

연구노트

흑미(복합)발효물의 항산화 성분 및 항산화 활성 평가

김영현 · 이영준 · 박선옥<sup>1</sup> · 이상중<sup>1</sup> · 이옥환\*  
강원대학교 식품생명공학과, <sup>1</sup>(주)에스티알바이오텍

Antioxidant Compounds and Antioxidant Activities of Fermented Black Rice and Its Fractions

Young-Hyun Kim, Young-Jun Lee, Sun-Ok Park<sup>1</sup>, Sang-Jong Lee<sup>1</sup>, and Ok-Hwan Lee\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University

<sup>1</sup>STR Biotech Co., Ltd.

**Abstract** The aim of this study was to determine the total phenol, total flavonoids, and proanthocyanidin contents of fermented black rice and its fractions, as well as to assess the antioxidant activities. Antioxidative activities were assessed in various *in vitro* models using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), reducing power, ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), and nitrite scavenging activity (Griess reagent assay). Our results show that the antioxidant activity was significantly higher in the low-molecular fraction of fermented black rice than in the other samples ( $p < 0.05$ ). Among the fermented black rice and its fractions, the low-molecular fraction had the highest total phenol ( $109.2 \pm 2.9$  mg GAE, gallic acid equivalent/g), total flavonoids ( $39.4 \pm 0.8$  mg RE, rutin equivalent/g), and proanthocyanidin ( $32.9 \pm 1.4$  mg CE, catechin equivalent/g) contents, which correlated strongly with its antioxidative activity. Considering the high consumer demand due to the beneficial health effects, fermented black rice and its fractions can be utilized to develop functional food, as well as health-promoting and pharmaceutical agents.

**Keywords:** fermented black rice, low molecular fraction, polysaccharide fraction, antioxidant activity, *in vitro* assay

서 론

최근 식생활의 서구화로 인하여 1인당 연간 쌀 소비량은 점차 감소하고 있는 반면 밀가루의 소비량은 매년 증가하고 있는 추세이다(1). 쌀 소비의 증대를 위하여 떡류, 한과류, 쌀음료 등과 같은 다양한 쌀 가공 식품이 개발되었고 흑미와 같은 유색미에 대한 기능성 연구가 이루어진바 있다(2). 유색미 중 흑미는 특유의 색과 향을 가지고 있어 다양한 형태의 식품으로도 가공되며 흑미의 anthocyanidin 성분은 검붉은 색을 띠는 몸에 좋은 자연 식품이라 하여 'black food'로 많은 관심을 받고 있다(3).

흑미에는  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tocopherol과 tocotrienol, 식물성 스테롤 및 다양한 페놀성 화합물들이 함유되어 있으며, 일반 백미보다 식이 섬유, 비타민, 무기질, 불포화지방산, 단백질 등의 영양소 함량이 우수하며 흑미의 겨층에는 다른 곡류에 비하여 flavonoid 및 anthocyanin이 풍부하다(4). 유색미에서 확인된 anthocyanin류로는 cyanidin, pheonidin, malvidin, pelargonidin, delphinidin flavylum 및 이들의 배당체로, 이들은  $\alpha$ -tocopherol과 유사한 수준의 항산화능을 지니고 있다고 보고되고 있다. 특히 이러한 항산화

화합물들은 singlet oxygen, hydroxyl radicals, superoxide anion radical을 포함한 활성산소종(reactive oxygen species)을 효과적으로 제거한다고 보고되어 있다(5,6). 흑미는 비교적 강한 free radical 소거능 및 항산화 효과가 있는 것으로 연구되어 천연 항산화제의 중요한 자원으로 각광받고 있으며, 특히 anthocyanin을 다량 함유하고 있다는 점이 다른 소재와 차별을 둘 수 있다. Anthocyanin은 항산화 효과 외에도 지방세포의 분화를 억제 하여 항비만 활성이 있는 것으로 알려져 있다. 하지만, 본 연구에서 밝혀보고자 하는 흑미(복합)발효물의 항산화활성에 대한 연구는 아직 초기단계에 머물러 있으며 특히 흑미(복합)발효물의 저분자 및 고분자 분획물에 대한 연구는 그리 많지 않다.

따라서, 본 연구에서는 발효를 이용하여 면역 증진 목적으로 제조한 흑미(복합)발효물 및 분획물의 건강기능식품 소재화 시 기초자료를 제공하고자 흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화성분(총페놀, 총플라보노이드, proanthocyanidin), 다양한 *in vitro* 모델에서의 항산화 활성 및 아질산염 소거능 등을 평가하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에서 사용한 sodium carbonate, aluminium nitrate, potassium ferricyanide, sodium hydroxide, folin-ciocalteu's reagent, gallic acid, rutin, vanillin, potassium acetate, (+)-catechin, potassium persulfate, sodium phosphate, trichloroacetic acid, DPPH, ABTS, TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), ferric chloride, acetic acid, griess reagent 등은 Sigma(Sigma-Aldrich Co., St. Louis,

\*Corresponding author: Ok-Hwan Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea  
Tel: 82-33-250-6454  
Fax: 82-31-241-0508  
E-mail: loh99@kangwon.ac.kr  
Received February 5, 2013; revised February 26, 2013;  
accepted February 27, 2013

MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

**흑미(복합)발효물 제조**

상황버섯균주를 PDA (potato dextrose agar)배지에서 활성화 한 후 상황버섯균사 배양/발효산물(곡물배양상황버섯균사체) 생산 공정의 스타터로 사용하였다. 상황버섯균사 배양에 필요한 탄소원으로 흑미(강)를 사용하였으며 질소원으로는 대두 성분을 흑미(강) 대비 10% 보강하여 전분분해효소(amylase) 및 단백질분해효소(protease)를 첨가했다. 60°C에서 전분 및 단백질 분해 효소처리공정을 통해 흑미(강)를 사용한 액상배양배지를 제조하였고 효소처리공정 후 멸균(121°C, 30분)하여 상황버섯균사 배양을 위한 최종 액상 흑미(강)배지를 얻었다. 상황버섯균사 종균배양액을 액상 흑미(강)배지에 10%(v/v) 접종하고 28°C에서 7일간 배양하여 상황버섯균사 배양/발효산물을 획득하였다. 배양산물에 세포빅 분해효소를 처리하고 추출 및 살균처리 한 다음 실온으로 냉각 후 동결건조기를 이용하여 동결건조 하였다. 동결건조 시킨 효소처리 추출물을 체를 통과할 수 있는 크기(40 mesh)로 분쇄하여 흑미(복합)발효물을 제조하였다.

**흑미(복합)발효물의 분획물 제조**

흑미(복합)발효물의 고분자 분획물(crude polysaccharide fraction)은 실온에서 시료 무게의 20배에 해당하는 증류수를 첨가하여, 실온에서 1시간 동안 shaker(300 rpm)를 사용하여 추출하였다. 추출 후 원심분리기(12,000×g, 15분)를 사용하여 시료의 고형성분을 제거하고 수용성 상등 액의 총 부피에 대한 5배 99% 주정을 첨가하고 shaker(300 rpm)를 사용하여 교반하였다. 실온에서 1시간 동안 분획시켜준 뒤 4°C 냉장고에 8-10시간 동안 정치시켰으며 주정추출물을 원심분리기(12,000×g, 30분)를 이용해 침전물을 얻고 적당량의 증류수를 사용하여 녹인 후 동결건조 하였다. 저분자 분획물(low molecular fraction)은 Kong 등(4)의 방법에 의하여 흑미(복합) 발효물 5g에 80% 메탄올 150 mL을 가하여 1시간 45분 동안 상온에서 교반하였으며 15분 동안 sonicator를 사용하여 추출하는 과정을 24시간 동안 12회 반복하였다. Filter paper(Whatman™, Cat. NO. 1003-110, Maidstone, Kent, UK)로 2회 여과 한 후 하루 동안 정치시켜 한 번 더 여과하였다. 추출여액은 회전식 진공 농축기를 사용하여 40°C에서 감압 농축 한 후, 동결건조 하였다.

**총페놀**

총페놀 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 각 시료의 페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다(7). 각 시료 1 mL에 2% sodium carbonate 용액 1 mL와 10% Folin-Ciocalteu's reagent 1 mL를 혼합하여 1시간 방치 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선 ( $y=11.3x+0.0403$ ,  $R^2=0.9999$ )으로 부터 함량을 구하였다.

**총플라보노이드 함량**

총플라보노이드 함량은 Moreno 등(8)의 방법을 이용하여 비색 정량하였다. 각 시료 0.5 mL에 95% EtOH 1.5 mL, 10% aluminium nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL와 증류수 2.8 mL를 각각 첨가하여 혼합한 후 상온에서 30분간 정치하여 반응시킨 다음 microplate reader (Molecular Devices)로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 함량은 rutin을 이용하여 작

성한 표준곡선( $y=3.1713x + 0.007$ ,  $R^2=0.9999$ )으로부터 함량을 구하였다.

**Proanthocyanidin 함량**

Proanthocyanidin 함량은 vanillin-HCl 방법을 사용하여 측정하였다(9). 각 시료 0.5 mL을 갈색시험관에 취하여 4% vanillin 용액 3 mL를 첨가하고 혼합한 후, 진한 염산 1.5 mL를 첨가하고 15분간 반응시킨 후 microplate reader (Molecular Devices)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, proanthocyanidin 함량은 (+)-catechin을 이용하여 작성한 표준곡선( $y=2.1885x-0.0064$ ,  $R^2=0.9998$ )으로부터 함량을 구하였다.

**DPPH radical scavenging activity**

전자공여능은 항산화 측정에 가장 많이 쓰이는 방법 중에 하나이다. 이 실험에서 사용되는 DPPH는 항산화 활성을 측정하기 위한 기질로 사용되며, phenol, flavonoid와 같은 페놀성 물질에 대한 항산화작용의 지표로 알려져 있다. DPPH법은 자유 라디칼 (free radical)로 특유의 색을 나타내게 되나 전자나 수소원자에 의해 전자가 쌍이 되어 비라디칼이 되면 특유의 색이 사라지게 되는 DPPH의 화학적 성질을 이용한 방법이다. 실험 방법은 Kim 등(10)의 방법을 변형 하여 시료 0.2 mL에 ethanol을 사용하여 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL을 첨가하여 혼합한 뒤 10분 동안 반응시킨 후 microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 517 nm에서 흡광도의 값을 측정하였다. 다음 식에 의하여 DPPH free radical 소거능을 나타내었으며, 대조군으로 0.1 mg/mL의 ascorbic acid (AsA)를 이용하였다.

$$DPPH \text{ 라디칼 소거능}(\%) = \left[ 1 - \frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \times 100$$

**ABTS radical scavenging activity**

ABTS 측정방법은 ABTS의 양이온 라디칼의 흡광도가 항산화제에 의해 억제되어 특유의 청록색으로 탈색되는 현상을 이용한 방법이다. ABTS 라디칼 소거능 측정은 Roverta 등(11)의 방법으로 측정 하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate 용액을 빛을 차단한 상태로 16시간동안 상온에서 반응시켜 ABTS 양이온을 형성시킨 후 흡광도 값이 0.70±0.02가 되도록 무수에탄올을 사용하여 조절하여 시료 10 µL에 첨가하고 6분 동안 반응시켜 microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 750 nm에서 흡광도의 값을 측정하였다. 항산화 활성은 시료를 녹인 용매인 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 대조군으로 사용하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$ABTS \text{ 라디칼 소거능} = \left( 1 - \frac{A_{\text{Test}}}{A_{\text{Control}}} \right) \times 100$$

**Reducing power**

Reducing power는 Oyaizu(12)의 방법을 변형하여 측정하였다. 이 실험은 655 nm에서 ferric-ferricyanide (Fe<sup>3+</sup>)혼합물이 수소를 공여하여 유리라디칼을 안정화 시켜 ferrous (Fe<sup>2+</sup>)로 전환하는 환원력을 흡광도 값으로 나타내는 방법이다. 시료 0.5 mL, 0.2 M sodium phosphate buffer 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide 2.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응시킨 혼합 용액에 trichloroacetic acid 2.5 mL을 넣어준 후 10분 동안 원심분리기(Hanil Science Industrial Co., Ltd, Seoul, Korea)를 사용하여

원심분리 한 후 상층액 2.5 mL과 3차 증류수 2.5 mL 그리고 0.1% Iron (III) chloride 0.5 mL을 넣어준 후 혼합하여 microplate reader 를 사용하여 655 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### FRAP 활성 측정

FRAP 방법은  $Fe^{3+}$ 가  $Fe^{2+}$ 로 환원되어 TPTZ와 결합하여 blue 계열의 색을 나타내어 환원력을 흡광도 값으로 나타내는 방법이다. 측정 방법은 Benzie & Strainin (13)의 방법을 변형하여 측정하였다. 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ, 20 mM  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 를 10:1:1로 혼합하여 혼합용액 1.5 mL, 시료 50  $\mu$ L, 증류수 150  $\mu$ L를 각각 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 아질산염 소거능

아질산염은 수산물이나 식육제품의 가공 및 저장에 발색 및 산패방지제로 주로 사용되는데 혈액 중 헤모글로빈을 산화시켜 각종 중독 현상을 유발할 수 있으며 아민과 결합하여 발암물질인 nitrosoamine을 생성할 수 있어 아질산염의 억제능이 많이 연구되고 있다. 아질산염 소거능은 griess reagent assay 방법(14)에 따라 시료 1 mL에 1 mM  $NaNO_2$  용액 1 mL를 가한 뒤 0.1 N HCl을 이용하여 각각 pH 1.2로 pH meter (pH 510, Eutech Co., Anyang, Korea)를 사용하여 보정한 후 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 각 반응액 1 mL를 취하여 2% acetic acid 5 mL와 30% acetic acid 용액으로 용해한 griess reagent 0.4 mL를 가하고 잘 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후 microplate reader (Molecular Devices)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계분석

모든 실험결과는 SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 수행하였고 평균값의 통계적 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화 성분

흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화 성분은 총페놀, 총플라보노이드 및 proanthocyanidin 함량을 측정하였으며 1g에 해당하는 항산화 성분을 mg으로 표시하여 Table 1에 나타냈다. 총페놀은 저분자 분획물에서 109.2 mg GAE/g으로 유의적으로 가장 높게 나타났으며, 흑미(복합)발효물에서는 40.5 mg GAE/g, 고분자 분획물에서는 10.5 mg GAE/g으로 저분자 분획물에 비해 낮은 함량을 나타내었다. 또한, 총플라보노이드 및 proanthocyanidin 함량도 저분자 분획물에서 각각 39.4±0.8 mg RE/g 및 32.9±1.4 mg CE/g로 흑미(복합)발효물과 고분자 분획물에 비해 유의적으로 높은 함량을 보였다.

Kong 등(4)에 의하면 흑미 whole grain(현미), endosperm(배유) 및 rice bran(미강)의 총페놀 함량은 각각 6.59, 0.35 및 50.51 mg/g으로 흑미(복합)발효물의 저분자 분획물은 흑미 미강에 비해 항산화 성분이 높은 것으로 나타났으며, 흑미 미강의 총플라보노이드 및 proanthocyanidin 함량도 각각 14.05 및 11.04 mg/g으로 흑미(복합)발효물의 저분자 분획물에서 흑미 미강 보다 높은 것으로 나타났다. 페놀성 화합물 및 플라보노이드 성분들은 활성산소와 nitric oxide의 소거능이 높아 이들 물질을 함유한 천연물들은 천연 항산화제로 활용 가치가 높은 것으로 알려져 있다(4,6).

**Table 1. Total phenol, flavonoids and proanthocyanidin contents of fermented black rice and its fractions**

Samples <sup>1)</sup>	Total phenol content (mg GAE <sup>2)</sup> /g)	Total flavonoids content (mg RE <sup>3)</sup> /g)	Total proanthocyanidin content (mg CE <sup>4)</sup> /g)
FBR	40.5 <sup>5)</sup> ±1.0 <sup>b</sup>	16.8±0.4 <sup>b</sup>	12.6±2.9 <sup>b</sup>
PF	10.5±0.9 <sup>c</sup>	7.1±0.6 <sup>c</sup>	5.5±0.5 <sup>c</sup>
LF	109.2±2.9 <sup>a</sup>	39.4±0.8 <sup>a</sup>	32.9±1.4 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>FBR (Fermented black rice), PF (Polysaccharide fraction), LF (low molecular fraction)

<sup>2)</sup>GAE, gallic acid equivalent

<sup>3)</sup>RE, rutin equivalent

<sup>4)</sup>CE, catechin equivalent

<sup>5)</sup>a-c Value are mean±SD (n=3), means in the same column not sharing a common letter are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple test.

따라서, 항산화 성분을 다량 함유한 흑미(복합)발효물의 저분자 분획물은 흑미 미강과 함께 천연 항산화 식품으로서의 활용가능성이 높을 것으로 기대되었다.

### 흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화 활성

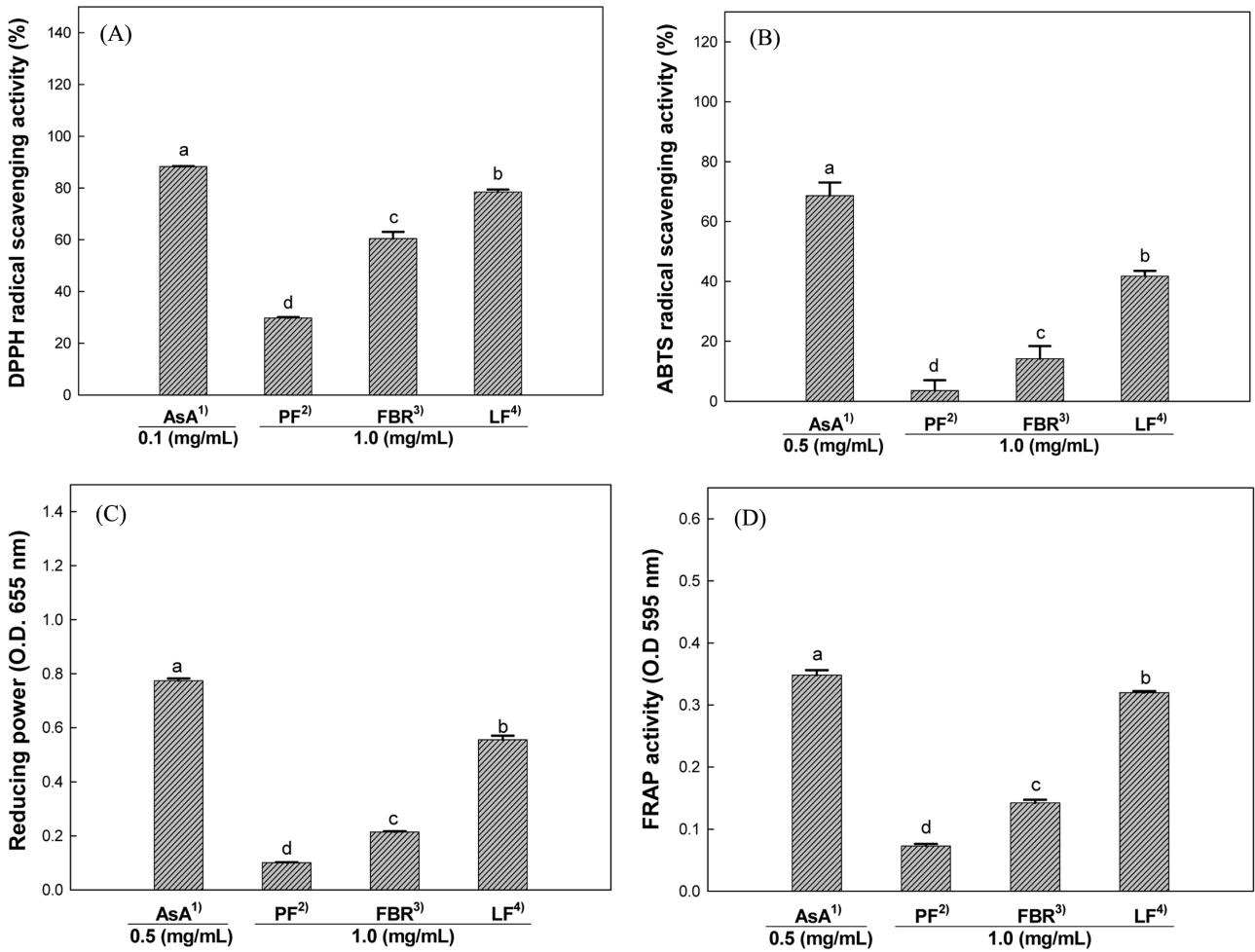
흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화 활성 평가는 다양한 *in vitro* 모델(DPPH, ABTS, reducing power, FRAP)을 이용하여 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능의 경우(Fig. 1A), 양성대조군으로 사용된 ascorbic acid (0.1 mg/mL)는 88.24±0.18%로 매우 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보인 반면 흑미(복합)발효물, 고분자 분획물 및 저분자 분획물에서 각각 60.44±2.61, 29.72±0.41 및 78.47±0.94%의 소거활성을 보여 양성대조군 보다는 낮은 항산화 활성을 보였다. 저분자 분획물의 경우, 흑미(복합)발효물과 고분자 분획물에 비해 높은 항산화 활성을 보였고 이는 총페놀, 총플라보노이드, proanthocyanidin의 함량과 유사한 경향을 보였다. 즉, 저분자 분획물에 함유된 페놀성 화합물들은 DPPH 라디칼에 수소를 공여하여 DPPH 라디칼을 안정화하는 것으로 사료되었다.

ABTS 라디칼 소거능의 경우에도 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 보였다(Fig. 1B). 흑미(복합)발효물, 고분자 분획물 및 저분자 분획물의 ABTS 라디칼 소거능은 각각 14.22±4.16, 3.58±3.44 및 41.77±1.77%로 나타나 저분자 분획물에서 가장 높은 항산화 활성을 나타냈다. Reducing power의 경우에도 흑미 저분자 분획물에서 0.56±0.02로 흑미(복합)발효물(0.21±0.00) 및 고분자 분획물(0.10±0.00)에 비하여 유의적으로 높은 항산화 활성을 나타냈다(Fig. 1C). 한편, 산화 및 환원 반응에 의하여 식품에 함유된 페놀성 화합물에 의해  $Fe^{3+}$ 를  $Fe^{2+}$ 로 환원시키는 원리를 이용하여 항산화 활성을 평가하는 FRAP의 경우에도 DPPH, ABTS 및 reducing power의 결과와 같은 경향을 나타내 저분자 분획물에서 흑미(복합)발효물 및 고분자 분획물에 비하여 유의적으로 높은 항산화 활성을 보였다(Fig. 1D).

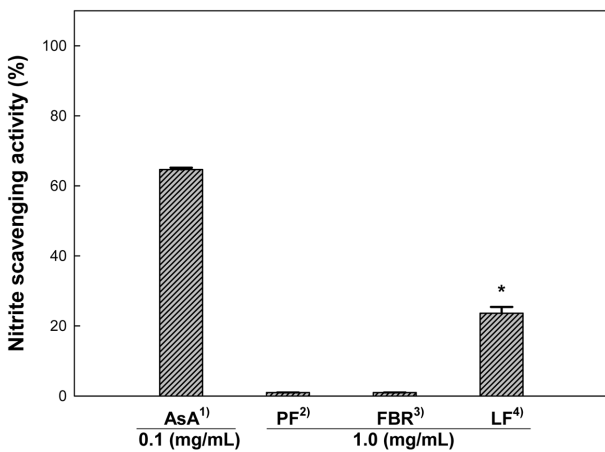
이상의 결과로 볼 때, 다양한 *in vitro* 모델에서 저분자 분획물은 흑미(복합)발효물 및 고분자 분획물에 비하여 높은 항산화 활성을 보였고 이는 저분자 분획물에 함유된 항산화성분(총페놀, 총플라보노이드, proanthocyanidin)과 유의적인 상관관계를 나타내는 것으로 사료되었다.

### 아질산염 소거능력 평가

아민과 결합하여 발암물질 nitrosoamine을 생성하는 nitrite 소거능력은 Fig. 2와 같이 시료의 농도 1.0 mg/mL에서 측정된 결과,



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging activity (A), ABTS radical scavenging activity (B), reducing power (C) and FRAP activity (D) of fermented black rice and its fractions. Each bar represents the mean±SD of triplicate determinations. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>AsA: Ascorbic acid, <sup>2)</sup>PF: Polysaccharide fraction, <sup>3)</sup>FBR: Fermented black rice, <sup>4)</sup>LF: Low molecular fraction.



**Fig. 2.** Nitrite scavenging activity of fermented black rice and its fraction. Each bar represents the mean±SD of triplicate determinations. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ). <sup>1)</sup>AsA: Ascorbic acid, <sup>2)</sup>PF: Polysaccharide fraction, <sup>3)</sup>FBR: Fermented black rice, <sup>4)</sup>LF: Low molecular fraction.

양성대조군으로 사용된 ascorbic acid (0.1 mg/mL)에서는 64.67%의 아질산염 소거능을 보였으며, 저분자 분획물에서는 23.65%의 아질산염 소거능을 보였다. 하지만, 흑미(복합)발효물 및 고분자 분획물은 미비한 결과를 나타냈다.

식품의 가공 및 저장 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성 억제와 발색, 산패방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하며 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급, 3급 아민과의 nitroso화 반응, 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나며 발암물질은 nitrosamine을 생성할 수 있으므로 아질산염과 아민을 동시에 섭취했을 때 위에서 nitrosamine의 생성을 억제할 수 있는 많은 연구가 진행되어 지고 있다(15). 한편, Kim 등(16)은 팽이버섯 추출물의 기능적 특성 연구에서 팽이버섯 추출물에 함유된 폴리페놀성 물질들의 아질산염 소거능은 pH 3.0-6.0 보다 pH 1.2에서 비교적 높은 수치를 보였으며 이는 위장내의 낮은 pH 조건에서 nitrosamine 형성을 보다 효과적으로 억제

**Table 2. Correlation analysis between the content of antioxidant compounds and antioxidant activities**

Antioxidant compounds	DPPH	ABTS	Reducing power	FRAP
TP <sup>1)</sup>	0.8679	0.9992	0.9964	0.9993
TF <sup>2)</sup>	0.8652	0.9994	0.9969	0.9995
TPA <sup>3)</sup>	0.8333	0.9996	0.9999	0.9995

<sup>1)</sup>TP, total phenol content

<sup>2)</sup>TF, total flavonoids content

<sup>3)</sup>TPA, total proanthocyanidin content

할 수 있다고 보고하였다. 즉, pH 1.2 조건에서 측정된 저분자 분획물의 아질산염 소거능은 저분자 분획물에 함유된 페놀성 화합물들이 낮은 pH 조건에서도 비교적 안정하며 위장내에서의 nitrosoamine 형성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대되었다.

### 항산화 성분과 항산화 활성의 상관관계

항산화활성을 평가하는 *in vitro* 방법은 기전에 따라 크게 5가지 유형으로 수소공여기전, 금속이온 킬레이팅 즉, 금속이온의 활동성을 제한하는 기전, 일중항산소 제거기전, 산소 소거기전 및 항산화성 효소기전 등으로 나누어 볼 수 있다(17,18). 본 연구에서는 흑미(복합)발효물, 고분자 분획물 및 저분자 분획물의 항산화 성분과 각 항산화 활성을 평가하였으며, 실험결과를 바탕으로 항산화 성분과 항산화 활성에 대한 상관관계를 비교하여 R<sup>2</sup>값으로 나타내었다(Table 2). 그 결과 ABTS, reducing power, FRAP 실험방법이 항산화 성분에 대하여 1에 가까운 R<sup>2</sup> 값을 나타내어 페놀, 플라보노이드, proanthocyanidin이 증가함에 따라 항산화 활성도 유의적으로 증가한다는 사실을 알 수 있다. DPPH 라디칼 소거능의 경우에도 R<sup>2</sup> 값이 0.8에 가까운 것으로 나타나 높은 상관관계를 보였다. 위의 결과로 보아, 흑미(복합)발효물 및 분획물은 라디칼 소거능 및 산화·환원작용을 통하여 항산화 활성을 가지는 것으로 사료되며, 흑미(복합)발효물의 저분자 분획물은 천연 항산화 소재로서의 활용가능성이 높을 것으로 기대되었다.

### 요 약

본 연구는 흑미(복합)발효물 및 분획물의 항산화 성분(총페놀, 총플라보노이드 및 proanthocyanidin)을 측정하였고 또한, 다양한 *in vitro* 모델을 이용하여 항산화 활성을 평가하였다. 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, reducing power 및 FRAP을 이용하였고 아질산염 소거능도 평가하였다. 저분자 분획물은 흑미(복합)발효물 및 고분자 분획물에 비해 유의적으로 높은 항산화 활성을 나타내었다. 흑미(복합)발효물 및 분획물 중에서, 저분자 분획물의 총페놀, 총플라보노이드 및 proanthocyanidin 함량은 각각 109.2±2.9 mg GAE/g, 39.4±0.8 mg RE/g 및 32.9±1.4 mg CE/g으로 흑미(복합)발효물 및 고분자 분획물에 비해 높은 함량을 보였고 이들 항산화 성분들은 저분자 분획물의 항산화 활성과 유의적인 상관관계를 보였다. 건강증진에 대한 소비자들의

높은 관심도를 고려해 볼 때, 흑미(복합)발효물 및 분획물은 건강기능식품, 건강증진 및 의약품 소재로서 이용이 가능할 것으로 사료된다.

### 문 헌

- Kim YO. Changes in health status with the changing patterns of rice consumption among Korean. *Food Ind. Nutr.* 13: 15-21 (2008)
- Morimitsu Y, Kubota K, Tashiro T, Kamiya T, Osawa T. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. *Int. Cong. Ser.* 1245: 503-508 (2002)
- Choi SW, Kang WW, Osawa T. Isolation and identification of anthocyanin pigments in black rice. *Food Sci. Biotechnol.* 3: 131-136 (1994)
- Kong SH, Choi YM, Lee SM, Lee JS. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 815-819 (2008)
- Slavin JL, Martini MC, Jacobs DR, Marqart L. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 459-463 (1999)
- Choi Y, Jeong HS, Lee J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem.* 103: 130-138 (2007)
- Duval B, Shetty K. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J. Food Biochem.* 25: 361-377 (2001)
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
- Mitsunaga T, Doi T, Kondo Y, Abe I. Color development of proanthocyanidins in vanillin-hydrochloric acid reaction. *J. Wood Sci.* 44: 125-130 (1998)
- Kim JH, Park JH, Park SD, Choi SY, Seong JH, Moon KD. Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powders from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 617-624 (2002)
- Roberta R, Nicoletta P, Anna P, Anath P, Min Y, Catherine RE. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Oyaizu M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 44: 307-315 (1986)
- Benzie I, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76 (1996)
- Gray JI, Dugan JRL. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.* 40: 981-985 (1975)
- Jin Q, Park JR, Kim JB, Cha MH. Physiological activity of zizyphus leaf extracts. *J. Korean Food Soc. Nutr.* 28: 593-598 (1999)
- Kim HK, Choi YJ, Kim KH. Functional activities of microwave-assisted extracts from *Flammulina velutiped*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1013-1017 (2002)
- Yang HJ, Park MJ, Lee HS. Antioxidative activities and components of *Gardenia jasminoides*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 51-57 (2011)
- Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. Vitamin C, total polyphenol, flavonoid contents and antioxidant capacity of several fruit peels. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 540-544 (2012)