

## 열처리 온도에 따른 현미 에탄올 추출물의 항산화 성분 및 활성 변화

곽지은 · 오세관<sup>†</sup> · 김대중 · 이정희 · 윤미라 · 김혜원 · 이점식

농촌진흥청 국립식량과학원

### Effects of Heat-treated Brown Rice on Total Phenolics and Antioxidant Activities

Jieun Kwak, Sea-Kwan Oh<sup>†</sup>, Dae-Jung Kim, Jeong-Heui Lee, Mi-Ra Yoon,  
Hye-Won Kim, and Jeom-Sig Lee

National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Gyeonggi-do 441-857, Korea

#### Abstract

In the present study, the effects of heat treatments on the phenolic components and antioxidative activities of various rice cultivars (from *Hwaseongbyeo*, *Keunnunbyeo*, *Hongjinjubyeo*, and *Heugkwangbyeo*) were investigated. Each brown rice cultivar was heated at six temperatures (40, 60, 90, 120, 150, and 180°C) for 15 min. The total polyphenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of 70% ethanol extracts from heated brown rice were quantified using spectrophotometrical methods, and antioxidant activities determined using DPPH, ABTS radical scavenging activities and reducing power. *Hongjinjubyeo* had the highest TPC (6.50 mg GAE/g, DB) and ABTS radical scavenging activity (5.85 AAE/g, DB) at 60°C. Also, *Heugkwangbyeo* showed considerable values for TPC (6.57 and 6.89 mg GAE/g, DB) and ABTS radical scavenging activity (6.29 and 6.11 AAE/g, DB) at 40°C and 180°C, respectively. Overall, the antioxidant activities of both *Hongjinjubyeo* and *Heugkwangbyeo* extracts had a strong positive correlation ( $R^2 \geq 0.916$ ,  $\alpha=0.01$ ) with TPC and TFC. These results indicate that heat treatment effectively enhances the antioxidant activity of *Hongjinjubyeo* and *Heugkwangbyeo*.

**Key words:** brown rice, heat treatment, total polyphenol, total flavonoid, antioxidant activity

#### 서 론

쌀(*Oryza sativa* L.)은 우리나라를 비롯한 아시아, 아프리카 및 미주지역에서 오랫동안 주요 에너지 공급원으로 소비되어지고 있는 주요 작물이며 최근에는 쌀의 미강 및 배아에 phenolic acid, tocopherol, phytic acid, oryzanol 등의 유용한 성분들이 분포되어 있음에 주목하여 쌀을 도정하지 않은 현미(whole grain)의 형태로 소비하려는 노력이 이루어지고 있다. 현미 호분층에 폴리페놀 화합물이 다량 함유되어 있는 적갈색과 흑자색 계통의 유색미는 일반미에 비해 높은 항산화 활성을 가지고 있어 일반미보다 산화적 손상에 대한 방어효과가 우수한 것으로 알려져 있다(1). 종자의 바깥층을 싸고 있는 껍질 부분은 색을 나타낼 뿐 아니라 세균, 농약, 포식자로부터 방어를 하기 위한 수단으로써 페놀화합물을 다량 함유하고 있으며(2), 식물체에 존재하는 페놀화합물은 체내에서 생성되는 라디칼을 환원시켜 활성산소에 의해 발생하는 노화, 암 및 동맥경화 등의 질병을 억제하는 것으로 알려져 있다(3). 따라서 근래에는 쌀의 기능성에 대한 소비자의 관심이 높아짐에 따라 기능성이 강화된 유색미의 수요

가 증가되었을 뿐 아니라 유색미의 산업적 이용성을 높이기 위한 다양한 시도들이 이루어지고 있는데, 소화를 돕고 식감을 향상시키기 위하여 개발된 발아현미를 이용한 항산화 작용 관련 연구 결과가 보고된 바 있다(4).

열처리 가공법은 과채류의 vitamin C 함량을 감소시키는 단점이 있지만 식품의 저장수명을 연장하고 품질을 향상시키기 위한 목적으로 이용되어 왔는데, 열처리가 일어나는 동안 식물체 내의 이화학적 변화에 의하여 페놀성 화합물이 증가된다는 연구 결과(5)가 보고됨에 따라 현재에는 다양한 소재에 대하여 열처리가 시도되고 있다(6-8). Turkmen 등(9)에 따르면 7가지 녹색채소를 대상으로 boiling, steaming, microwaving 등의 다양한 열처리를 하였을 때 채소의 종류 및 열처리 방법에 따라 총 폴리페놀 함량이 다르게 변화하였으며, 증가된 총 폴리페놀의 함량은 항산화 활성과 양의 상관관계가 있음을 보고한 바 있다. 식물의 경우 종에 따라 폴리페놀이 결합되어 있는 방식이 다르고 열처리 방법이나 열처리 온도에 따라 생리활성 성분 및 효과가 달라지므로 각 대상에 따른 효율적인 열처리 방법의 연구 및 검토가 필요하나 아직까지 열처리를 통한 유색미의 항산화 물질 함량

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: ohskwan@korea.kr  
Phone: 82-31-290-6722, Fax: 82-31-290-6730

변화에 대한 연구는 미비한 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 폴리페놀을 다량 함유하고 있는 유색미를 대상으로 가열처리 온도를 다르게 하여 총 폴리페놀, 총 플라보노이드의 함량 및 항산화 활성에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 시료는 2010년에 농촌진흥청 국립식량과학원에서 생산된 화성벼(*Hwaseongbyeo*), 큰눈벼(*Keunmunbyeo*), 홍진주벼(*Hongjinjubyeo*) 및 흑광벼(*Heugkwangbyeo*)를 사용하였으며 4°C 저온 저장고에 저장하면서 실험에 사용하였다. 홍진주벼는 적색이면서도 폴리페놀 등의 기능성 물질이 다량 함유되어 있는 품종이며, 흑광벼는 안토시아닌 성분(C3G)이 증대된 흑미로서 혼반용 및 가공용 원료로 사용되고 있다. 2005년에 개발된 큰눈벼는 일반벼에 비해 쌀눈이 3배 가량 커서 뇌세포간의 신경전달물질인 GABA( $\gamma$ -amino butyric acid)를 3~5배 포함하는 특수미로 알려져 있는 품종이며, 화성벼는 대조품종으로 사용되었다(10).

### 시료의 열처리

네 가지 품종의 정조를 동일한 조건으로 제현기(Model SY88-TH, Ssangyong Ltd., Incheon, Korea)를 이용하여 현미를 만들었으며, 열처리를 하지 않은 대조군을 제외한 볶음시료는 각 품종별 현미 200 g을 교반기가 장착된 전기 자동 볶음기(JIS-E04, Bangatgan, Seoul, Korea)에 넣고 40, 60, 90, 120, 150 및 180°C로 15분간 볶음처리하여 사용하였다.

### 70% 에탄올 추출물 제조

볶음처리가 끝난 현미는 분쇄기(micro hammercuter mill, Type-3, MHK Trading Co., Bucheon, Korea)를 이용하여 80 mesh 크기로 분쇄하여 사용하였다. 분쇄한 시료는 70% 에탄올을 가한 뒤 상온에서 24시간 교반추출 하고 12,000 rpm으로 원심분리한 후, Whatman No.2(Whatman Co., Ltd., Maidstone, UK) 여과지에 여과하여 회전진공농축기(Model N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 40°C에서 감압농축 후, 동결건조(Modulyod-115, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)하여 그 수율을 계산하고 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

시료의 총 폴리페놀 함량은 Velioglu 등(11)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 정도를 측정하였다. 각 추출액 100  $\mu$ L에 2%(w/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  용액 2 mL를 첨가한 후 3분간 방치시키고 50%(w/v) Folin-Ciocalteu reagent 100  $\mu$ L를 가하였다. 이 반응액을 30분간 상온에서

방치한 후 750 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성한 후 시료 1 g 중의 mg gallic acid equivalent (GAE, dry basis)로 표시하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량을 측정하기 위하여 Zhishen 등(12)의 방법을 약간 변형시켜 사용하였다. 각 추출액 250  $\mu$ L에 증류수 1.25  $\mu$ L와 5%  $\text{NaNO}_2$  용액 75  $\mu$ L를 가하였다. 이 반응액을 상온에서 5분간 방치한 후, 10%  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  용액 150  $\mu$ L를 가하여 다시 6분간 방치하고 1 M NaOH 500  $\mu$ L를 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. (+)-catechin hydrate를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성하였으며, 추출물의 총 플라보노이드 함량은 시료 100 g 중의  $\mu$ g (+)-catechin hydrate equivalent(CAE, dry basis)로 나타내었다.

### DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거능은 Tepe 등(13)의 방법에 따라 전자공여능(electorn donating ability, EDA)을 측정하였다. 시료 200  $\mu$ L에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL를 첨가하여 실온에서 30분 방치한 후, 520 nm에서 흡광도의 감소치를 측정하였다. 이때 EDA는 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

### ABTS cation decolorization assay에 의한 총 항산화력 측정

총 항산화력의 측정은 Re 등(14)의 방법에 따라 실시하였다. 7.4 mM의 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS)와 2.6 mM의 potassium persulfate 용액을 혼합하여 하루 동안 암소에 방치하여  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  이온을 형성시킨 후, 이 용액을 몰흡광계수( $\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )를 이용한 계산에 의하여 734 nm에서의 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 증류수를 이용하여 희석하였다. 희석된  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  용액 1 mL에 추출액 50  $\mu$ L를 가하여 60분 후에 흡광도의 변화를 측정하였으며, 표준물질로인 L-ascorbic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하였다. 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid-equivalent antioxidant capacity, mg AAE/g dry basis)로 표시하여 시료의 항산화력을 나타내었다.

### 환원력 측정

환원력은 Mau 등(15)의 방법에 따라 측정하였다. 추출물 250  $\mu$ L에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide를 각각 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 1% trichloroacetic acid(TCA, w/v)를 가하였다. 이 반응액을 1,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 상정액 500  $\mu$ L에 증류수 500  $\mu$ L, 0.1% ferric chloride 용액 100  $\mu$ L를 잘 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며 L-ascorbic acid를 표준물질로 하여 건조 시료 1 g 중의 mg

AAE(dry basis)로 환원력을 나타내었다.

통계분석

통계분석은 SPSS(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 분산분석을 실시한 후 Student's t-test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였으며, Pearson correlation analysis(p<0.01)를 이용하여 변수들 간의 상관관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

추출수율

본 연구에서는 유색미인 홍진주벼와 흑광벼, 거대배아미인 큰눈벼, 그리고 대조품종으로 사용된 화성벼 등 4품종에 대하여 70% 에탄올을 용매로 추출하였다. 70% 에탄올은 지용성 및 수용성 페놀 물질 모두를 효과적으로 추출할 수 있는 것으로 알려져 있고, 항산화성 물질의 분리 및 항산화 활성의 검색에 주로 사용되고 있으므로 본 실험에서 열처리를 통하여 변화가 예상되는 총 페놀 화합물의 함량 측정에 적합할 것으로 예상되어 선택되었다. 각 품종별(화성벼, 큰눈벼, 홍진주벼, 흑광벼) 현미에 대하여 70% 에탄올 추출 후 동결 건조 한 시료에 대하여 추출수율을 Table 1에 나타내었는데, 무처리군과 열처리군 모두에서 큰눈벼의 추출수율이 가장 높았고(3.21~4.39%), 그 다음 흑광벼(3.32~3.67%), 홍진주벼(2.79~3.11%)의 순이었으며 대조품종인 화성벼의 경우 가장 낮은 수율(1.92~2.22%)을 보였다. 무처리군에 대한 추출수율 결과는 다양한 벼 품종을 대상으로 본 연구와 동일한 70% 에탄올을 추출용매로 사용하였던 Kim 등(16)의 연구 결과에서와 유사했는데, 이것은 추출수율이 각 품종들 고유의 구성성분 및 이화학적 특성에 따르기 때문으로 생각된다. 큰눈벼의 경우 60°C로 열처리를 하였을 때 18%, 흑광벼와 화성벼는 40°C로 열처리를 하였을 때에 각 품종의 무처리군에 비하여 약 11%와 6%의 추출수율의 향상을 보였으며, 홍진주벼의 경우에는 온도변화에 따른 추출수율의 증가폭이 매우 작았다. 열처리 과정을 통하여 추출수율이 증가한 결과는 열처리를 하는 동안 용매인 70% 에탄올에 대한 가용 성분이 증가되었기 때문으로 판단되며, 배아의 크기가 일반벼에 비해 3배 이상 거대한 큰눈벼의 추출수율이 가장 높았던 이유는 아미노산, 비타민 및 필수 지방산 등의 성분이 상대

Table 1. Extract yield (%) of rice cultivars from different heating temperatures

Cultivar	Heating temperature (°C)						
	Control	40	60	90	120	150	180
<i>Hwaseong</i>	2.08	2.22	2.13	2.0	2.09	1.98	1.92
<i>Keunnun</i>	3.71	3.21	4.39	4.04	4.03	3.54	3.69
<i>Hongjinju</i>	3.09	3.06	3.11	2.79	2.93	2.82	2.81
<i>Heugkwang</i>	3.32	3.67	3.45	3.44	3.37	3.32	3.51

적으로 배아에 많이 집적되어 있기 때문인 것으로 사료된다.

총 폴리페놀 함량

열처리 온도를 달리 한 조건에서의 각 품종별 총 폴리페놀 함량의 측정 결과는 Fig. 1A와 같다. 대조품종인 화성벼는 1.44~1.51 mg GAE/g, 큰눈벼 1.56~1.92 mg GAE/g, 홍진주벼 5.09~6.50 mg GAE/g 및 흑광벼는 5.74~6.89 mg GAE/g의 총 폴리페놀 함량을 나타내어 안토시아닌 및 탄닌 계열 색소를 다량 함유하고 있는 유색미가 일반미에 비하여 3~5배 정도 높은 총 폴리페놀 함량을 보인다는 기존의 연구 결과(16)와 유사하였다. 대조품종인 화성벼에서는 온도처리에 대한 총 폴리페놀 함량의 변화가 적은 반면, 화성벼를 제외한 모든 품종의 시료에서는 열처리를 통하여 총 폴리페놀 함량의 변화를 나타내었는데, 흑광벼와 홍진주벼의 경우 열처리를 통하여 증가된 총 폴리페놀 함량값이 항산화력이 우수한 식품으로 알려져 있는 블루베리(5.60 mg GAE/g), 블랙베리(4.9 mg GAE/g)의 총 폴리페놀 함량(17)보다 더 높았다. 특히 홍진주벼의 경우 150°C를 제외한 모든 열처리 온도에서 무처리군에 비하여 높은 총 폴리페놀 함량을 보였으며 대부분 통계적 유의성이 있었다(p<0.05). 흑광벼의 경우에도 모든 열처리 온도 조건에서 무처리군에 비하여 총 폴리페놀의 함량이 증가되는 것으로 관찰되었으나, 특히 40

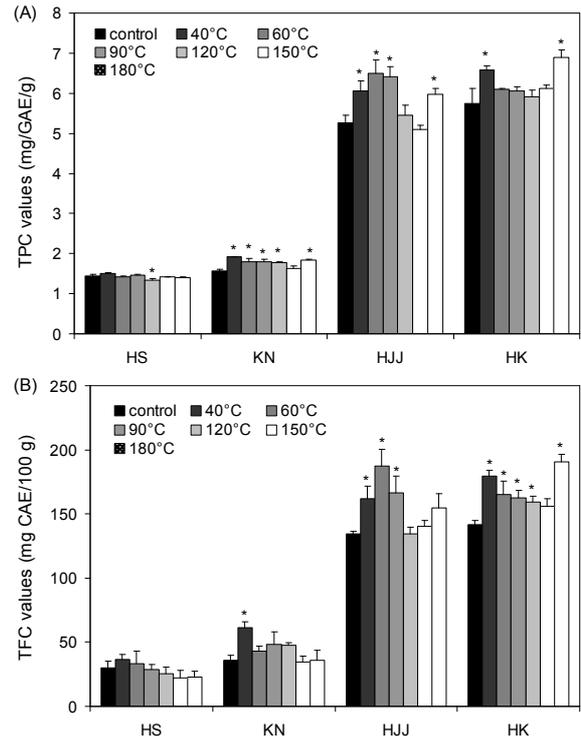


Fig. 1. TPC (total polyphenol content) (A), and TFC (total flavonoid content) (B) of ethanol extracts from various rice cultivars treated with different heating temperature. Bar data are expressed as mean±standard deviation (n=3) on a dry weight basis. HS, *Hwaseongbyeo*; KN, *Keunnunbyeo*; HJJ, *Hongjinju-byeo*; HK, *Heugkwangbyeo*. \*Significant difference compared to control group at p<0.05.

°C와 180°C의 열처리군에서 무처리군 대비 15%, 20%의 유의적인 증가율을 보였다. 흑광벼가 40°C에서 눈에 띄는 총 폴리페놀 함량의 증가를 보인 후 감소하는 경향을 보인 것은 40°C 정도의 낮은 온도에서 흑광벼 표면에 존재하는 페놀 화합물이 주위 조직과의 강한 결합으로부터 유리되기 시작하지만 열에 약한 폴리페놀 성분들은 50°C 이상의 온도에서 상당량 파괴되는 것으로 추측할 수 있다. 51종의 브랜드 쌀의 메탄올 추출물을 이용하여 열 안정성을 확인한 결과, 100°C에서 10분간 열처리 한 대부분의 시료에서 급격한 항산화 활성 감소를 나타냈다는 Sohn 등(18)의 연구나 100°C의 온도에서 가열한 쌀 왕겨 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 열처리 하지 않은 추출물에 비해 크게 증가하지 않았다는 Lee 등(19)의 연구에서 볼 수 있듯이, 식품을 소재로 열처리를 할 경우 열처리에 사용된 온도가 매우 중요한 요인으로 작용하는 것을 알 수 있다. 그리고 180°C의 온도에서 다시 총 폴리페놀의 함량이 확연히 증가한 것은 고온에서 흑광벼를 볶음처리 하는 동안 아미노산, 당 및 펩타이드 성분들이 Maillard reaction을 일으켜 총 폴리페놀 및 페놀 유사 화합물들을 생성한 것으로 보이며, 이러한 결과들은 땅콩 껍질(20)과 포도씨 가루(21)를 소재로 한 기존의 연구결과에서도 설명된 바 있으며 200°C의 오븐에서 찰흑미를 첨가하여 식빵을 베이킹 한 후에도 찰흑미의 항산화 효과가 관찰되었던 Kim과 Lee(22)의 연구를 통해서도 추측할 수 있다. 이 밖에도 치커리(23), 둥글레(24), 감국(25), 땅초(26) 등의 식물 소재들을 열처리 하였을 때 플라보노이드 및 탄닌 등의 항산화 물질이 증가된다는 연구들이 보고된 바 있는데, 이러한 결과는 다당류 및 올리고당과 강하게 ester 결합을 하고 있던 상당량의 고분자 폴리페놀류가 가열에 의하여 유리형의 폴리페놀 형태로 변환되었거나(27), 고분자의 페놀성 화합물이 높은 온도의 가열로 인하여 저분자의 페놀성 화합물로 전환되며 새로운 페놀성 화합물이 생성되었기 때문(28)으로 해석하고 있다. 한편 Grape seed flour에 대한 열처리 효과를 보고한 Ross 등(21)의 연구결과에 따르면 catechin 및 epicatechin이 120°C까지의 열처리에서는 비교적 안정적이었으나 150°C 이상에서는 온도에 비례하여 감소하였고, gallic acid 함량은 오히려 가열온도에 비례적으로 증가함을 보였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 열처리에 의한 총 폴리페놀 함량의 변화는 그 식품을 구성하고 있는 구성 페놀산의 열반응성에 따라 달라지는 것으로 예측할 수 있으며, 따라서 본 연구에서 쌀을 열처리 하였을 때 나타난 폴리페놀 함량의 변화를 정확히 규명하기 위해서는 각각의 열처리 된 시료들로부터 결합형, 유리형 페놀화합물을 추출하여 각 페놀산의 구성비를 비교해 보아야 할 것으로 생각된다. 또한 유색미인 홍진주벼와 흑광벼가 열처리 온도에 따라 총 폴리페놀 함량의 변화율에 있어 서로 다른 값을 보이는 것은 탄닌 성분을 주요 색소성분으로 하는 홍진주벼와 다양한 안토시아닌 색소로 이루어진 흑광벼의 품종간 변이에 따라 열

처리 조건에 대한 품종간의 반응이 다르기 때문인 것으로 생각된다. 이러한 연구 결과는 Pinto bean과 Black bean이 상압과 고압 조건에서 boiling 및 steaming 처리를 하였을 때 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, condensed tannin 및 monomeric anthocyanin 함량에 있어 품종간 변이를 나타내었던 Xu와 Chang(27)의 연구에서도 확인할 수 있었다.

#### 총 플라보노이드 함량

플라보노이드는 쌀에서의 대표적인 폴리페놀 화합물로 anthocyanidines, flavonols, flavones, catechins flavanones 등과 함께 자연계에 널리 존재하는 물질이다. 열처리 온도에 따른 추출물들의 총 플라보노이드 화합물의 함량은 Fig. 1B와 같으며, mg catechin equivalents(CAE)/100 g dry basis로 나타내었다. 추출물들의 총 플라보노이드 함량은 유색미인 홍진주벼(134.35~187.08 mg CAE/100 g), 흑광벼(141.75~190.79 mg CAE/100 g)에서 화성벼(22.17~36.51 mg CAE/100 g)보다 최대 8배 이상의 높은 함량을 보였다. 화성벼와 큰눈벼에서는 40°C에서 1.2~1.7배의 플라보노이드 함량의 증가를 보인 후 그 이상의 가열 온도에서는 함량이 감소하는 경향을 보였고, 홍진주벼에서는 60°C에서 무처리군에 비하여 40% 정도의 유의적인 플라보노이드 함량의 증가를 보인 후 처리 온도가 증가할수록 감소하였는데, 이러한 변화는 열에 약한 페놀 화합물들이 온도가 증가함에 따라 쉽게 파괴되기 때문으로 생각된다(20). 또한 흑광벼는 모든 열처리군에서 무처리군에 비해 높은 플라보노이드 함량의 증가를 보였고, 홍진주벼에서와 마찬가지로 40°C의 열처리 온도에서 약 35%의 상당한 플라보노이드 함량의 증가를 보였다가 40°C 이상의 온도에서는 함량이 다소 감소하는 경향을 보였다. 그러나 180°C의 높은 온도 조건에서는 흑광벼에서의 총 플라보노이드 함량이 190.79 mg CAE/100 g까지 증가하여 모든 시료군 중 가장 높은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 열처리에 의해 총 폴리페놀의 함량이 증가한 것처럼 용해도가 낮은 플라보노이드 화합물이 비교적 낮은 온도의 열처리에 의하여 쉽게 용해되었기 때문으로 생각된다. 또한 Woo 등(29)의 연구결과에 따르면 약용식물로 사용되고 있는 톱풀과 울릉미역취의 어린잎을 대상으로 가압열처리 한 경우 수확 직후 처리한 시료에 비하여 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 3배 이상 감소하였고, DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 등의 항산화 활성 또한 크게 감소하였음을 보고하였다. 따라서 본 연구에서 벼의 품종과 가열온도에 따라 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드의 함량이 다르게 변화하는 이유 또한 품종마다 서로 다른 성분 조성을 가지고 있고 이 성분들이 열에 의해 각기 다르게 반응하며 열에 대한 안정성이 다르기 때문인 것으로 보인다.

#### DPPH 라디칼 소거능 활성

열처리 온도에 따라 변화를 보인 항산화 물질이 항산화 활성에 변화를 주는지 확인하기 위하여 원리와 민감도가 다

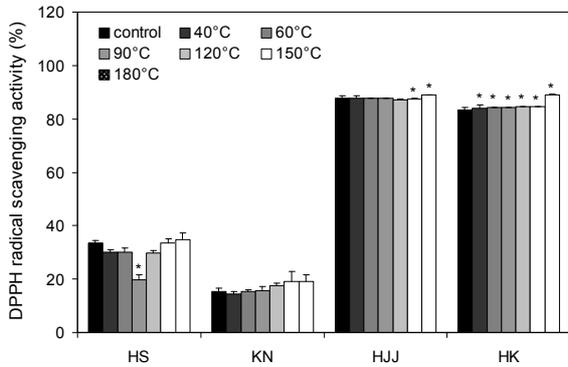


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of ethanol extracts from various rice cultivars treated with different heat temperature. Bar data are expressed as mean±standard deviation (n=3) on a dry weight basis. HS, *Hwaseongbyeo*; KN, *Keunnunbyeo*; HJJ, *Hongjinbyeo*; HK, *Heugkwangbyeo*. \*Significant difference compared to control group at p<0.05.

른 다양한 방법으로 항산화력을 분석하였다. 시료의 전자공여능 측정을 통하여 항산화력을 나타내는 DPPH 라디칼 측정 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 기존의 연구에 의하면 홍진주벼, 흑광벼 등의 유색미는 과피에 포함되어 있는 색소 성분에 의하여 일반벼에 비해 높은 항산화력을 나타내는 것으로 알려져 있다(10). 본 연구에 사용된 홍진주벼와 흑광벼 무처리군 또한 87.7%, 83.4%의 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 보여주었고 이 값은 180°C로 열처리 하였을 때 각각 89%, 85.5%로 유의성 있게 증가하였다(p<0.05). 그러나 화성벼를 제외한 품종에서는 DPPH 활성에 대하여 변이가 적었으며, 큰눈벼의 경우에도 열처리 온도에 따른 DPPH 라디칼 소거능 변화에 있어 유의적인 의미가 없었다. 실험에 사용된 다양한 쌀 품종들에서 관찰된 열처리 온도에 따른 항산화력의 차이는 현미의 호분층에 존재하는 것으로 알려진 플라보노이드를 비롯한 폴리페놀 화합물이 유리되는 정도에 따라 다른 것으로 사료된다.

ABTS cation decolorization assay에 의한 총 항산화력 측정

항산화 활성을 측정하는 데에 있어 DPPH 라디칼 소거능 측정법이 간편하고 빠른 방법이기도 하나 DPPH 라디칼이 빛, 온도 및 pH에 민감한 단점을 가지고 있으므로 비교적 안정한 라디칼을 이용하는 방법인 ABTS cation decolorization assay 방법을 이용하여 항산화 활성을 검색하였다. ABTS cation decolorization assay 법은 총 항산화력을 측정하는 방법으로 potassium persulfate와 반응하여 형성된 짙은 청록색의 ABTS cation 라디칼이 시료의 항산화물질에 의하여 소거되어 탈색되는 정도를 측정하는 방법이다. 이 방법은 hydrogen-donating antioxidants와 chain breaking antioxidants 모두를 측정할 수 있고 aqueous phase와 organic phase 모두에 적용이 가능하며 표준물질의 사용으로 추출물간의 상대비교가 가능하다는 장점을 가지고 있다(30). 본 실험에서는 수용성 물질인 ascorbic acid를 사용하여 항

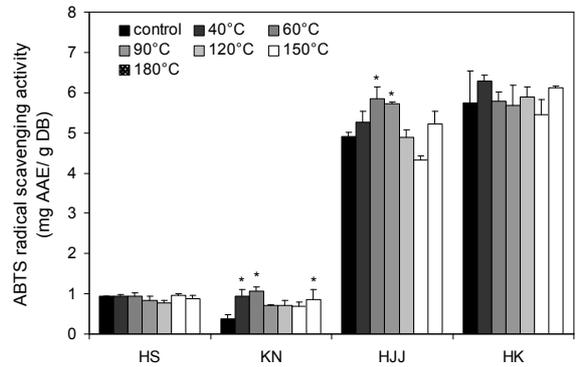


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of ethanol extracts from various rice cultivars treated with different heat temperature. Bar data are expressed as mean±standard deviation (n=3) on a dry weight basis. HS, *Hwaseongbyeo*; KN, *Keunnunbyeo*; HJJ, *Hongjinbyeo*; HK, *Heugkwangbyeo*. \*Significant difference compared to control group at p<0.05.

산화력을 측정하여 Fig. 3에서와 같이 AEAC 값(mg ascorbic acid/g, dry basis)으로 산출하였다. 큰눈벼와 홍진주벼의 경우에는 DPPH 라디칼을 이용한 방법보다 ABTS 라디칼을 이용한 분석법에서 처리온도 간 차이를 더 잘 보여주었으며, 두 품종 모두 60°C 열처리군에서 유의적으로 높은 ABTS 활성을 나타내었다. 반면 흑광벼는 40°C와 180°C에서 비교적 높은 ABTS 활성을 나타내었으나 처리온도에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았고 화성벼의 결과에서도 유의적인 차이가 없었다. 쌀 관련 소재에 대한 열처리 연구에는 Lee 등(31)과 Lee 등(19)의 연구가 있는데, Lee 등(31)의 연구에서는 볶음 조건 및 침출 시간을 달리하여 제조한 발아벼차에서 볶음 온도와 시간이 증가할수록 발아벼 침출차에서의 총 항산화력이 증가하였다고 하였고, Lee 등(19)의 연구에서는 쌀의 왕겨를 far-infrared radiation(FIR) 처리하여 메탄올로 추출하였을 때 일반 오븐을 이용하여 열처리하였을 때보다 높은 항산화력을 가지는 것은 물론 다양한 페놀릭 구성 성분을 나타냈다고 하였다. 이러한 연구 결과와 본 연구 결과를 종합하여 볼 때 식품에 존재하는 결합형의 페놀 화합물을 효과적으로 유리시켜 높은 항산화력을 얻기 위해서는 효율적인 열처리 방법을 이용하고 식품 형태 및 성분에 적합한 열처리 온도와 시간 등 조건에 대한 사전조사가 중요하다는 것을 알 수 있다.

환원력 측정

환원력은 활성산소종이나 유리기에 전자를 공여하는 능력을 측정함으로써 항산화 활성을 평가하는 방법(32)인데 본 연구에서는 ABTS 라디칼 소거능에서와 같이 ascorbic acid를 표준물질로 하여 환원력에 대한 AEAC 값(mg ascorbic acid/g, dry basis)을 산출하였다. 환원력의 측정 결과는 Fig. 4에서와 같이 홍진주벼의 활성이 가장 높았는데, 특히 90°C로 열처리 하였을 때에 환원력이 가장 많이 증가하였으며 90°C보다 더 높은 온도로 가열하였을 때에는 환원력이 급격히 감소하여 열처리를 하지 않은 무처리군보다 낮은 항

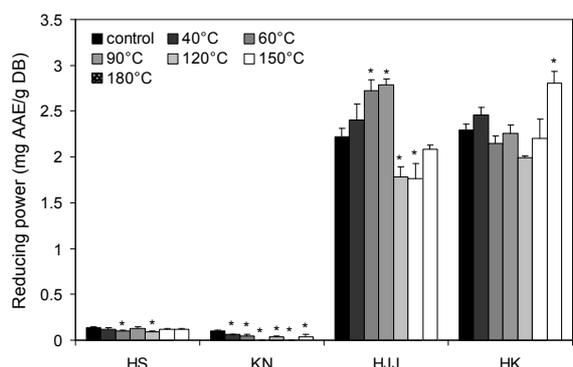


Fig. 4. Reducing power of ethanol extracts from various rice cultivars treated with different heat temperature. Bar data are expressed as mean±standard deviation (n=3) on a dry weight basis. HS, *Hwaseongbyeo*; KN, *Keunmunbyeo*; HJJ, *Hongjinjubyeo*; HK, *Heugkwangbyeo*. \*Significant difference compared to control group at  $p<0.05$ .

산화력을 나타내었다. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량에 있어 모든 열처리군에서 높은 값을 나타내었던 흑광벼는 환원력 측정 결과에서는 180°C로 고열처리 한 경우에서만 유의성 있는 결과를 보였고 다른 온도에서는 온도차에 따른 소폭의 변화만 나타내었다. 보리를 300°C 이상의 고온에서 볶음처리 하여 보리차를 제조한 후 다양한 항산화 활성을 검토하였던 Duh 등(33)의 연구에서 열처리 온도에 따른 catechin, tocopherol, lutein 등의 항산화 물질 함량이 항산화 활성에 영향을 준 것처럼 본 연구에서도 흑광벼가 180°C의 고열처리 조건에서 높은 항산화력을 보인 것은 동일 조건에서 총 폴리페놀 함량이 높았기 때문으로 보이는데, 이러한 현상은 180°C의 고온에서 열처리를 하는 동안 흑광벼를 구성하고 있는 성분들로부터 환원당의 생성이 증가되어 Maillard 반응을 유발했기 때문으로 생각할 수 있다. Browning reaction으로 알려진 Maillard 반응은 고온의 조건에서 환원당과 단백질 성분이 결합하여 진행되는데, Maillard 반응의 중간 산물들은 색과 냄새뿐 아니라 총 폴리페놀 물질의 생성을 촉진하는 것으로 보고되어 있다(8,20). 큰눈벼와 화성벼는 모든 열처리 온도에서 무처리군보다 낮은 환원력을 나타내었는데, 특히 큰눈벼는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 분석 결과에서 대조품종인 화성벼에 비하여 높은 함량을 나타내었으나 항산화력의 측정 결과에서는 화성벼보다 낮은 활성을 보였다. 이것은 큰눈벼의 배아에 다량 함유되어 있는 비타민이나 아미노산 등의 성분이 총 폴리페놀 측정에 사용되었던 Folin-Ciocalteu 시약과 반응하여 실제 존재하는 총 폴리페놀 함량보다 높게 측정되었을 가능성이 있어(27) 정확한 원인 규명을 위해서는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정을 위한 다른 시험법을 함께 시행하여 비교해 보아야 할 것으로 생각된다.

항산화 성분과 항산화 활성과의 상관관계 분석

항산화 성분과 항산화 활성과의 상관성 분석에 있어서는 ABTS 라디칼 소거능을 이용한 분석 값이 총 폴리페놀( $R^2=$

Table 2. Correlation coefficients among total polyphenol content, total flavonoid content, DPPH and ABTS radical scavenging activities, reducing power of ethanol extracts from unheated or heated rice cultivars

Factor <sup>1)</sup>	Correlation coefficient				
	TPC	TFC	DPPH	ABTS	RP
TPC	—				
TFC	0.995**	—			
DPPH	0.963**	0.944**	—		
ABTS	0.994**	0.984**	0.972**	—	
RP	0.924**	0.916**	0.893**	0.925**	—

<sup>1)</sup>TPC, total polyphenol content; TFC, total flavonoid content; DPPH, DPPH radical scavenging activity; ABTS, ABTS radical scavenging activity; RP, reducing power.

\*\*Significant at 1% level respectively.

0.994,  $\alpha=0.01$ ) 및 총 플라보노이드 함량( $R^2=0.984$ ,  $\alpha=0.01$ )과 가장 높은 상관관계를 가지고 있었고, DPPH 라디칼 소거능을 이용한 항산화력 역시 총 폴리페놀( $R^2=0.963$ ,  $\alpha=0.01$ ) 및 총 플라보노이드( $R^2=0.944$ ,  $\alpha=0.01$ )와 밀접한 상관관계에 있었다(Table 2). 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과 환원력과의 상관관계 분석에 있어서는 각각  $R^2=0.924$ ,  $R^2=0.916$ ( $\alpha=0.01$ )의 비교적 높은 상관관계를 나타내었으나 환원력 측정법이 DPPH나 ABTS 라디칼 소거능 측정법에 비해 그 상관성이 다소 떨어지는 결과를 보였다. 페놀성 화합물은 항산화 효과를 나타내는 대표적인 화합물로 열처리에 따른 페놀성 화합물의 증가로 인하여 전체적인 항산화 활성이 증가한 것으로 생각되며, 항산화력 측정에 사용되었던 세 가지 항산화력 측정법에서 결과가 조금씩 다른 경향을 보이는 것은 각각의 분석법에 사용된 기질의 특성이 다르고 기질이 추출물에 존재하는 항산화 물질과 반응하는 결합정도가 달라 라디칼 제거능력에 차이를 보이기 때문으로 생각된다. 그러나 세 가지 방법 간의 상관관계 분석 결과에서 볼 수 있듯이 ABTS 분석 결과는 DPPH 분석 결과와  $R^2=0.972$ , 환원력과는  $R^2=0.925$ 의 높은 상관성을 보였고 DPPH법과 환원력 측정값도 앞의 두 가지 방법에는 미치지 못하지만  $R^2=0.893$ 의 유의적인 상관성을 나타내었다.

요 약

본 연구는 일반벼에 비하여 폴리페놀 함량이 뛰어나고 항산화력이 우수한 품종인 흥진주벼와 흑광벼의 총 폴리페놀 함량 및 항산화력 향상을 위한 열처리법 개발을 위하여 수행되었으며, 우수한 생리활성을 가지고 있는 큰눈벼와 대조품종인 화성벼를 함께 비교 분석하였다. 분석 결과 흥진주벼의 총 폴리페놀 함량은 60°C의 열처리 조건에서  $6.50\pm 0.32$  mg GAE/g(대조군의 약 23%)으로 가장 높았고, 흑광벼는 40°C와 180°C의 열처리 조건에서 각각 6.57 mg GAE/g(대조군의 약 14%)과 6.89 mg GAE/g(대조군의 약 20%)의 높은 총 폴리페놀의 함량을 나타내었다. 또한 열처리를 실시한 시료에 대한 총 플라보노이드 함량 및 항산화 활성의 변화는 상

관관계 분석에 있어서도 총 폴리페놀 함량 분석 결과와 상당히 높은 상관관계를 가지는 것을 확인하였다. 지금까지의 많은 연구결과에 따르면 열처리에 따른 반응은 식물의 종류 및 열처리 방법에 따라 상당히 큰 차이를 나타내므로 본 실험에서 사용한 열처리 방법을 통하여 홍진주벼 및 흑광벼의 항산화력이 상당히 증가되었던 연구 결과는 매우 의미 있는 것으로 생각된다. 따라서 향후 본 실험에서 확인된 열처리 효과를 바탕으로 다양한 열처리 방식, 온도 및 열처리 시간에 대한 연구를 추가적으로 진행한다면 더욱 효율적으로 유리형의 폴리페놀 함량을 높일 수 있을 것으로 생각되며, 이러한 결과를 통해 유색미를 식품산업에 이용할 수 있는 다양한 방안을 마련할 수 있을 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 2012년도 농촌진흥청 국립식량과학원 박사후 연구과정지원 사업에 의해 수행되었습니다.

### 문헌

- Choi HC, Oh SK. 1996. Diversity and function of pigments in colored rice. *Korean J Crop Sci* 41: 1-9.
- Hartley RD, Morrison WH, Himmelsbach DS, Borneman WS. 1990. Cross-linking of cell wall phenolics to arabinoxylans in graminaceous plants. *Phytochemistry* 29: 3705-3709.
- Temple NJ. 2000. Antioxidants and disease: More questions than answers. *Nutr Res* 20: 449-459.
- Kim DJ, Oh SK, Yoon MR, Chun AR, Choi IS, Lee DH, Lee JS, Yu KW, Kim YK. 2011. The change in biological activities of brown rice and germinated brown rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 781-789.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 3010-3014.
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
- Woo KS, Hwang IG, Noh YH, Jeong HS. 2007. Antioxidant activity of heated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 689-695.
- Chandrasekara N, Shahidi F. 2011. Effect of roasting on phenolic content and antioxidant activities of whole cashew nuts, kernels, and testa. *J Agric Food Chem* 59: 5006-5014.
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem* 93: 713-718.
- Seo SJ, Choi Y, Lee SM, Kong S, Lee J. 2008. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 129-135.
- Velioglu YS, Mazza G, Cao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46: 4113-4117.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
- Tepe B, Sokmen M, Akpulat HA, Sokmen A. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem* 95: 200-204.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int* 35: 519-526.
- Kim DJ, Oh SK, Yoon MR, Chun AR, Hong HC, Lee JS, Kim YK. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the 70% ethanol extracts from brown and milled rice by cultivar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 467-473.
- Sellappan S, Akoh CC, Krewer G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem* 50: 2432-2438.
- Sohn HY, Kwon CS, Son KH, Kwon GS, Kwon YS, Ryu HY, Kum EJ. 2005. Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brand of rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 593-598.
- Lee SC, Kim JH, Jeong SM, Kim DR, Ha JU, Nam KC, Ahn DU. 2003. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J Agric Food Chem* 51: 4400-4403.
- Francisco MLLD, Resurreccion AVA. 2009. Total phenolics and antioxidant capacity of heat-treated peanut skins. *J Food Compos Anal* 22: 16-24.
- Ross CF, Hoyer C Jr, Fernandez-Plotka VC. 2011. Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. *J Food Sci* 76: C884-C890.
- Kim WM, Lee YS. 2007. A study on antioxidant activity of bread with waxy black rice flour added. *Korean J Culinary Res* 13: 178-185.
- Hong MJ, Lee GD, Kim HK, Kwon JH. 1998. Changes in functional and sensory properties of *Chicory* roots induced by roasting processes. *Korean J Food Sci Technol* 30: 413-418.
- Rye KC, Chung HW, Lee GD, Kwon JH. 1997. Color changes and optimization of organoleptic properties of roasted *Polygonatum odoratum* tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 16: 831-837.
- Yu JS, Woo KS, Kwang IG, Chang YD, Jeong JH, Lee CH, Jeong HS. 2008. Quality characteristics of *Chrysanthemum indicum* L. flower tea in relation to the number of pan-firing. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 647-652.
- Woo KS, Song SB, Oh BG, Seo MC, Ko JY, Lee JS, Kang JR, Nam MH, Jeong HS. 2009. Antioxidant activity of ethanol extracts from horseweed (*Erigeron canadensis* L.) with pretreatment conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1279-1283.
- Xu B, Chang SKC. 2009. Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *J Agric Food Chem* 57: 4754-4764.
- Woo KS, Jang KI, Kim KY, Lee HB, Jeong HS. 2006. Antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts. *Korean J Food Sci Technol* 38: 355-360.
- Woo JH, Shin SL, Jeong HS, Lee CH. 2010. Influence of applied pressure and heat treatment on antioxidant activities of young leaves from *Achillea alpina* and *Solidago virgaurea* subsp. *gigantea*. *Korean J Plant Res* 23: 123-130.
- Choi Y, Kim M, Shin JJ, Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean*

- Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
31. Lee SH, Lee YR, Hwang IG, Woo KS, Kim KH, Kim KJ, Jeong HS. 2009. Antioxidant activities and quality characteristics of germinated rough rice tea according to roasting temperature, time and leaching condition. *Korean J Food Sci Technol* 41: 386-391.
  32. Shin SH, Chung NJ. 2011. Variation of antioxidant and anti-cancer activities of hull and bran extracts in different colored rices. *Kor J Breed Sci* 43: 218-224.
  33. Duh PD, Yen GC, Yen WJ, Chang LW. 2001. Antioxidant effects of water extracts from barley (*Hordeum vulgare* L.) prepared under different roasting temperatures. *J Agric Food Chem* 49: 1455-1463.

(2012년 11월 26일 접수; 2013년 1월 21일 채택)