid; 3. Syringic acid; 4. *p*-Coumaric acid; 5. Ferulic acid; 6. Sinapic acid.

놀산 함량을 분석한 결과, ferulic acid(528 mg/100 g), sinapic acid (101.4 mg/100 g)의 함량이 뚜렷하게 증가되었으며, *p*-coumaric acid, vanillic acid와 syringic acid의 농도는 감소하였고, *m*-hydroxybenzoic acid의 peak는 확인되지 않아 정제과정 중 소실된 것으로 확인되었다. 농축에 의해 F1-RBE-II의 페놀산 함량은 RBE-II에 비해 총 페놀산 함량이 1.97배 증가하였고, ferulic acid가 전체 성분 중 73%를 차지하였으며, sinapic acid와 *p*-coumaric acid 또한 차지하는 비율이 12-14%를 나타내어 페놀산 농축물의 주요 구성



**Fig. 4.** Antioxidant activities of the rice bran extracts in ABTS radical scavenging assay. 5 µg/mL, 10 µg/mL. \*\*\*Values on the graph mean significantly different between RBE-II and F1-RBE-II by paired test ( $p < 0.001$ ).

성분은 hydroxycinnamic acid계열의 페놀 화합물인 것을 알 수 있었다(20).

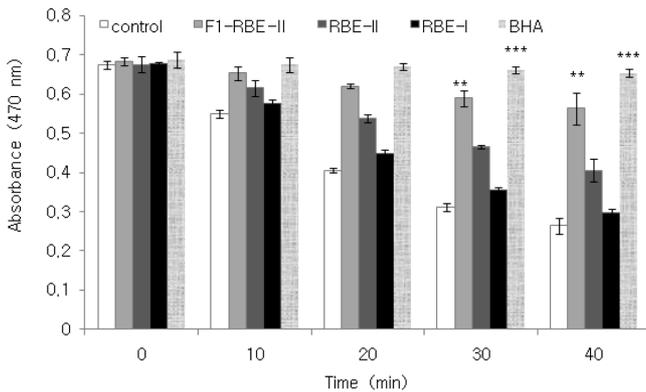
#### DPPH 라디칼 및 ABTS 라디칼 소거능

DPPH 라디칼을 이용하여 시료의 전자공여 능력을 측정하였다 (Table 1). 시료의 농도가 1 mg/mL일 때, F1-RBE-II의 항산화 활성은 97%, RBE-II는 75%이었고, RBE-I의 항산화 활성은 RBE-II에 비해 낮게 조사되었다. Hydroxycinnamic acid에 속하는 물질 들은 benzene ring의 hydroxyl group 수에 따라 의존적으로 소거 능이 달라지며, ortho 위치의 치환기에 따라서 라디칼 제거능이 달라진다고 보고하였다(21). 미강 폐놀산 성분 중 sinapic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid는 분자 내에서 hydroxyl 또는 methoxyl group을 포함하고 있어 미강의 항산화 활성을 나타내는 중요한 성분이라 할 수 있다.

시료의 ABTS 라디칼에 대한 항산화 능력은 Fig. 4와 같았다. F1-RBE-II는 10 µg/mL 농도에서 98%의 활성을 나타내어 미강 추출물 중 가장 높은 항산화 활성을 나타냈고, RBE-II는 80%로서 우수한 항산화 활성을 나타내었다. 반면, RBE-I과 RBE-II는 10 µg/mL농도에서 ABTS 라디칼에 대해 소거능을 나타내지 못했다. 이 실험은 AAPH와 같은 산화유도제에 의해 형성된 ABTS<sup>+</sup> radical cation을 제거하기 위해 항산화제의 전자공여능력을 측정함으로써 항산화 활성을 확인하는 방법으로 DPPH radical을 이용한 항산화 실험과 유사하지만, 소량의 시료만으로 반응성을 나타냄으로 시료의 낭비가 적고, 지용성 물질과 수용성 물질의 총 항산화력을 동시에 측정할 수 있다는 장점이 있다(17,19).

#### Peroxy radical 생성 저해 효과

지질 산화 유도를 통해 생겨난 free peroxy radicals은  $\beta$ -carotene의 이중결합을 공격함으로써 원래의 오렌지색으로부터 빠르게 decolorization이 진행된다.  $\beta$ -Carotene 용액의 색소 파괴 속도를 470 nm 범위의 흡광도에서 반응초기부터 반응종결까지 색의 변화를 측정하고, 그 차이를 이용해 시료의 항산화 활성을 측정하였다. 50°C 항온 인큐베이터에서 40분간 반응시킨 후 분해되지 않고 남아있는  $\beta$ -carotene의 양을 최초의  $\beta$ -carotene 양에 대한 퍼센트로 나타내었고, 결과는 Fig. 5와 같았다. 대조군(control)은 시료 대신에 용매인 메탄올만 첨가하여 반응시켰을 때 잔존하는  $\beta$ -carotene의 양은 처음의 25%만이 남아있었고, 비교군으로 합성 항



**Fig. 5. Antioxidant activities of rice bran extracts in a  $\beta$ -carotene/linoleic acid model system at 50°C.** Rice bran extracts (100  $\mu$ g/mL), BHA (100  $\mu$ g/mL). \*\*,\*\* Values on the graph mean significantly different by Duncan multiple range test (\*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

산화제인 BHA를 반응에 첨가하여 peroxy radical 생성 저해율을 측정된 결과, 100  $\mu$ g/mL의 농도에서 95.9%의 지질 과산화 억제력을 보였다. 시료들 중에서 RBE-II는 100  $\mu$ g/mL의 농도에서 34.8%, F1-RBE-II는 73.1%의 지질 과산화 억제력을 보였으며, RBE-I은 40분이 경과했을 때 대조군과 거의 비슷한  $\beta$ -carotene의 잔존량을 보여 peroxy radical 생성을 억제하는 능력이 없는 것으로 조사되었다. F1-RBE-II는 효과적인 지질 과산화 억제력을 나타냄으로서 peroxy radical에 의해 파괴될 수 있는 미강 속 지질의 산화반응을 저해하는 데 기여할 것으로 사료되며, Kaur와 Kapoor(22)는 emulsion assay를 통해 30가지 야채의 항산화 활성을 측정하였는데, 페놀 성분의 함량이 높은 범위에 속하는 야채일수록 linoleic acid의 oxidation을 효과적으로 억제하였다고 했고, Fausta 등(20)의 연구에서 LDL 산화 억제 효과를 측정하기 위해 benzoic acid 유사체와 cinnamic acid 유사체의 항산화 활성을 조사한 결과, benzoic acid 유사체 보다 cinnamic acid 유사체가 radical 형성을 억제하는 데 효과적이었다고 보고된 바와 같이 본 실험결과에서 F1-RBE-II의 높은 radical 생성 억제 효과는 hydroxycinnamic acid의 역할이 컸음을 추측할 수 있었다.

### 요 약

본 연구에서는 현미의 미강으로부터 생리활성이 있는 페놀산 물질을 얻기 위해 다양한 추출법을 시도하였고, 얻어진 미강 페놀산 농축물의 성분 분석 및 항산화 활성에 대해 조사하였다.

미강 추출물 중 알칼리 가수분해를 시행한 다음 에틸아세테이트로 분획하여 얻은 RBE-II의 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성이 가장 높은 것으로 조사되었고, 페놀산 성분의 농축 및 정제를 위해 Sep-pak C<sub>18</sub> Vac cartridge를 통과시켜 미강 페놀산 농축물(F1-RBE-II)을 얻었다. HPLC 분석을 통해 얻어진 페놀산 성분 중 ferulic acid가 가장 많았고, *p*-coumaric acid, sinapic acid, vanillic acid, 그리고 syringic acid가 존재하였으며, 그 구성성분이 주로 hydroxycinnamic acid 계열에 속한다는 것을 알 수 있었다. DPPH radical과 ABTS radical 소거능에서 미강 페놀산 농축물(F1-RBE-II)는 강력한 항산화 활성을 나타냈으며,  $\beta$ -CLMS를 이용한 지질 산화 유도반응에서도 우수한 peroxy radical 저해능을 발휘하여,

합성 항산화제인 BHA의 활성과 비교했을 때 높은 과산화 지질 억제력을 보였다. 본 연구를 통해 미강 페놀산 농축물의 성분 및 강한 항산화 능력이 확인됨으로써 항산화제 및 지방 산화 방지제로 개발하기에 부족함이 없는 것으로 사료된다.

### 문 헌

- Kushi LH, Meyer KA, Jacobs JD. Grains, legumes, and chronic disease risk reduction. Evidence epidemiological studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 451s-458s (1999)
- Simin L, Meir JS, Frank BH, Edward G, Eric R, Joann EM, Charles HH, Walter CW. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: Result from the nurse's health study. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 412-419 (1999)
- Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci.* 45: 287-306 (2005)
- Graf E, Eaton JW. Antioxidant function of phytic acid. *Free Radical Bio. Med.* 8: 61-69 (1990)
- Cheruvanky R. Phytochemical Functional Foods, Phytochemical Products: Rice Bran. CRC Press, Boca raton, FL, USA. pp. 347-376 (2000)
- Ogiwara T, Satoh K, Murakami Y, Unten S, Atsu T, Sakagami H, Fujisawa S. Radical scavenging activity and cytotoxicity of ferulic acid. *Anticancer Res.* 22: 2711-2717 (2002)
- Chun HS, You JE, Kim IH, Cho JS. Comparative antimutagenic and antioxidative activities of rice with different milling fractions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1371-1377 (1999)
- Faulds CB, Williamson G. The role of hydroxycinnamates in the plant cell wall, review. *J. Sci. Food Agr.* 79: 393-395 (1999)
- Bourne LC, Rice-Evans C. Bioavailability of ferulic acid. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 253: 222-227 (1998)
- Chesson A, Provan GJ, Russell WR, Scobbie L, Richardson AJ, Stewart C. Hydroxycinnamic acids in the digestive tract of livestock and human. *J. Sci. Food Agr.* 79: 373-378 (1999)
- Sosulski F, Krygier K, Hogge L. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agr. Food Chem.* 30: 337-340 (1982)
- Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chem.* 47: 401-406 (2004)
- Kim SR, Ahn JY, Lee HY, Ha TY. Various properties and phenolic acid contents of rices and rice brans with different milling fractions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 930-936 (2004)
- Kim YS. Functionality of fermented rice bran and its utilization. Ministry of Agriculture, Seoul, Korea. pp. 31-32 (2003)
- Kafui KA, Rui HL. Antioxidant activity of grains. *J. Agr. Food Chem.* 50: 6182-6187 (2002)
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158 (1965)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 181: 1199-1201 (1958)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Taga MS, Miller EE, Pratt DE. Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 928-931 (1984)
- Fausta N, Mirella N, Maurizio DF, Cristina S. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure-activity relation. *J. Agr. Food Chem.* 47: 1453-1459 (1999)
- Hiroe K, Masashi H, Kanae H, Kayo A, Hisaji T. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *J. Agr. Food Chem.* 50: 2161-2168 (2002)
- Kaur C, Kapoor HC. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Tech.* 37: 153-161 (2002)