

## 발아기간에 따른 벼(*Oryza sativa* L.)의 부위별 효소저해활성

김민영<sup>1</sup> · 이상훈<sup>1</sup> · 장귀영<sup>1</sup> · 박혜진<sup>1</sup> · Li Meishan<sup>1</sup> · 김신제<sup>2</sup> · 이연리<sup>3</sup> · 이준수<sup>1</sup> · 정현상<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충북대학교 식품공학과

<sup>2</sup>(주)에프앤피 중앙연구소

<sup>3</sup>대전보건대학 식품영양과

## Enzyme Inhibition Activities of Ethanol Extracts from Germinating Rough Rice (*Oryza sativar* L.)

Min Young Kim<sup>1</sup>, Sang Hoon Lee<sup>1</sup>, Gwi Young Jang<sup>1</sup>, Hye Jin Park<sup>1</sup>, Li Meishan<sup>1</sup>,  
Shinje Kim<sup>2</sup>, Youn Ri Lee<sup>3</sup>, Junsoo Lee<sup>1</sup>, and Heon Sang Jeong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

<sup>2</sup>Center for Fungi and Plant Genome Research, FnP Corp., Chungbuk 368-811, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food and Nutrition, Daejeon Health Sciences College, Daejeon 300-711, Korea

### Abstract

This study investigated the enzyme inhibitory effects of ethanol extracts from the different parts of rough rice (*Oryza sativar* L.) from its germination period. Rough rice was germinated at 37°C for 6 days, then separated into hull+sprout and brown rice.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity had the highest value (39.38%) in hull+sprout extracts after 5 days of germination.  $\alpha$ -Amylase and DPP-4 inhibitory activity had the highest values (75.32% and 47.77%, respectively) in hull+sprout extracts after germination for 5 days. ACE inhibitory activity of hull+sprout extracts increased from 43.16% at the beginning to 58.60% at 5 days, while brown rice extracts increased this activity from 0.88% at the beginning to 14.50% at 4 days. The xanthine oxidase inhibitory activity of hull+sprout extracts increased from 62.02% at the beginning to 64.49% at one day, and then decreased. Lipase inhibitory activity had its highest value (55.17%) in hull+sprout extracts after germination for 5 days. These results indicate that the optimal germination period for increasing enzyme inhibitory activities may be 5 days, and that hull+sprout extracts have a higher enzyme inhibition activity than brown rice.

**Key words:** rough rice, germination, hull, sprout, enzyme inhibitory activity

### 서 론

최근 급격한 생활수준의 향상과 평균수명의 연장으로 인해 당뇨와 비만, 고혈압, 중풍 등의 성인병으로 고생하는 사람들이 급증하고 있으며, 특히 당뇨병에 의한 사망률이 인구 10만 명당 19.6명으로 5위를 차지하고 있고, 전 국민의 약 10%가 당뇨병 환자로 보고되고 있다(1,2). 제2형 당뇨병 및 대부분의 성인병은 유전, 생활습관 등 여러 가지 발병요인 가운데 특히 식생활과 관련이 깊은 만성질환이며, 당뇨억제제인 acarbose, 비만억제제인 orlistat, 그리고 혈압상승 억제제인 ACE-inhibitor 등은 주로 관련효소를 억제하여 관련 질환을 조절할 수 있는 원리를 이용한 합성약물이다. 그러나 지금까지 개발된 약물은 설사와 복통 등의 부작용을 유발할 수 있어 새로운 소재의 개발이 요구된다(3,4).

벼는 세계 3대 작물 중 하나이며, 벼를 도정한 쌀은 세계적인 주요한 당질 급원으로 아시아와 같이 쌀을 주식으로 하는

나라에서 중요한 주곡작물이다(5). 벼는 80%의 현미와 20%의 왕겨로 구성되어 있으며(6), 현미에 약 8% 정도 존재하는 미강은 현미를 도정할 때 얻어지는 부산물로서 식이섬유, 비타민류, 미네랄 성분이 풍부하고 그 외에 phytic acid,  $\gamma$ -oryzanol, arabinoxylan 및 GABA 등과 같은 다양한 생리활성 물질들이 함유되어 있다(7).

벼는 씨눈과 배젓에 있는 비활성 상태의 DNA 유전정보와 각종 효소 및 영양소 등이 외적환경 여건이 좋아지면 활성화되어 발아되는데, 일반적으로 발아가 진행됨에 따라 다양한 성분들이 증가되거나 생성되고 그에 따라 다양한 생리활성이 증가되는 경향이 있는 것으로 알려져 있다(8). 따라서 조조, 기장, 수수(9), 메밀(10), 들깨(11), 대두(12) 등의 다양한 종자에 대한 발아에 따른 유용성분 및 생리활성의 변화에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 특히 현미의 경우 발아에 따른 항산화(13), 항비만(14), 항암활성(15) 등에 대한 연구가 진행되었다. 또한 벼 전곡을 발아시킨 연구

\*Corresponding author. E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr  
Phone: 82-43-261-2570, Fax: 82-43-271-4412

는 발아기간에 따른 벼의 화학성분 변화(16), 발아기간과 부위에 따른 벼 추출물의 항산화 및 항암활성 변화(17) 그리고 한국산 발아 벼 추출물의 여러 가지 암세포주의 증식억제(15)에 대한 연구들이 진행되었다.

이와 같이 발아를 통해 다양한 종자의 유용성분 및 생리활성을 증대시키려는 연구가 진행되고 있지만 벼의 발아기간과 부위에 따른 당노 및 성인병관련 생리활성에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 발아시킨 벼에 대하여 발아기간과 부위에 따른 다양한 효소활성 억제효과의 변화를 살펴보고, 적절한 발아기간과 부위를 선정하여 기능성 식품소재 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 발아

실험에 사용된 벼는 2011년도에 충북 증평군에서 생산된 일품 벼(*Oryza sativa* L.)이며, 발아는 Kim 등(15)의 방법에 따라 벼 500 g을 20°C의 물로 수세하고 3일간 침지시킨 다음 발아기(WGC 450, Dahan Inc., Seoul, Korea)로 발아시켰다. 발아 온도는 37°C, 습도는 85%를 유지시키면서 발아시켰고 물은 1일 1회씩 교환해주었으며, 1일 3회씩 10분간 물주기를 하면서 발아시켰다. 발아기간은 1일에서 6일로 하였고, 발아시키지 않은 벼를 대조구로 하였다. 발아된 벼는 50°C의 열풍건조기(WFO-459PD, EYELA, Tokyo, Japan)에서 2일간 건조시킨 다음 냉장보관하면서 시료로 사용하였다.

### 부위별 분리

건조된 무발아 및 발아벼는 현미기(FC2K, Kett Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 왕겨+쌀 부위와 현미로 나누어 분리한 뒤, 분쇄기(micro hammer cutter mill type-3, Culatti AG, Zurich, Switzerland)를 사용하여 80 mesh 이하로 분쇄한 후 -20°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

### 추출물 제조

시료 중에 함유된 유용성분을 추출하기 위해 에탄올 추출물을 제조하였다. 에탄올 추출물은 각각 시료 중량 대비 10배량의 80% 에탄올(v/v)을 첨가하여 80°C에서 3시간 동안 환류추출 하고, 추출액을 감압여과 한 후 농축하여 동결건조(Freeze dryer, FD5508, Ilshin Lab Co., Ltd., Dongducheon, Korea) 하였다. 동결건조한 시료는 -20°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

### $\alpha$ -Glucosidase 저해활성 측정

$\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 Tibbot와 Skadsen(18)의 방법에 의하여 측정하였다.  $\alpha$ -Glucosidase(0.35 U/mL)와 pNPG(1.5 mM p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside)는 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였으며, 각각의 추출물 50  $\mu$ L를 0.35 unit/mL  $\alpha$ -glucosidase

효소액 100  $\mu$ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1.5 mM pNPG 50  $\mu$ L를 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율(%)을 계산하였으며, positive control로 acarbose(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

### $\alpha$ -Amylase 저해활성 측정

$\alpha$ -Amylase 저해활성은 Lim 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 125  $\mu$ L에 12 unit/mL pancreatin 기원의  $\alpha$ -amylase 효소액 62.5  $\mu$ L, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 62.5  $\mu$ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1% starch를 125  $\mu$ L 가하여 37°C에서 5분간 반응시켰다. 반응액에 48 mM DNS(3,5-dinitrosalicylic acid and 30% sodium potassium tartrate in 0.5 M NaOH) 발색시약 125  $\mu$ L를 넣고 100°C에서 15분간 끓여 발색을 시킨 후 충분히 냉각시키고, 이 반응액에 3배량의 증류수를 가한 후 ELISA(UV-1650PC, Shimadzu)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율을 계산하였다.

### Dipeptidyl peptidase-4(DPP-4) 억제활성 측정

DPP-4 억제활성은 DPP-4 Inhibitor Screening kit(Cat. K780-100, Biovision Co., Milpitas, CA, USA)를 이용하여 시험법에 따라 측정하였다. DPP-4 enzyme 1  $\mu$ L와 enzyme buffer 49  $\mu$ L를 혼합하여 enzyme buffer를 준비하고 DPP-4 substrate 2  $\mu$ L와 enzyme buffer 23  $\mu$ L를 혼합하여 substrate 용액을 준비하였다. 96-well plate에 각각의 추출물 25  $\mu$ L를 DPP-4 enzyme buffer 50  $\mu$ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 substrate 용액 25  $\mu$ L를 가하여 0~30분 동안 37°C에서 kinetic 반응하여 360 nm와 460 nm의 흡광도를 측정하였고 저해율(%)을 계산하였다.

### Angiotensin converting enzyme I (ACE) 저해활성 측정

각각의 추출물에 대한 ACE 저해활성은 Kwon 등(20)의 방법을 변형하여 측정하였다. ACE 저해활성 측정에 사용된 5 mM HHL(Hippuryl-His-Leu) 기질은 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 용해하였으며, 0.2 mU ACE 정제효소는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0)로 용해하여 사용하였다. 추출물 100  $\mu$ L에 0.2 mU ACE 정제효소액 80  $\mu$ L와 5 mM HHL 기질 100  $\mu$ L를 가한 뒤 37°C에서 60분 방치하였다. 반응을 정지시키기 위하여 1 M HCl 250  $\mu$ L를 가한 다음 0.45  $\mu$ m syringe filters로 여과하였으며, HPLC(ACME 9000 system, Younglin, Anyang, Korea)로 분석하여 ACE 저해율(%)을 계산하였다. 칼럼은 C-18 column(Mightysil RP-18 GP column, 4.6  $\times$  250 mm, Kanto Chemical, Tokyo, Japan), mobile phase는 A를 10 mM phosphoric acid(pH 2.5), B를 methanol로

사용하여 A:B의 초기비율을 100:0으로 시작하여 12분에 40:60, 19분에 0:100, 25분에 100:0의 비율로 단계적인 gradient system을 사용하였다. Flow rate는 1.0 mL/min의 유속으로 흘려주었고, injection volume은 20  $\mu$ L, detector는 UV-detector(228 nm)를 사용하였다.

**Xanthin oxidase 저해활성 측정**

Xanthine oxidase 저해활성은 Stirpe와 Corte(21)의 방법에 따라 측정하였다. 각각의 추출물 0.1 mL에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL, 2 mM xanthine (Sigma-Aldrich) 0.2 mL, 0.2 unit/mL xanthine oxidase 0.1 mL를 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시켰다. 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 생성된 uric acid를 ELISA를 사용하여 흡광도 292 nm에서 측정하고 저해율을 계산하였다.

**Lipase 저해활성 측정**

Lipase 저해활성은 Kim 등(22)의 방법을 변형하여 측정하였다. Porcine pancreatic lipase 0.3 mg에 10 mM MOPS/1 mM EDTA(pH 6.8) 60  $\mu$ L를 분주하고 100 mM Tris-HCl/5 mM CaCl<sub>2</sub>(pH 6.8) 800  $\mu$ L를 첨가하여 enzyme buffer를 준비하였다. Enzyme buffer에 추출물 100  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 15분간 전배양한 후 10 mM p-NPB(Sigma-Aldrich) 40  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. p-NPB가 p-nitrophenol로 가수분해된 정도를 ELISA를 사용하여 흡광도 400 nm에서 측정하고 저해율을 계산하였다.

**통계분석**

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리 조건에 따른 유의차를 one-way ANOVA(analysis of variance)로 분석한 뒤 신뢰구간 p<0.05 에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**$\alpha$ -Glucosidase 저해활성**

발아기간 및 부위별 추출물에 대한  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 각각의 저해활성은 10 mg/mL의 농도에서 측정한 것으로 발아일수가 증가함에 따라 모든 추출물의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 유의적으로 증가하였으며(p<0.05), 특히 왕겨+쌀 시료에서 저해활성이 높게 나타났다(p<0.05). 왕겨+쌀 추출물에서는 발아 전 저해활성은 26.32%이었지만 발아 4일 및 5일차에서 각각 38.42 및 39.38%로 증가하여 발아 5일차에서 가장 높게 나타났으며, 현미의 경우 발아 6일차 시료에서 20.32%로 발아전 7.78%에 비해 증가하였다.  $\alpha$ -Glucosidase는 소장상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로

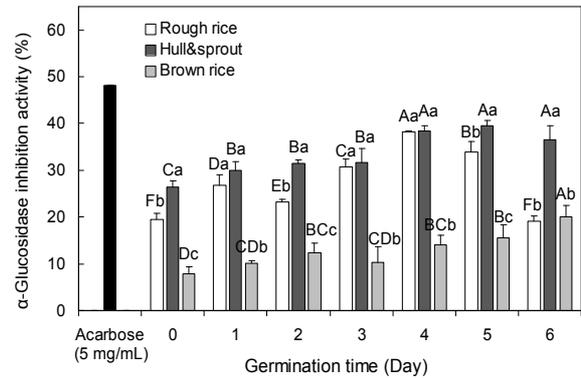


Fig. 1. Changes of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 10 mg/mL. Values are mean  $\pm$  SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference (p<0.05) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference (p<0.05) among different part of germinated rough rice.

가수분해하는 역할을 하며,  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다(23). 우단콩(*Mucuna pruriens*)을 암 발아 시켰을 때 발아기간이 증가함에 따라 쌀 추출물에서 우수한  $\alpha$ -glucosidase 저해능을 나타낸다는 연구결과(24)로 미루어 볼 때, 본 실험에서의 저해활성의 증가는 왕겨+쌀에서 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있는 ferulic acid, hydroxycinnamic acids 및  $\gamma$ -oryzanol 등과 같은 항당뇨 물질이 발아 시 증가하여 나타난 결과라 생각된다(16).

**$\alpha$ -Amylase 저해활성**

발아기간 및 부위별 추출물에 대한  $\alpha$ -amylase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 각각의 저해활성은 0.5 mg/mL의 농도에서 측정한 것으로 발아초기 1~2일차에 비하여 발아 3~6일차에서 저해활성이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 현미 추출물에 비해 왕겨+쌀 추출물에서 유의적으로 높게 나타났다. 왕겨+쌀 추출물에서는 발

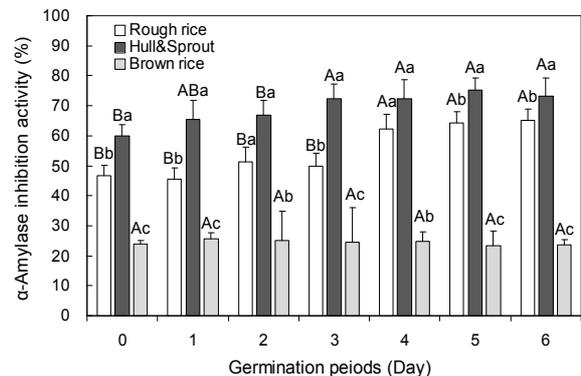


Fig. 2. Changes of  $\alpha$ -amylase inhibition activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 0.5 mg/mL. Values are mean  $\pm$  SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference (p<0.05) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference (p<0.05) among different part of germinated rough rice.

아후기 3~5일의 시료가 72.37~75.32% 범위의 저해활성을 나타내어 발아 전 59.88%에 비하여 증가하였으며, 현미추출물의 경우 발아 전 기간에 걸쳐 23.30~25.76% 범위의 저해활성을 나타내었으나 발아 일수의 증가에 따라서는 유의적인 변화를 보이지 않았다.  $\alpha$ -Amylase는 amylose 및 amylopectin이나 glycogen과 같이  $\alpha$ -결합의 glucose로 되어있는 다당류에 작용하여 포도당과 엿당으로 분해하는 소화효소이다. 이러한 효소의 활성저해는 당질 가수분해와 흡수과정을 지연시킴으로 식후 당 농도를 제한할 수 있다(25). 본 연구에서의  $\alpha$ -amylase 저해활성 결과는  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 변화(Fig. 1)와 유사한 경향을 보였으며, 녹두를 발아시킬 경우에도 발아 6일차까지  $\alpha$ -amylase 저해활성이 증가하였다는 연구(26) 결과로 미루어볼 때 종자의 발아 시 혈당 상승을 억제할 수 있는 다양한 생리활성 성분들이 생성되거나 증가되어  $\alpha$ -amylase 저해효과가 증가하는 것으로 판단되며, 추후 이러한 성분들에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

#### DPP-4 억제활성

발아기간 및 부위별 추출물에 대한 DPP-4 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 모든 추출물에 대하여 발아 4일과 5일까지는 증가하다가 그 이후 감소하는 경향을 보였으며, 부위에 따른 DPP-4 저해활성은 왕겨+싹 추출물이 현미추출물에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 각각의 저해활성은 1 mg/mL의 시료 농도에서 측정한 것으로 발아 전 왕겨+싹 추출물의 DPP-4 저해활성은 38.80%이었지만 발아 4일 및 5일차에서 각각 45.88% 및 47.77%로 증가하여 발아 5일차에서 가장 높게 나타났으며, 현미 추출물의 경우 발아 전에는 활성이 없었으나 발아 4일 및 5일차에서 각각 4.01% 및 8.96%의 저해활성이 나타났다. DPP-4는 인슐린과 글루카곤 분비를 조절하여 체내 glucose 항상성을 조절하는 장내호르몬인 glucagon like peptide 1(GLP-1)과 glucose

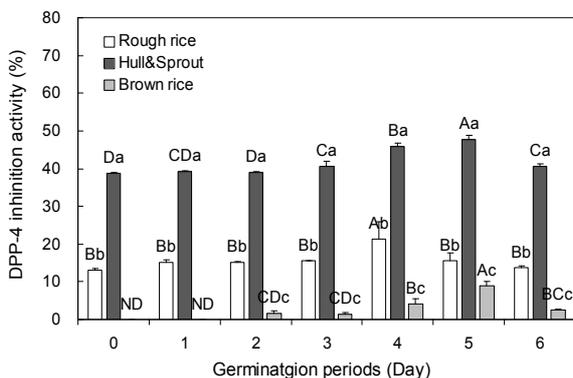


Fig. 3. Changes of DPP-4 inhibition activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 1 mg/mL. Values are mean  $\pm$  SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) among different part of germinated rough rice.

dependent insulinotropic peptide(GIP)를 분해하는 효소로써, DPP-4 저해능은 dipeptidyl peptidase 4 효소에 결합하여 GLP-1와 GIP가 분해되는 것을 억제하여 혈당을 조절하기 때문에 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다(27). 따라서 발아 벼의 왕겨+싹에서 발아 시 dipeptidyl peptidase를 경쟁적으로 저해하여 GLP-1과 GIP 수치를 상승시킬 수 있는 성분이 증가한 것으로 판단되며, 추후에 어떠한 성분에 의해 DPP-4 저해활성이 증가되었는지에 대한 연구가 필요하다고 생각한다.

#### Angiotensin converting enzyme I (ACE) 저해활성

발아기간 및 부위별 추출물에 대한 ACE 저해활성을 측정한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 발아 5일까지는 증가하다가 그 이후 감소하는 경향을 나타내었으며, 부위에 따른 ACE 저해활성의 변화는 왕겨+싹 추출물이 현미추출물에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 왕겨+싹의 경우 발아 전 ACE 저해활성은 43.16%이었지만 발아 5일차에는 58.60%로 증가하였고, 발아 6일차에는 56.89%로 감소하여 발아 5일차에서 가장 높은 ACE 저해활성을 나타내었으며, 현미 추출물의 경우 발아 4일차가 14.50%로 발아 전 0.88%에 비해 높게 나타났다. ACE는 불활성형의 angiotensin-I(decapeptide)의 C말단에 존재하는 His-Leu를 절단하여 혈관벽 수축작용을 하는 angiotensin-II(octapeptide)를 생성하고 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화 시키는 효소이다(28). ACE 저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin-II의 생성저해, aldosterone 분비감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다(29). Kim 등(17)의 연구에 의하면 발아 전후 일품벼의 ACE 저해활성의 증가를 볼 수 있으며, 부위별 추출물에 대한 ACE 저해활성의 경우 현미층에 비해 왕겨층과 싹층에서 높은 저해활성을 나타낸다고 보고하였다. 본 연구에서도 왕겨+싹 추출물에서

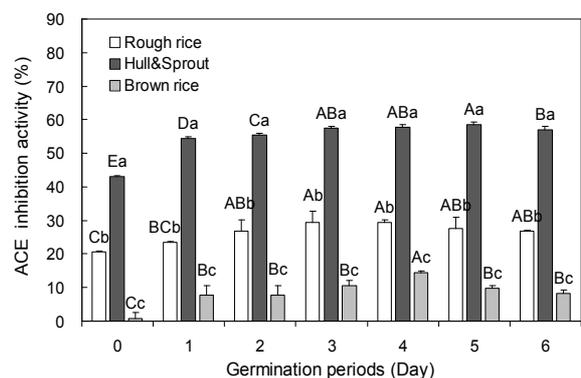


Fig. 4. Changes of ACE inhibition activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 4 mg/mL. Values are mean  $\pm$  SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) among different part of germinated rough rice.

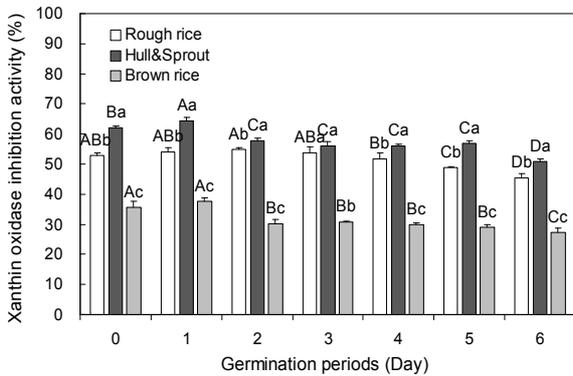


Fig. 5. Changes of xanthine oxidase inhibition activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 0.5 mg/mL. Values are mean±SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ( $p<0.05$ ) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference ( $p<0.05$ ) among different part of germinated rough rice.

발아기간이 증가함에 따라 ACE 저해활성이 증가하였으며, 이는 왕겨층과 싹에서 혈압을 낮추어주는 물질이 발아 시 증가한 것으로 판단된다.

#### Xanthine oxidase 저해활성

발아기간 및 부위별 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. Xanthine oxidase 저해활성은 0.5 mg/mL의 농도에서 측정한 것으로 높은 저해능을 나타냈었지만 발아초기에 비해 발아가 진행됨에 따라 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다( $p<0.05$ ). 부위별 저해활성은 현미층에 비해 왕겨+싹에서 높게 나타났다( $p<0.05$ ). 발아 1일차의 왕겨+싹은 64.49%로 무발아 시료 62.02%보다 약간 높은 저해활성을 나타내었지만 이후 감소하는 경향을 보여, 발아 6일차에는 50.83%의 저해율을 나타내었다. 또한 현미 추출물에서도 왕겨+싹 추출물과 유사한 경향을 나타내었지만, 발아기간에 따라 27.27~37.55% 범위의 xanthine oxidase 저해율을 보여 왕겨+싹 추출물에 비해 전반적으로 낮게 나타났다. Xanthine oxidase는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine 으로부터 urate를 형성하며, urate가 혈장 내에서 증가되면 골절에 축적되어 통풍을 일으키는 효소로 알려져 있다(30). Xanthine oxidase에 대한 저해능은 urate 형성을 감소시켜 통풍유발을 억제할 수 있어 항통풍 활성 측정법으로 이용된다. Gallolyl기를 함유한 flavonoid 화합물과 polyphenol 화합물이 xanthine oxidase를 경쟁적으로 저해하며(31), 발아 초기 총 폴리페놀함량이 증가하다가 발아후기에 감소한다는 Kim 등(32)의 연구결과로 미루어 볼 때, 본 연구에서도 발아후기에 xanthine oxidase 저해활성이 감소하는 것은 xanthine oxidase를 경쟁적으로 저해하는 polyphenol 화합물과 flavonoid 화합물의 함량이 감소하였기 때문이라고 판단된다.

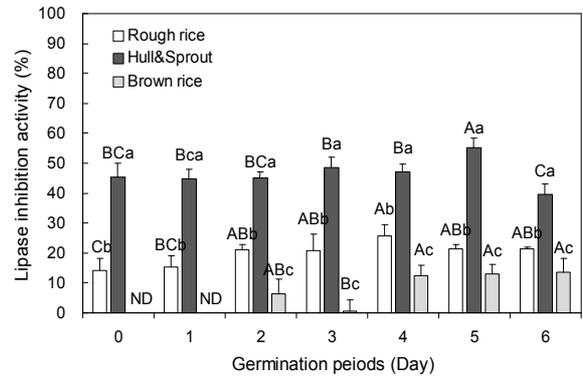


Fig. 6. Changes of lipase inhibition activity in different part and germination periods of rough rice. Sample concentration: 1 mg/mL. Values are mean±SD of 3 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ( $p<0.05$ ) among different germination periods. Different small letters in the same items indicate a significant difference ( $p<0.05$ ) among different part of germinated rough rice.

#### Lipase 저해활성

발아기간 및 부위별 추출물에 대한 lipase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 6에서 보는 바와 같다. 각각의 저해활성은 1 mg/mL의 농도에서 측정한 것으로 발아일수가 증가함에 따라 발아벼와 왕겨+싹 추출물의 lipase 저해활성이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 또한 부위별 저해활성은 왕겨+싹 추출물이 현미 추출물에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 발아 5일차의 왕겨+싹 시료가 55.17%로 가장 높은 lipase 저해활성을 나타내었으며, 현미추출물의 경우 발아 전에는 활성이 없었으나 발아 후기 4~6일 차에 12.43~13.70% 범위의 저해활성을 나타내었다. 지방의 분해 및 흡수와 관련된 효소 중 pancreatic lipase는 triacylglycerol을 2-mon-oacylglycerol과 두 분자의 fatty acid로 분해하는 핵심적인 반응을 진행시키는 효소로 작용한다(33). 따라서 지방의 분해에 관여하는 효소의 활성을 저해하여 소화를 방해함으로써 체내로의 지방 흡수를 억제하게 되어 비만억제 활성을 나타낼 것으로 기대된다. Li 등(34)의 연구에 의하면 발아현미와 키토산을 처리한 발아현미가 일반현미에 비해 lipase 저해활성이 높게 증가하였다 하였는데, 본 연구에서도 발아가 진행됨에 따라 lipase 저해활성이 증가하여 발아과정 중 lipase 저해에 기여하는 성분이 증가한 것으로 판단된다.

#### 상관관계

발아기간과 부위별  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, DPP-4, ACE, xanthine oxidase 및 lipase 저해활성 간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 1과 같다. 발아기간이 증가할수록 발아벼의 왕겨층+싹 시료에서 전반적으로 높은 효소저해활성을 나타내었으며, 각 효소저해활성 간의 상관관계는 모두 양의 상관관계를 보였다.  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과  $\alpha$ -amylase, DPP-4, ACE, xanthine oxidase 및 lipase 저해활성 간의 상관관계는 각각 0.886, 0.827, 0.686, 0.742 및 0.817( $p<0.01$ )으로 높은 양의 상관관계를 나타내었으며, 특히  $\alpha$ -

Table 1. Correlation coefficients among  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, DPP-4, ACE, xanthine oxidase, and lipase inhibition activity of germinated rough rice

Factor	$\alpha$ -Glucosidase	$\alpha$ -Amylase	DPP-4	ACE	Xanthine oxidase	Lipase
$\alpha$ -Glucosidase	1	0.886**	0.827**	0.686**	0.742**	0.817**
$\alpha$ -Amylase		1	0.874**	0.718**	0.892**	0.835**
DPP-4			1	0.914**	0.804**	0.939**
ACE				1	0.574**	0.858**
Xanthine oxidase					1	0.738**
Lipase						1

\*\*p&lt;0.01.

glucosidase 저해활성과  $\alpha$ -amylase 및 DPP-4 저해활성 사이의 상관계수가 높게 나타나 왕겨층과 쌀에 존재하는 혈당 상승을 억제할 수 있는 항당뇨 관련 물질이 발아 시 증가한 것이라고 판단된다.

## 요 약

본 연구에서는 발아기간 및 부위별 벼 추출물에 대한 다양한 효소활성 저해효과를 조사하였다. 발아기간은 6일까지로 하였고, 발아된 벼는 왕겨+쌀 부위와 현미로 나누어 80% ethanol로 환류 추출하였다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 왕겨+쌀 추출물에서 발아 전 26.32%에서 발아 5일차 39.38%로 증가하였으며,  $\alpha$ -amylase 저해활성은 왕겨+쌀 추출물에서 발아 전 59.98%에서 발아 5일차 75.32%로 증가하였고, DPP-4 저해활성 또한 왕겨+쌀 추출물에서 발아 전 38.80%에서 발아 5일차 47.77%로 증가하여 발아에 의해 효소활성 저해가 증가하였다. ACE 저해활성은 왕겨+쌀 추출물에서 가장 높았으며 발아에 의해 증가하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 발아가 진행됨에 따라 감소하였다. Lipase 저해활성은 발아 4일차 왕겨+쌀 추출물이 36.78%로 무발아 31.72%에 비하여 증가하였다. 본 연구결과 벼를 발아시킬 경우 왕겨+쌀에서 성인병 관료 효소를 억제하는 성분이 증가함을 알 수 있었으며, 추후에 어떠한 성분에 의한 것인지에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 고부가가치식품기술개발사업 (과제번호: 112077-03-SB010)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Chae JW, Park HJ, Kang SA, Cha WS, Ahn DH, Cho YJ. 2012. Inhibitory effects of various mulberry fruits (*Morus alba* L.) on related enzymes to adult disease. *J Life Sci* 22: 920-927.
- Korean Statistical Association. 2007. Annual report on the cause of death statistics. Korean Statistical Association, Seoul, Korea. p 10-11.
- Egede LE, Ellis C. 2010. Diabetes and depression: global perspectives. *Diabetes Res Clin Pract* 87: 302-312.
- Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against  $\alpha$ -amylase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 103-108.
- Lee JH, Jeong OY, Lee KS, Kim HY, Yang CI, Lee SB, Choi YH, Kim YG, Lee YT. 2008. Breeding for micro-nutrient-enriched japonica rice for improving human health. *Treat of Crop Res* 9: 97-108.
- Kim LS, Son YK, Son JR, Hur HS. 2001. Effect of germination condition and drying methods on physicochemical properties of sprouted brown rice. *Korean J Crop Sci* 46: 221-228.
- Bae SM, Kim JH, Cho CW, Jeong TJ, Yook HS, Byun MW, Lee SC. 2002. Effect of  $\gamma$ -irradiation on the antioxidant activity of rice hull, rice bran and barley bran. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 246-250.
- Lee YR, Kim JY, Woo KS, Hwang IG, Kim KH, Kim KJ, Kim JH, Jeong HS. 2007. Changes in the chemical and functional components of Korean rough rice before and after germination. *Food Sci Biotechnol* 16: 1006-1010.
- Ko JY, Song SB, Lee JS, Kang JR, Seo MC, Oh BG, Kwak DY, Nam MH, Jeong HS, Woo KS. 2011. Changes in chemical components of foxtail millet, proso millet, and sorghum with germination. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1128-1135.
- Lee EH, Kim CJ. 2008. Nutritional changes of buckwheat during germination. *Korean J Food Culture* 23: 121-129.
- Chung DS, Kim HK. 1998. Changes of protein and lipid composition during germination of *Perilla frutescens* seeds. *Korean J Life Sci* 8: 318-325.
- Kim JS, Kim JG, Kim WJ. 2004. Changes in isoflavone and oligosaccharides of soybeans during germination. *Korean J Food Sci Technol* 36: 294-298.
- Kang BR, Park MJ, Lee HS. 2006. Germination dependency of antioxidative activities in brown rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 389-394.
- Choi HD, Kim YS, Choi IW, Seog HM, Park YD. 2006. Anti-obesity and cholesterol-lowering effects of germinated brown rice in rats fed with high fat and cholesterol diets. *Korean J Food Sci Technol* 38: 674-678.
- Kim HY, Hwang IG, Joung EM, Kim TM, Kim DJ, Park DS, Lee JS, Jeong HS. 2010. Antiproliferation effects of germinated-Korean rough rice extract on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 325-330.
- Kim HY, Hwang IG, Kim TM, Park DS, Kim JK, Kim DJ, Lee YR, Lee JS, Jeong HS. 2011. Changes in chemical composition of rough rice (*Oryza sativa* L.) according to germination period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1265-1270.
- Kim HY, Hwang IG, Kim TM, Park DS, Kim JH, Kim DJ, Lee JS, Jeong HS. 2011. Antioxidant and angiotensin converting enzyme I inhibitory activity on different parts of germinated rough rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:

- 775-780.
18. Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of gibberellin-inducible, putative  $\alpha$ -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30: 229-241.
  19. Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against  $\alpha$ -amylase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48 : 103-108.
  20. Kwon EK, Kim YE, Lee CH, Kim HY. 2006. Screening of nine herbs with biological activities on ACE inhibition, HMG-CoA reductase inhibition, and fibrinolysis. *Korean J Food Sci Technol* 38: 691-698.
  21. Stirpe F, Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
  22. Kim JH, Kim HJ, Kim C, Jung H, Kim YO, Ju JY, Shin CS. 2007. Development of lipase inhibitors from various derivatives of monascus pigment produced by *Monascus* fermentation. *Food Chem* 101: 357-364.
  23. Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. 2006. Studies for component analysis, antioxidative activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 77-81.
  24. Randhir R, Kwon YI, Shetty K. 2009. Improved health-relevant functionality in dark germinated *Mucuna pruriens* sprouts by elicitation with peptide and phytochemical elicitors. *Bioresour Technol* 100: 4507-4514.
  25. Jang YS, Jeong JM. 2010. Antioxidative effects and digestive enzyme inhibition of grape seed extract (GSE). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 783-788.
  26. Randhir R, Shetty K. 2004. Mung beans processed by solid-state bioconversion improves phenolic content and functionality relevant for diabetes and ulcer management. *Innov Food Sci Emerg* 8: 197-204.
  27. Park HJ, Lee OS, Lim SC. 2012. Sitagliptin and vildagliptin use evaluation among dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in adult Koreans with type 2 diabetes mellitus. *Yakhak Hoeji* 56: 136-143.
  28. Noh H, Song KB. 2001. Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenathe javanica*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 44: 98-99.
  29. Oh SJ, Kim SH, Kim SK, Baek YJ, Cho KH. 1997. K-casein fragments hydrolyzed by chymosin, pepsin and trypsin. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J Food Sci* 7: 230-234.
  30. Cho YJ, Chun SS, Choi C. 1993. Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 418-422.
  31. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T, Ikegami Y, Matsuda M, Yazaki K, Agata I, Nishibe S, Noro T, Yoshizaki M, Okuda T. 1991. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med* 57: 83-84.
  32. Kim HY, Lee SH, Hwang IG, Kim TM, Park DS, Kim JH, Kim DJ, Lee JS, Jeong HS. 2012. Antioxidant activity and anticancer effects of rough rice (*Oryza sativa* L.) by germination periods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 14-19.
  33. Park JA, Park C, Han MH, Kim BW, Chung YH, Cho YH. 2011. Inhibition of adipocyte differentiation and adipogenesis by aged black garlic extracts in 3T3-L1 pre-adipocytes. *J Life Sci* 21: 720-728.
  34. Li H, Cho JY, Gao TC, Choi CR, Lee KD, Cho JE, Cho GS, Ham KS. 2008. Increment of physiologically active compounds in germinated brown rice treated with chitosan and its effect on obesity of rat feed a high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 985-991.

(2013년 2월 26일 접수; 2013년 4월 24일 채택)