

Cyanidine-3-glucoside (C3G) 색소의 함유량이 증대된 쌀 신품종(C3GHi)의 항산화 및 항당뇨 활성

김화영* · 김종학* · 이성애* · 류수노** · 한상준** · 홍성길*[†]

*(주)이롬 생명과학연구원, **한국방송통신대학교 자연과학대학 농학과

Antioxidative and Anti-diabetic Activity of C3GHi, Novel Black Rice Breed

Hwa-Young Kim*, Joong-Hark Kim*, Sung-Ae Lee*, Su-Noh Ryu**, Sang-Jun Han**, Seong-Gil Hong*[†]

*Erom R&D Center, 859-2 Toigye-Dong, Chuncheon-Si, Gangwon-Do, 200-944, Korea

ABSTRACT C3GHi, a novel black rice variety developed by conventional breeding has more high contents of cyanidine-3-glucoside (C3G) and a more strong antioxidant than normal black rice. In this study, we investigate the antioxidative potential and anti-diabetic activity of C3GHi and extract of it for the purpose of development of functional materials or replacement meal for diabetic patients. Using *in vitro* antioxidative activity assay system such as DPPH radical quenching assay, superoxide anion radical scavenging assay, inhibition of lipid peroxidation and DNA breakage assay, C3GHi extract was observed to have more high antioxidative activity than normal black rice breed. The glycemic index of a freeze dried powder of C3GHi brown rice showed 43.7 ± 18.8 , which belonged to low GI food (GI of 55 or less). Using *in vivo* diabetic model such as *db/db* mice model and streptozotocin-induced diabetic model, C3GHi rice extract decrease blood glucose level and inhibit oxidative stress in blood. From the results, we think that the C3GHi varieties have a potential for the functional materials or ingredient of meal replacement for diabetic patients.

Keywords : Black rice, functional food, antioxidant, diabetics, breeding

쌀은 오랫동안 인류가 애용해 온 대표적인 주식중의 하나이며, 쌀의 섭취는 에너지원으로서의 섭취가 섭취가 가장 주된 이유중의 하나이다. 그러나 2000년대 들어서면서 식생활의 다변화와 웰빙 문화가 보급됨에 따라 주식인 쌀에 기능성을 부가하여 추가적인 건강 개선을 추구하고자 하는

연구가 활발히 진행되어 왔다. 초기에 쌀에 기능성의 부가는 버섯추출물과 같은 기능성 천연물 추출물을 도정된 쌀에 코팅을 하는 제품 개발이 진행되었으며, 최근에는 육종을 통해 쌀에 포함되어 있는 기능 성분들을 강화하는 품종 개량 연구가 활발히 진행되고 있다.

전통적인 육종 방법을 통해 개발되어진 흑미 계통의 C3GHi 쌀 품종은 항산화 성분인 cyanidine-3-glucoside (C3G)의 함량이 시판되고 있는 흑미의 품종인 흑진주쌀에 비해서 5배이상 높은 것을 특징으로 하는 기능성 신품종으로, C3G 함량 이외에도 항당뇨 활성이 있는 것으로 알려진 oryzanol 등(Chou *et al*, 2009)의 유용성 성분 또한 일반 벼 품종에 비하여 높은 함량을 보여주고 있어 일반 쌀이나 흑미에 비하여 높은 기능성을 나타낼 수 있을 것으로 생각된다.

당뇨병(diabetes melitus)은 유전적 또는 후천적인 원인에 의해 혈당 조절 호르몬인 인슐린의 분비량이 부족하거나 인슐린의 기능이 정상적으로 이루어지지 않아 당 대사에 이상이 발생하여 고혈당을 유발하는 대사성 질환이다. 당뇨병은 크게 제1형과 제2형으로 분류된다. 제1형(인슐린 의존성) 당뇨병은 유전적인 소인으로 인해 췌장의 베타세포가 파괴되어 인슐린 분비가 저하되어 인슐린 치료가 절대적으로 필요한 반면, 제2형 당뇨병은 유전적인 소인보다 고열량, 고지방 식사, 운동부족, 스트레스 등 후천적인 요인으로 인해 인슐린 분비장애, 인슐린 저항성이 발생하는 경우이다. 제2형 당뇨병은 중년 이후에 발병율이 높으며, 국내의 당뇨 환자의 90% 이상이 제2형 당뇨병으로 보고되어 있다. 국내 당뇨병 환자는 약 500만명 정도로 예상되고 있으며, 2007년 통계청이 발표한 사망원인 조사결과에 따르면, 당뇨병은 5대 사망원인 중 하나로 암, 뇌혈관질환, 심장질환 다음으로 사망률이 높아 사회적으로 문제가 되고 있다(Kim, 2002 ; 통계

[†]Corresponding author: (Phone) +82-33-248-8311
(E-mail) antioxidant@erom.co.kr <Received November 24, 2009>

청, 2002)..

당뇨병은 지속적인 고혈당 증상으로 인해 심장질환, 신장질환, 시각장애 및 신경 장애와 같은 다양한 합병증을 동반하는 것을 특징으로 하는데, 이러한 합병증이 심각한 문제를 야기하며, 환자들의 삶의 질을 극도로 저하시킨다. 특히 대표적으로 순환기계의 질환에서 심근경색이나 뇌경색 등의 대혈관장애 등은 당뇨병 상태뿐만 아니라 당뇨병 발병 이전 단계인 내당능장애 단계에서부터 발병이 증가하는 것으로 나타나 이에 대한 예방 방법 또한 필수적으로 필요한 상태이다(Reaven, 1988 ; O'Brien & Granner, 1996). 따라서, 당뇨병의 치료 및 합병증을 예방하기 위해 혈당을 지속적으로 관리하여야 하며, 약물요법과 함께 식사요법, 운동요법 등 생활습관에서부터 철저한 관리체계가 필요하며 가장 바람직한 방법은 생활습관과 식습관 조절을 통해서 당뇨병 발병 이전 단계로부터 혈당을 관리하는 예방 차원에서의 치유가 가장 바람직하다(Park *et al*, 1996). 그러나, 건강 상태가 악화된 당뇨환자에게 철저한 식사요법 및 운동요법을 항상 지속시키는 것은 현실적으로 어려움이 수반되기 때문에 이를 보완하기 위하여 당뇨 질환 개선 효과가 뛰어난 기능성 소재 개발 및 이를 이용한 식품의 보급을 통하여 일반적인 식습관 속에서 자연스러운 혈당관리가 필요한 식사 대용식용 소재의 개발이 활발히 진행되고 있다. 이러한 기능성 소재는 특히 천연물을 기반으로 하여 개발되고 있으며, 대표적인 예로는 솔잎(Bates *et al*, 2000), 상엽(Yang *et al*, 2006), 버섯류(Kim & Choe, 2005 ; Kim *et al*, 2005)들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 천연물 기반의 기능성 소재의 개발 중 특히 쌀을 주성분으로 하는 항당뇨 소재의 개발은 쌀이 주식으로 사용되어 섭취의 용이함이 있고, 곡류를 바탕으로 하여 당뇨 환자용의 식사 대용식으로 쉽게 조제가 가능하다는 장점이 있다. 쌀은 오래전부터 주식으로 사용된 작물이나 전분함량이 높은 탄수화물 성분으로 인하여 당뇨 환자가 섭취시 급격한 혈당의 상승이 나타날 수 있어 당뇨환자들의 섭취가 쉽지 않았다. 그러나 쌀겉질(미강)의 유용성이 널리 알려지면서 미강의 식이섬유에 의한 혈당 상승 등의 개선 기능 및 낮은 glycemic index(GI)의 유용성을 통해 미강을 포함한 현미 상태로서 당뇨 환자들을 위한 식사로서의 현재 권장되고 있다(Kiehm, 1976). 특히 품종 개량을 통해 당뇨 질환자에게 유리하도록 제조된 쌀 품종을 이용한 항당뇨용 기능성 소재의 개발이 국내에서 시도되고 있으며, 일반 품종보다 배아가 큰 거대배아미(Lee *et al*, 2006)나 amylose의 함량이 높아 은 고아미2호 등이 개발되어져 상업화 되어 있다.

본 연구에 사용되어진 C3GHi 쌀 품종은 높은 C3G 함량

등을 통해서 당뇨로 인해 발생하는 조직의 산화적 손상을 경감시킬 수 있으며, oryzanol 등의 항당뇨 기능과 관련된 유용성 성분의 함량도 상대적으로 우수하여 C3GHi 쌀 품종은 당뇨 환자들을 위한 식사 대용식의 소재로서 일반 현미에 비하여 높은 기능성을 나타낼 수 있을 것으로 추측된다. 따라서, 본 연구에서는 품종 개량된 C3GHi 쌀 품종을 이용하여 항산화 활성, 혈당 조절 기능 및 당뇨 동물 모델에서의 당뇨 증상 및 당뇨 합병증 증상 개선 기능을 살펴봄으로써 차후 품종 개량 된 벼 품종을 이용한 기능성 식사 대용식의 연구 자료로서 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

C3GHi 쌀 품종의 준비 및 추출

실험에 사용된 C3GHi 쌀 품종(Ryu, 2004, 2007a, 2007b)은 한국방송통신대학교 류수노 교수 연구팀으로부터 현미 상태로 도정된 것을 제공받아 사용하였다. C3GHi 쌀 품종은 C3G 함량이 일반 흑진주 벼에 비하여 5배 이상 높도록 개량된 품종으로 한국, 일본 및 미국에 신규 품종으로 특허출원된 바 있다. C3GHi 쌀 추출물은 C3GHi 현미에 70% 에탄올 10배를 첨가하여 4°C에서 12시간 진탕추출한 후 상징액을 수거하고, 다시 70% 에탄올 5배를 첨가하여 동일 조건으로 4시간 동안 2차 추출을 수행하고, 두 추출액을 합친 후 진공농축 및 동결건조 하여 제조하였다. 대조군으로 사용된 일반벼(일품벼) 및 일반흑미(흑진주벼) 추출물은 상기와 동일한 방법으로 제조하였다.

C3GHi 쌀 추출물의 항산화 활성 측정

C3GHi 품종의 항산화력 측정에는 DPPH radical quenching assay (Tomohiro *et al*, 1994), SOD-like activity (Murklund and Marklund *et al*, 1974), 지질과산화 반응 억제 효과(Hong *et al*, 1999)의 측정을 통하여 검증하였으며, 시료 비처리군의 산화적 손상을 50% 경감시키는 시료의 농도로서 활성을 상대 비교하였다. C3GHi 품종의 DNA 보호 활성을 검증하기 위하여 C3GHi 쌀 추출물의 활성을 DNA breakage 법으로 검증하였는데, pBR322 plasmid를 H₂O₂/Fe의 활성산소 발생계에 노출시킨 후 분해되는 DNA의 정도를 agarose gel에 전기영동을 통해 확인하고 시료 처리 후 breakage의 억제 여부를 육안으로 관찰하여 항산화 활성을 검증하였다.

C3GHi 품종의 혈당지수 산출

C3GHi 품종의 혈당지수 산출을 위하여 소화 장애가 없고, 정상 공복 혈당을 가진 성인 10명을 대상으로 인체 적용 시험을 실시하였다. 실험대상자들은 실험전날부터 실험협일 아침까지 12시간 동안 절식 후, 공복 시 혈당을 측정할 다음 대상자들에게 시험물질 함량이 50 g이 되도록 준비된 시료를 250 mL의 물에 혼합하여 섭취하도록 한 후 손끝에서 채혈하여 2시간동안 15분 간격으로 혈당을 측정하였다. 대상자들은 시험이 끝나기 전 2시간 동안 금연하고, 가벼운 일상 생활만 하도록 하였다. 실험 시료는 대조용 포도당, 완전 도정된 백미, 시판되고 있는 현미 상태의 흑미 및 C3GHi로 하였고, 각 실험자가 주용 1회씩 무작위로 배정된 시료를 섭취하도록 하였다. 측정된 혈당양을 바탕으로 Jenkins 등(1981))에서와 같이 포도당 용액 섭취 후 2시간 동안 혈당반응면적과 시료 섭취 후 혈당반응 면적을 아래와 같은 수식으로 계산하여 혈당지수를 산출하였다. 시료의 소화, 흡수 형태를 대조군과 분석하기 위하여 혈당반응 곡유 실좌측면적값(LAR), 우측면적값(RAR)을 시료 섭취 후 30분을 기준으로 하여 구분하여 산출하였다.

$$\text{Glycemic index(GI)} = \frac{\Delta \text{ Blood glucose area after sample}}{\Delta \text{ Blood glucose area after glucose}} \times 100$$

C3GHi 쌀 추출물의 혈당 개선 효과

C3GHi 현미 추출물의 당뇨 개선 기능을 조사하기 위하여 db/db mouse 모델을 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 C57 BL/ksj(BL/Ls) homozygous diabetic (db/db) mouse로 오리엔트 실험동물(경기도 성남시)로부터 분양받아 사용하였다. 실험동물은 생후 4주령의 수컷을 분양 받아 고형사료와 물을 공급하면서 일주일간 적응시킨 후, 무처리군(Control group), 양성대조군(Metformin Group), G1(C3GHi Low-dose group), G2 (C3GHi High-dose group) 군으로 각 10마리씩 분류하였다. 실험기간 동안 실험식은 AIN-93G 식이를 공급하였으며, G1군과 G2군은 각기 C3GHi 쌀 추출물 10 mg/kg체중, 100 mg/kg체중의 비율로 경구 투여하였다. 양성대조군은 혈당강하제 약물인 metformin을 10 ug/kg 체중으로 경구 투여하였고, 무처리군은 동일용량의 식염수를 경구투여 하였다.

실험동물은 총 6주간 C3GHi 쌀 추출물 및 metformin을 경구투여하면서 1주 1회씩 18시간동안 절식시킨 후 미정맥으로부터 채혈하여 혈당량을 측정하였고, 실험기간이 종료된 후 심장으로부터 채혈하여 혈중 insulin 함량을 정량하였다. 또한, 실험 동물의 피하, 부고환, 신장후, 복막하 지

방 조직을 채취하여 무게를 측정하여 총 지방함량을 결정하였다.

C3GHi 쌀 품종 현미의 당뇨 증상 개선 효과

C3GHi 품종 쌀의 현미 상태에서의 혈당 개선 능력 및 혈중 지질 프로파일의 개선 능력을 확인하기 위하여 Streptozotocin(STZ)으로 당뇨가 유발된 실험 동물 모델에서 효능을 검증하였다. 실험에 사용된 동물인 SD rat는 오리엔트로부터 분양 받아 사용하였으며, 입수 후 1주일간 적응 기간을 거친 후 0.1M citric acid buffer에 용해시킨 STZ를 대퇴부에 50 mg/kg체중으로 투여하여 당뇨를 유발하였다. 당뇨 유발의 확인은 STZ 투여 후 미정맥으로부터 채취한 혈당이 180 mg/mL 이상혈당 개였고, 당뇨가 유발된 실험동물을 백미(일품벼)투여군(D-W), 현미(일품벼)투여군(D-B) 및 C3GHi 현미 섭취군(D-C3)으로 각 7마리씩 분류하였다. 실험식은 AIN-93G 식이 70%와 각 시료의 동결건조 분말미 상%를 혼합하여 3주간 섭취시켰다. 실험기간 동안 매주 1 회씩 미정맥으로부터 채혈하여 혈당량을 측정하였으며, 실험기간 종료 후 심장으로부터 채혈하여 분석용 키트(아산제약)를 사용하여 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol을 정량하였다. 또한, 혈액으로부터 체내 혈화적 손상의 지표로 사용되는 malondialdehyde의 정량은 Yagi 등(1976)의 방법을 통하여 정량하였다.

통계 처리

각 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 각군간의 유의성 검증은 95% 신뢰도 수준에서 student t-test를 이용하여 수행하였으며, 유의성이 나타날 경우 Duncan's multiple range test에 의해서 사후 검증을 실시하였다.

결과 및 고찰

C3GHi 쌀 추출물의 항산화 효능

신체내의 산화적 손상은 장기의 손상 및 노화의 중요한 원인으로 알려져 있으며, 항산화제 투여를 통해 산화적 손상을 경감시킬 경우 생체의 건강을 개선할 수 있다(Bulkley, 1983). C3GHi 쌀 품종은 강력한 항산화제로 알려진 cyanidine-3-glucoside를 일반 흑미에 비하여 5배 이상 높은 함량을 보이고 있어 높은 항산화 활성을 기대할 수 있으며, 이의 검증을 위하여 항산화 활성을 측정하였다. 항산화 활성의 측정은 DPPH radical을 이용한 전자 공여능(DPPH), SOD 유사 활성(SAR) 및 지질과산화 억제능력(LPI)을 측정하였으며, 이러한 방법들은 항산화제의 스크리닝에 많이 이

용되고 있다. 발생된 활성산소의 50%를 억제하는 시료의 농도(Scavenging Concentration at 50%, SC50)를 통해 상대 비교한 활성에서 C3GHi 품종의 추출물은 일반벼나 시판되는 흑미의 추출물에 비하여 매우 우수한 활성을 나타내었으며, 대표적 수용성 항산화제의 하나인 glutathione (GSH)과 비교할 때도 유사한 활성을 나타내어 항산화제로서의 활용 가능성이 매우 높은 것으로 판단되었다(Table 1). DNA 산화적 손상 억제 시험 결과는 Fig. 1과 같이 나타났다. 과산화수소에 의해 손상 받은 DNA(lane 2)의 경우 DNA strand의 breakage 현상으로 인하여 절단됨으로서 전기영동상에서 손상받지 않은 DNA(lane 1)에 비하여 band가 많이 없어졌음을 확인 할 수 있었다. C3GHi 쌀 추출물을 100ug/mL, 500ug/ml의 농도로 과산화수소와 함께 처리 band의 없어짐이 약하게 나타났으며, 이는 C3GHi 쌀 추출물이 DNA strand를 산화적 손상으로부터 보호하여 breakage 증상을 억제한 것으로 보여진다. 즉, 활성산소에 의해 유도된 DNA 산화적 손상에 대한 보호 효과를 확인할 수 있었다. DNA의 산화적 손상은 특히, 발암과정, 알츠하이머, 파킨스 병 등 각종 질환의 원인이 되기 때문에 C3GHi 쌀 추출물은 DNA의 산화적 손상을 방지함으로써,

각종 질환 예방에도 효과가 있을 것으로 판단된다.

C3GHi의 혈당지수(GI)

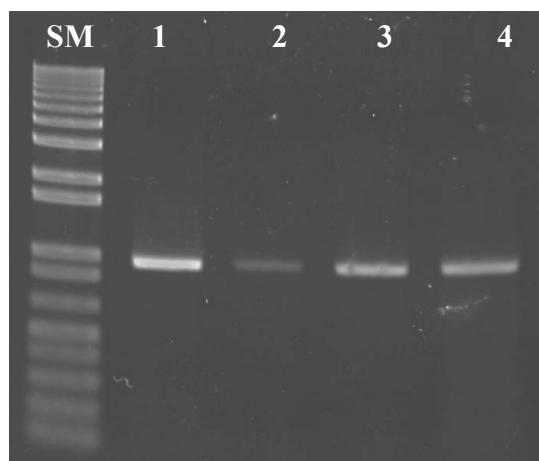
혈당지수(glycemic index:GI)는 어떤 식품을 섭취했을 때 나타내는 혈당반응과 포도당 섭취시의 혈당반응을 비교하여 나타낸 것으로, 혈당반응이 낮은 식품은 혈당지수의 수치도 낮게 나타나며, 이러한 식품들은 혈당을 천천히 상승시켜 당뇨병자들의 식이요법에 권장되고 있다(Jekins, 1981). 본 연구에서는 C3GHi의 혈당반응을 측정하여 당뇨개선식품으로 적합한지 여부를 알아보고자 하였다. 포도당을 비롯한 백미(WR), 흑진주 쌀의 현미(BR), C3GHi 동결건조 분말섭취 후 혈당 검사를 통해 얻은 수치로 혈당반응 면적을 산출한 결과는 Table 2와 같다. WR, BR, C3GHi 시료의 혈당반응곡선 면적은 포도당보다 각각 47%, 44%, 55%가 낮은 것으로 나타나 포도당에 대비해서 모두 포도당 혈당반응

Table 1. Antioxidative activity of C3GHi rice extract in various free radical generating system.

	Rice extract ¹⁾	Black rice extract ²⁾	C3GHi extract	GSH
DPPH (SC ₅₀ ,ug/mL)	878.4	414.2	106.3	113.2
SAR (SC ₅₀ ,ug/mL)	>1000	394.2	258.5	200.6
LPI (SC ₅₀ , ug/mL)	>1000	355.9	95.4	72.5

¹⁾ Ilpumbyeo

²⁾ Heugjinjubyeo



SM: size marker(1kb ladder); lane 1:Not treatment; lane 2:H₂O₂ only treatment; lane 3:C3GHi 100 ug/ml + H₂O₂ treatment; lane 4:C3GHi 500 ug/ml + H₂O₂ treatment

Fig. 1. Protective effect of C3GHi rice extract on hydroxyl radical-induced DNA breakage.

Table 2. Varietal difference of glycemic index with rice extract.

Group	Area under curve(min·mg/dl)	GI (%)	LAR	RAR
glucose	5469.4 ± 1686.2	100.0	1.00	1.00
White Rice ¹⁾	2903.8 ± 1080.7	53.5 ± 19.4	0.36 ± 0.13	0.45 ± 0.21
Brown Rice ²⁾	3068.4 ± 903.9	55.4 ± 23.0	0.47 ± 0.16	0.58 ± 0.27
C3GHi	2451.1 ± 1418.8	43.7 ± 18.8	0.33 ± 0.16	0.37 ± 0.18

Left area ratio : samples left area(0~30min)/glucose left area(0~30min)

Right area ratio : samples right area(30~60min)/glucose right area(30~60min)

¹⁾ Ilpumbyeo

²⁾ Heugjinjubyeo

면적에 대한 시료의 혈당반응 면적을 백분율로 나타낸 혈당지수는 WR 53.5, BR 55.4, C3GHi 43.7로 나타났다. 일반적으로 백미 또는 현미의 혈당지수는 조리를 한 후 측정하고 있으며, 이 경우 백미의 경우 약 92, 현미는 90정도의 수치를 나타내는 것으로 보고되어 있다(Lee *et al*, 1997). 조리를 통해 소화되지 않은 전분의 경우 흡수율이 조리된 것에 비해서 떨어진다. 본 연구에서는 C3GHi쌀을 이용하여 생식류의 비가열 식품으로서의 활용도를 파악하기 위하여 조리되지 않은 생식 상태의 시료를 사용하였다. 조리되지 않은 백미의 혈당지수는 53.5로 조리된 백미에 비하여 낮은 혈당지수를 보였으며, 일반 흑미의 현미 또한 55.4로 조리된 현미의 90정도와 큰 차이를 나타내었다. C3GHi의 혈당지수는 43.7로 백미 및 흑진주쌀에 비해서 평균적으로 낮은 혈당지수를 나타내었다. 비록 각 시료 간에 혈당지수에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만, C3GHi가 가장 낮은 혈당지수를 나타내어 C3GHi를 이용한 생식류의 식사 대용식으로서의 가능성이 높다고 판단되었다. 일반적으로 식이 섬유 함량이 높은 식품은 혈당지수를 낮추는 효과에 대해서는 위장에서의 전분 소화율의 저하(American Diabetes Association, 1987), 위장에서 소화된 내용물의 십이지장으로의 이동 속도 감소(Jenkins *et al*, 1988), 소장으로 확산되는 당류의 속도감소 및 소장상부로 다당류의 분해속도 감소(Jang *et al*, 2001), 소장 내 상피세포에서 단당류의 흡수 속도 감소(Wolever, 1990)등의 이론이 보고되고 있다. C3GHi 쌀 품종은 흑진주벼와 수원425호를 교배하여 미강내의 색소 성분 함량을 증대시킨 것으로 당질의 함량에서 일반흑미와 큰 차이를 보이지 않을 것으로 평가되기 때문에 C3GHi 쌀의 상대적으로 낮은 혈당지수는 당질의 구성 차이보다는 소장내에서의 당류 흡수에 영향을 주는 성분이 포함될 가능성이 높을 것으로 평가된다.

시료 섭취 후 30분을 기준으로 하여, 혈당상승기에 해당하는 포도당의 왼쪽면적에 대한 시료의 왼쪽면적의 비율(LAR)과 혈당감소기에 해당하는 포도당 오른쪽 면적에 대한 시료의 오른쪽 면적의 비율(RAR)을 산출한 결과, C3GHi 쌀이 가장 적은 면적을 나타내었다. 각 시료(WR, BR, C3GHi)의 최고 혈당값 및 최고 혈당값을 나타내는 시간을 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 최고 혈당값은 포도당 산출보다 각각 43.4, 36.0, 45.4 mg/dl 감소된 수치를 나타내었고, C3GHi 쌀군이 가장 낮은 값을 보였다. 최고 혈당값을 나타낸 시간은 일반흑미(BR) 섭취군을 제외한 모든 군에서 포도당보다 늦어지는 것으로 관찰되었으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 각 실험군의 최고 혈당값은 포도당이 186.1 mg/dL에 대비해 각 시험군은 모두 낮은 값을

나타내었으며, C3GHi 군이 140.7 mg/dL로 가장 낮은 최고 혈당값을 보였으나 각 군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. C3GHi 쌀 품종은 일반 쌀 및 흑미에 비해서 낮은 혈당지수를 나타내었고, 비록 유의적 차이는 나타나지 않았으나 최고 혈당값과 최고 혈당값을 나타내는 시간이 늦추어진 것으로 판단할 때 당뇨병 질환자들의 식사 대용식의 유용한 소재로서의 가능성을 나타낸 것으로 판단된다.

db/db mice에서 C3GHi 쌀의 혈당 조절 효과

제2형 당뇨의 대표적 동물모델인 C57BL/ksj(BL/Ls) homozygous diabetic (db/db) mice는 4번 염색체의 leptin 수용체 유전자의 돌연변이를 통해 당뇨가 유발되며, 인슐린 비의존성 당뇨 모델로서 많은 연구가 진행되고 있다(Park, 2004). C3GHi 쌀 추출물을 섭취시킨 db/db 마우스의 6주간의 체중 변화는 Table 4와 같이 나타났다. 대조군의 경우 미세한 체중증가 현상을 나타내었지만, Metformin군과 C3GHi 쌀 추출물 섭취군에서는 체중의 증가 현상은 보이지 않았다. 또한, 시험기간동안 각 군의 평균 사료 섭취량을 산출한 결과 대조군에 비하여 C3GHi 쌀추출물 섭취군에서는 통계적으로 유의한 사료 섭취량의 증가가 나타났다. C3GHi 쌀 추출물 섭취군에서 사료 섭취량의 증가에도 불구하고 체중증가가 나타나지 않은 것은 C3GHi 쌀 추출물이 체내 영양소 대사에 활성화하여 체중증가를 방지하는데 기여하는 것으로 판단되었다.

혈당의 측정은 실험전부터 6주간 1주 간격으로 총 7회 측정하여 분석하였으며, 그 결과를 Table 5에 나타내었다. db/db mice는 당뇨 유발 동물로서 시험기간동안 혈당이 지속적으로 상승하는 모습을 나타내었다. 또한, 0주, 1주 및 2주의 혈당은 각 군간의 유의적 차이가 나타나지 않았으며, 3주차부터 Metformin 군이 대조군에 비하여 유의적으로 낮은 혈당치를 보여주기 시작하였다. 시료 투여군에서는 고용량을 투여한 G2 군이 5주차부터 대조군에 비하여 유의적으로 낮은 혈당치를 보이기 시작하였으며, 저용량 투여군인

Table 3. Peak value and time of blood glucose level of C3GHi rice and other rice.

Group	Peak value(mg/dl)	Peak time(min)
glucose	186.1±24.5	39.5±13.9
WR ¹⁾	142.7±19.2	48.3±19.5
BR ²⁾	150.1±12.3	35.0± 7.5
C3GHi	140.7±18.1	46.7±23.0

¹⁾ Ilpumbyeo

²⁾ Heugjinjubyeo

Table 4. Change of body weight and food intake of C3GHi rice extract.

	Initial Body Weight(g)	Final Body Weight(g)	Food Intake(g/day)
Control	37.1±3.7 ^a	39.4±4.8 ^a	4.51±0.46 ^a
Metformin	39.0±1.7 ^a	38.3±4.2 ^a	4.02±0.81 ^a
G1 ¹⁾	39.4±7.5 ^a	37.4±10.9 ^a	5.26±0.44 ^b
G2 ²⁾	39.5±4.1 ^a	39.6±4.0 ^a	5.61±0.64 ^b

Means with same alphabets within a column are significantly not different at $p < 0.05$

¹⁾ Low dose group (10 mg/kg body weight)

²⁾ High dose group (100 mg/kg body weight)

Table 5. Effects of C3GHi rice extract on changes in blood glucose level in *db/db* mice.

Group	weeks						
	0	1	2	3	4	5	6
Control	298.3±4.2 ^a	311.4±8.9 ^a	382.2±11.9 ^a	414.5±9.3 ^a	466.8±14.6 ^a	512.0±12.9 ^a	572.8±15.1 ^a
Metformin	289.6±5.3 ^a	293.2±10.7 ^a	299.7±14.3 ^b	326.4±10.2 ^b	411.8±21.8 ^b	430.1±18.4 ^b	441.8±14.6 ^b
G1 ¹⁾	295.2±4.8 ^a	301.0±5.8 ^a	341.2±10.4 ^a	374.6±13.8 ^a	436.4±15.4 ^a	477.4±13.5 ^a	507.3±19.2 ^c
G2 ²⁾	294.4±4.6 ^a	295.4±6.3 ^a	335.4±8.5 ^b	364.7±11.8 ^b	429.6±18.3 ^a	446.1±10.8 ^b	483.5±8.9 ^c

Means with same alphabets within a column are significantly not different at $p < 0.05$

¹⁾ Low dose group (10 mg/kg body weight)

²⁾ High dose group (100 mg/kg body weight)

G1군은 6주에서 대조군과 유의적 차이를 나타내었다. 시료 투여군간의 비교에서는 4주차까지 유의성이 나타나지 않았으나 평균적으로는 더 낮은 혈당치를 보여주었고, 6주차에서는 G1과 G2 군간의 유의적인 혈당치 차이가 나타났다. 대조군을 기준으로 하여 혈당의 상승에 대한 억제율 (inhibition%)을 산출한 결과에서는 Metformin군은 3주차에서 22%에서 6주차에는 23%정도의 억제율을 나타내었으며, 이는 Metformin을 투여하여 *db/db* mice 모델에서 혈당 억제율을 측정된 Kim 등(2006)의 보고에서 나타난 20~25% 정도의 혈당 상승 억제율과 유사한 결과를 보였다. 또한, 저용량 투여군(G1)에서는 3주차에 10%정도에서 6주차 12% 정도로 약 10~12%정도의 억제율을 나타내었다. 고용량 투여군(G2)에서는 3주차 13%에서 6주차 17%까지의 억제율을 나타내어 크지는 않으나 C3GHi 쌀 추출물에 대해서 농도 의존적인 모습을 보여주는 것으로 사료된다. 저해율측면에서 C3GHi 쌀 추출물은 비록 양성 대조군인 Metformin에 비하여 낮은 모습을 보여주었으나 C3GHi 쌀이 매일 섭취하는 주식 개념의 작물인 쌀임을 고려 할 때 원물을 이용하여 당뇨로 인한 혈당 상승을 억제하여 당뇨 환자용 식사 대용식으로의 개발 가능성이 높다고 할 수 있으며 또한, C3GHi 쌀 추출물을 이용한 당뇨 환자용 기능성 소재로의 개발도 가능하리라 판단된다.

C3GHi 쌀 추출물이 혈중 insulin농도에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 6주간의 시험 기간이 종료 한 후 혈중의 insulin 농도를 조사한 결과는 Fig. 2와 같이 나타났다. 혈중 insulin 농도는 대조군에 대비하여 Metformin군과 G1, G2 군에서 증가하는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 나타내지 못하였다. C3GHi 쌀 추출물 섭취로 인해서 혈당의 증가가 억제되고는 있으나 insulin의 유의적 차이가 나타나지 않음으로 인하여 C3GHi 쌀 추출물은 insulin의 합성이나 분해에 영향을 주지 못하는 것으로 판단되며, C3GHi 쌀 추출물 투여로 혈당의 증가폭이 억제되는 것은 insulin의 체내 감수성에 영향을 주어 혈당의 조절이 이루어졌던 것으로 판단된다.

STZ 유도 당뇨 모델에서 C3GHi 쌀의 항당뇨 효능

Streptozotocin(STZ)는 췌장의 beta-cell을 선택적으로 파괴하여 인슐린 분비를 억제함으로써 당뇨와 동일한 증상을 유도하면서 동시에 다른 장기에는 거의 영향을 주지 않는 것으로 보고된 약물로서 동물 모델에서 당뇨 유발제로서 많이 활용이 되고 있다. STZ로 당뇨가 유도 된 동물에게서 C3GHi 쌀이 함유된 식이를 섭취 시키면서 나타나는 혈당의 변화는 Table 6과 같이 나타났다.

STZ의 투여는 활성산소종에 대한 감수성을 높여 산화적

스트레스로 인해 조직 손상을 주는 물질인 hydrogen peroxide 등이 증가되고, 증가된 활성산소종이 beta-cell을 파괴하여 당뇨병 증상을 보이는 것으로 보고하고 있다 (Reddi & Bollineni, 2001). 따라서, 항산화 활성이 우수한 시료의 투여는 STZ로 인해 유도되는 당뇨 증상을 경감시킬 수 있을 것으로 생각된다. STZ로 당뇨가 유도된 실험동물의 혈당은 시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 양상을 보였으며, C3GHi 쌀을 함유한 식이를 섭취한 실험동물은 대조군에 대비하여 혈당의 증가가 완만한 상승세를 보였으며, 2주 후부터 대조군 대비 유의적인 혈당량 감소 결과를 나타내었다(p<0.05). 일반 쌀의 현미를 섭취 한 실험군에서는 평균적으로 백미 투여군에 비하여 낮은 혈당 증가세를 보였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다. C3GHi 쌀 현미를 섭취한 실험동물에게서 혈당의 증가가 완만하게 나타난 결과는 db/db 동물 모델에서의 결과와 동일한 영향을 보인 결과였으며, C3GHi 쌀의 낮은 혈당지수를 바탕으로 섭취시

즉각적인 혈당의 상승을 억제할 뿐만 아니라 장기적인 섭취 시에도 혈당 증가를 억제하여 당뇨 증상을 완화시키는 결과를 나타낼 수 있을 것으로 추측되어 기능성 소재 또는 기능성 식사 대용식으로서의 개발 가능성이 높다고 예상된다.

당뇨가 유발되었을 경우 신체 조직에서 산화적 손상이 증가하는 것으로 보고가 되었으며, 이는 생체막 지질에서 phospholipase A2, mixed functional oxidase 등의 활성 산소 생성계의 활성화나 항산화계의 약화가 발생하는 것에 기인한 것으로 알려져 있다(Yang *et al*, 1998). 또한, 산화적 손상이 당뇨 합병증의 중요한 원인임이 규명되어 있다. 따라서 당뇨 질환자에게서 산화적 손상을 억제하는 것은 매우 중요한 사항이라 할 수 있다. STZ로 당뇨를 유발시키고 3주간 C3GHi 쌀을 섭취한 실험동물에게서 간 조직상에서의 산화적 손상의 지표인 malondialdehyde를 정량한 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다. STZ로 당뇨가 유발된 실험동물에서 혈장 MDA의 수치는 백미만을 섭취한 군에 비하여

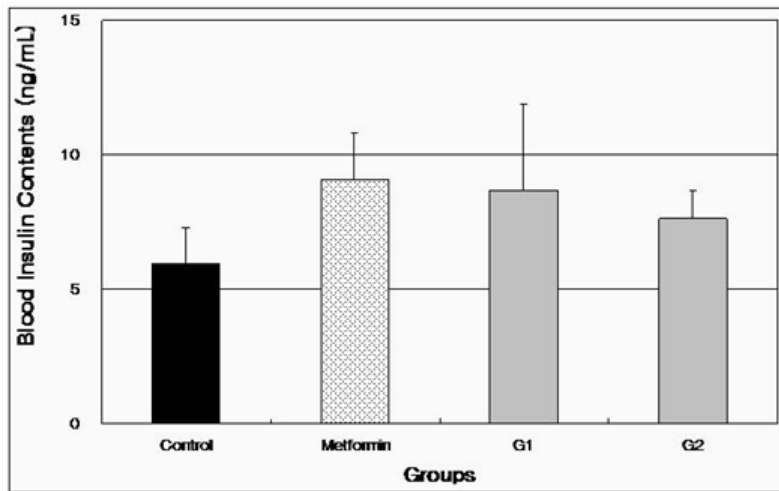


Fig. 2. Effect of C3GHi rice extract on blood insulin level in db/db mice model. G1 : C3GHi extract low dose group (10 mg/kg body weight), G2 : C3GHi extract high dose group (100 mg/kg body weight)

Table 6. Effects of C3GHi rice extract on changes in blood glucose level in STZ-induced diabetic rats.

Group	weeks			
	0	1	2	3
D-W ¹⁾	428.3±41.4 ^a	508.4±63.2 ^a	589.2±78.79 ^a	631.7±97.0 ^a
D-B ²⁾	417.2±38.2 ^a	492.3±54.8 ^a	541±73.1 ^a	529.3±62.3 ^a
D-C ³⁾	430.1±45.2 ^a	466.3±28.9 ^a	482.4±60.2 ^b	486.3±48.2 ^b

Means with same alphabets within a column are significantly not different at p<0.05

- 1) White rice group with diabetics induced by streptozotocin
- 2) Black rice group with diabetics induced by streptozotocin
- 3) C3GHi rice group with diabetics induced by streptozotocin

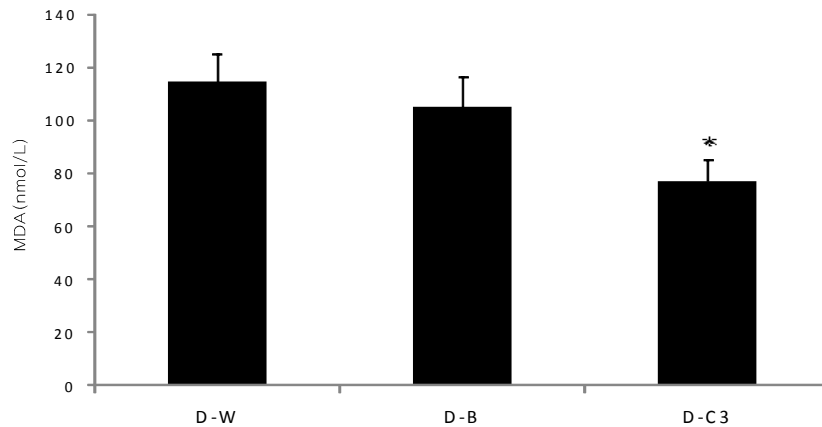


Fig. 3. Effect of C3GHi rice extract in plasma malondialdehyde contents in STZ-induced diabetic rats. (* : $p < 0.05$, compared with D-W group) D-W : White rice group D-B : Black rice group, D-C3 : C3GHi rice group.

C3GHi 쌀을 섭취한 실험동물의 MDA가 통계적으로 유의하게 낮은 수치를 나타내었다($p < 0.05$). 반면에 일반 벼의 현미만을 섭취한 실험군은 백미를 섭취한 군에 비하여 낮은 평균값을 나타내지는 않았다. C3GHi 쌀은 앞서의 결과에서와 같이 높은 항산화력을 가지는 C3G의 함량이 매우 높아 일반쌀에 비하여 매우 높은 항산화력이 나타나는 것으로 확인되었다. 따라서 STZ로 당뇨가 유도된 실험동물에게서 나타나는 산화적 스트레스에 높은 항산화력을 기반으로 하여 스트레스를 경감시킴으로 인해 산화적 손상을 경감시켜 당뇨 합병증을 예방하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

C3GHi 쌀 품종은 흑진주벼와 수원425호를 교배조합으로 하여 색소 성분인 cyanidine-3-glucoside(C3G)의 함량을 비약적으로 증대시킨 품종이다. C3GHi 벼품종을 활용하여 기능성 제품 및 소재로의 개발 가능성을 타진하기 위하여 본 연구에서는 C3GHi 벼품종의 항산화 활성 및 항당뇨 기능의 검증을 수행하였다.

1. C3GHi 벼품종의 항산화 활성을 비교 분석한 결과에서 C3GHi는 일반 벼 및 흑진주벼보다 매우 우수한 항산화 활성을 가진 것으로 나타났으며, 대표적 항산화 소재인 glutathione과 유사한 활성을 나타내었다.
2. C3GHi 벼품종의 혈당지수를 인체 시험을 통해서 산출한 결과에서도 일반 현미나 백미에 비해서 15%정도 낮은 혈당지수를 나타내 당뇨 환자들의 식사 대용식의 소재로서 활용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

3. *db/db* mice 모델 및 STZ를 통해 당뇨병을 유발한 동물 모델에서 C3GHi 쌀추출물 및 C3GHi쌀 현미의 동결건조 분말이 혈당 상승을 막고, 산화적 손상을 억제하는 것으로 나타났다.
4. 이상의 결과에서 C3GHi쌀은 낮은 혈당지수 및 항산화 활성, 항당뇨 활성 등을 보유하고 있어 이후 당뇨 환자용 기능성 식사 대용식 및 기능성 식품 원료로서의 개발 가능성이 높다고 판단된다.

사 사

본 연구는 농림기술개발사업(ARPC) 연구비 지원에 의해서 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다(과제번호:108096-03-1-HD110)

참고문헌

- American diabetes Association. 1987. Nutritional recommendations and principles for individuals with diabetes melitus. *Diabetes Care*. 10:126-132.
- Bates, S.H., R.B. Jones and C.J. Bailey. 2000. Insulin-like effect of pinitol. *Br. J. Pharamcol.* 130:1944-1948.
- Bulkley, G,B. 1983. The role of oxygen radicals in human disease process. *Surgey*. 94:407-411.
- Chou, T.W., C.Y. MA, H.H. Cheng, Y.Y. Chen and M.H. Lai. 2009. A rice bran oil diet improves lipid abnormalities and suppress hyperinulinemic response in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 45:29-36.
- Hong, S.G., M.Y. Lee, Y.S. Yoon, B.J. Kang, D.W. Kim and

- D.W. Cho. 1999. Reinforcement of antioxidative potentials by Korean traditional prescriptions on mouse plasma and liver. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 31:1661-1666.
- Jang, Y.S., J.H. Lee, O.Y. Kim, H.Y. Park and S.Y. Lee. 2001. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentration in patients with coronary artery disease: randomized controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 21:2065-2071.
- Jenkins, D.J., T.M. Wolever, R.H. Taylor, H. Baker, H. Fielden, J.M. Baldwin, A.C. Bowling, H.C. Newman, A.L. Jenkins and D.V. Goff. 1981. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:362-366.
- Jenkins, D.J.A., T.M.S. Wolever and A.L. Jenkins. 1988. Starchy foods and glycemic index. *Diabetes Care.* 11:149-159.
- Kiehm, T.G. 1976. Beneficial effect of high carbohydrate fiber diet on hyperglycemic diabetic men. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:895-899.
- Kim, H.S. and M. Choe. 2005. Hypoglycemic effect of *Paecilomyces japonica* in NIDDM patients. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 34:821-824.
- Kim, J.H. 2002. What is Impaired glucose tolerance. *Monthly Diabetics.* 151:54-55.
- Kim, M.J., H.J. Ahn, K.H. Choi, Y.H. Lee, G.J. Woo, E.K. Hong and Y.S. Chung. 2006. Effects of pine needle extract oil on blood glucose and serum insulin levels in db/db mice. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 35:321-327.
- Kim, N., H.K. Jung, M.J. Park, S.J. Kim, S.H. Kim, J.W. Choi and J.S. Lee. 2005. Effects of *Fomes fomentarius* extract on blood glucose, lipid profile and immune cell in streptozotocin-induced diabetic rats. 34:825-832.
- Lee, J.S., J.S. Lee, C.B. Yang and H.K. Shin. 1997. Blood glucose response to so. acereals and determination of their glycemic index to rice as standard food. *Korean J. Nutr.* 30:1170-1179.
- Lee, Y.R., C.E. Kim, S.H. Nam and M.Y. Kang. 2006. Supplementary effect of giant embryonic rice on serum and hepatic lipid levels of streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean. J. Food. Sci. Technol.* 38:562-566.
- Murklund, S. and G. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the auto-oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *J. Biochem.* 47:469-44.
- O'Brien, R.M. and D.K. Granner. 1996. Regulation of gene expression by insulin. *Physiol. Rev.* 76:1109-1161.
- Park, I.S. 2004. Blood glucose related efficacy test: The efficacy test guideline for health functional food (I). *Korea Food & Drug Administration.* p 179-215.
- Park, Y.S., H.K. Lee, S.Y. Kim, C.S. Koh, H.K. Min, C.G. Lee, M.Y. Ahn, Y.I. Kim and T.S. Shin. 1996. Risk factor for non-insulin dependent diabetes mellitus. *J. Korean. Diabetes. Assoc.* 20:14-24.
- Reaven, G.M. 1988. Role of insulin resistance in human diseases. *Diabetes.* 37:1597-1607.
- Reddi, A.S. and J.S. Bollineni. 2001. Selenium-deficient diet renal oxidative stress and injury via TGF-beta 1 in normal and diabetic rats. *Kidney Int.* 59:1342-1353.
- Ryu Su Noh, 2004. Rice cultivar C3GHi, American Patent 10-770567.
- Ryu Su Noh, 2007a. Breeding Method of C3GHi Varieties, Korean Patent 10-0687311호.
- Ryu Su Noh, 2007b. Rice Seed of highly content with C3G pigment, Japan Patent, 3886499.
- Tomohiro, N., F. Kitatani and A. Yagi. 1994. A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by murine bacterial from fish and shellfish. *Biol. Biotech. Biochem.* 58:1780-1782.
- Wolever, T.M. 1990. Relationship between dietary fiber content and composition in foods and the glycemic index. *Am. J. Clin. Nutr.* 51:72-75.
- Yagi, K. 1976. A simple fluorometric assay for lipid peroxide in blood plasma. *Biochem. Med.* 26:8227-8235.
- Yang, J.H. and J.S. Han. 2006. Effect of mulberry leaf extract supplement on blood glucose, glycated hemoglobin and serum lipids in type II diabetic patients. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 35:549-556.
- Yang, K.A., S.O. Kim, J.H. Choi, S.J. Rhee and H.W. Chang. 1998. Activities of phospholipase A2, cyclooxygenase and thromboxane and syntheses prostacyclin in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 27:175-181.
- 통계청. (2002). 한국인의 사망원인. pp. 21-23.