

호화과정이 백미, 현미, 발아현미의 항산화 및 항유전 독성 활성에 미치는 영향

김소윤 · 서보영 · 박은주[†]

경남대학교 식품영양학과

The Impact of Cooking on the Antioxidative and Antigenotoxic Effects of Rice

So-Yun Kim, Bo-Young Seo, and Eunju Park[†]

Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

ABSTRACT Rice is widely grown in Asia and is one of the major dietary staples in the world. Also, rice contains antioxidants which can prevent from oxidative stress related diseases, including cancer, atherosclerosis, and diabetes. Because the rice is consumed cooked, the effect of the cooking process on the antioxidative and antigenotoxic properties of rice is lacking. The aim of this study was to determine the effects of cooking on the antioxidant and antigenotoxic effects of white rice (WR), brown rice (BR), and germinated brown rice (GBR). The antioxidant activities were measured for total phenolic content (TPC), DPPH radical scavenging activity (DPPH RSA), total antioxidant capacity (TRAP), and oxygen radical absorbance capacity (ORAC). The highest TPC was found in uncooked BR (18.4 mg gallic acid equivalent/100 g). After cooking, the TPC of WR significantly increased, while the TPC of BR and GBR were reduced by 47.7% and 36.7%, respectively. The IC₅₀ for DPPH RSA was not significantly different in uncooked rice, while the DPPH RSA of WR and GBR decreased after cooking and the DPPH RSA of BR significantly increased. TRAP values in BR and GBR increased after cooking, while the value of WR decreased. The ORAC values of uncooked WR, BR, and GBR were 5.3, 4.3, and 3.9 μM trolox equivalent at the concentration of 50 μg/mL. After cooking, the ORAC value of BR remained unchanged, while the value of GBR increased and the value of WR decreased. The antigenotoxic activities of WR, BR, and GBR were determined by measuring the inhibitory effects of H₂O₂-induced DNA damage on human leukocytes using the comet assay. The results showed that all rice tested showed a significant antigenotoxic effect against oxidative stress, except for the cooked white rice. Overall, our results indicate the addition of brown rice and/or germinated brown rice to cooked white rice is a good option for improving the benefits of rice.

Key words: white rice, brown rice, germinated brown rice, cooking, antioxidant

서 론

쌀은 전 세계에서 3대 주요 곡물에 속하는 귀중한 식량작물이며 탄수화물의 주요 공급원이다(1). 벼는 쌀을 탈곡하기 전의 형태로써 크게 왕겨층과 과피, 종피 및 호분층으로 분리할 수 있으며 도정 정도에 따라 겨층을 완전 도정한 백미와 벼의 최외각 층인 왕겨만을 벗겨낸 현미로 분류되며 현미를 적정한 수분, 온도, 산소 조건하에서 1~5 mm 정도 짙을 퍅은 것을 발아현미라 한다(2,3). 백미는 도정 과정을 거치면서 미강부분이 탈피되어 영양소의 손실이 큰 반면, 현미는 제거되지 않은 미강이 배아를 단단히 지켜주면서 배유를 완전히 감싸고 있기 때문에 양질의 식물성 단백질을 비롯한 지방, 칼슘, 인, 나트륨 및 철 등의 미네랄과 비타민 B₁, 비타민 B₂, 비타민 B₆, 니코틴산, 판토텐산, 엽산 및 비타민 E

등의 비타민류가 소실되지 않고 보유된다(4). 그러나 현미의 외피는 단단해서 수분흡수율이 낮아 호화가 잘되지 않고 피틴산이 존재하여 소화 흡수성이 떨어진다(5). 또한 조리 후에도 남아있는 거친 식감 때문에 부드러운 음식에 길들여진 현대인에게는 식미를 감소시키는 단점을 가지고 있다(6). 그에 반해 발아현미는 당질, 단백질 등에 가수분해효소가 작용하여 내부조직이 영성해지므로 취반성이 개선될 뿐만 아니라 현미에 존재하던 피틴산이 인과 inositol로 분해되고 발아 과정 중 수분흡수율이 증가하여 소화성이 증진된다(5,7). 또한 γ-orizanol이나 ferulic acid, GABA, squalene, phytosterol 등의 생리활성 성분이 증가한다(8).

최근 산화적 스트레스로 인한 노화 및 심혈관질환, 암과 같은 질병을 예방하기 위한 항산화 영양소에 대한 관심이 증대되고 있다(9). 쌀의 항산화 효능에 관한 연구로는 발아 시간과 압출성형 온도가 벼 품종별 현미 및 백미의 항산화 성분 및 항산화 효과에 관한 연구(10)와 현미의 발아 정도에 의한 항산화 활성의 변화(11) 등이 보고된 바 있다. 그러나 이들 연구들의 대부분은 취반하지 않은 쌀의 항산화 효능을

Received 1 April 2013; Accepted 30 July 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: pej@kyungnam.ac.kr, Phone: 82-55-249-2218

평가한 것으로 우리가 일상적으로 섭취하는 형태인 호화 과정을 거친 쌀의 항산화 효능에 대해서는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 호화과정에 의한 백미, 현미, 발아현미 세 종류 쌀의 항산화 활성화 및 항유전 독성 활성화 변화를 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료

백미(울산 혼합), 현미(인천 일미), 발아현미(충북 혼합)는 2012년 4월에 경남 창원 소재하는 L마트에서 시판하는 제품을 구입하여 분석에 이용하였다.

시료의 추출

백미(white rice, WR), 현미(brown rice, BR), 발아현미(germinated brown rice, GBR)를 막자사발에서 분쇄하여 5 g을 100 mL의 ethyl alcohol에 침지하여 실온에서 72시간 동안 추출하였다. 호화과정 후 활성 변화를 알아보기 위하여 Kim 등(12)의 사전연구 방법으로 각 시료를 상온의 증류수에 3번 세척하여 쌀 무게에 1.5배의 증류수를 가하여 전기밥솥(CRP-A1027MX, Cuckoo Co., Seoul, Korea)으로 취반하였다. 조리 전 쌀과 동일한 양을 사용하기 위하여 취반 후 쌀의 중량을 취반 전 무게와 비교하여 수분함량을 감안하여 추출에 이용하였다(cooked WR: 8.92 g, cooked BR: 6.88 g, cooked GBR: 7.09 g). 추출 조건은 취반 전 시료 처리방법과 동일하게 시행하였다. 각 추출물은 여과지(Whatman No. 1)로 여과한 후, 이것을 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 37°C에서 농축하였으며 농축물은 10 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 분석 시까지 -20°C에서 보관하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법(13)으로 측정하였다. 즉 시료 1 mL를 취하여 D.W 1 mL를 가하여 희석하고 1 N Folin-Ciocalteu 시약 2 mL를 가하여 실온에서 3분간 방치한 후, 10% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가하여 잘 섞은 후 상온에서 암실조건으로 방치하였다. 1시간 후 시료를 원심 분리시킨 다음(13,400×g, 5 min) 상층액을 취하여 ELISA reader(Sunrise™, Tecan Co. Ltd., Grödig, Austria)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg gallic acid equivalents(GAE)/100 g 단위로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Mensor 등의 방법(14)을 변형하여 측정하였다. 에탄올에 녹인 0.2 mM DPPH 용액 80 µL를 20 µL의 농도별 시료(0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/mL)에 가한 후 10초 동안 혼합하고 상온에서 10분간 반응시켜 ELISA

reader(Sunrise™, Tecan Co. Ltd.)를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 DPPH radical 소거능은 아래의 식에 의해 계산하여 산출하였으며, 대조구에는 20 µL의 DMSO로 처리하여 흡광도를 측정하였고 원 시료의 색은 자체 흡광도를 측정하여 보정하였다. 50%의 DPPH radical을 저해하는 농도인 IC₅₀(inhibitory concentration) 값을 구하여 제시하였다. 양성 대조군으로 ascorbic acid (Junsei Chemical, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

Radical scavenging activity (RSA, %)=(1-A/B)×100
A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

추출물의 총항산화능(total radical trapping antioxidant potential, TRAP) 측정

시료 중 총항산화능은 Rice-Evans와 Miller의 inhibition assay 방법에 따라 분석하였다(15). 이 방법은 ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), 150 µM]와 metmyoglobin(2.5 µM)을 H₂O₂(75 µM)로 활성화 시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 absorbance를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 absorbance의 억제 정도는 시료(0.84% extracts)에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. 시료를 6분 동안 30°C에서 배양한 후 UV/VIS spectrophotometer(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 740 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 TRAP 농도는 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC(Trolox equivalent antioxidant capacity, mM)로 표현하였다.

ORAC(oxygen radical absorbance capacity) 측정

호화과정 전후의 백미, 현미, 발아현미 추출물(1, 5, 10, 50 µg/mL)에 대하여 ORAC assay를 이용한 항산화 활성화 측정은 Kurihara 등(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 peroxy radical generator로 AAPH를 사용하여 최종 반응 농도가 20 nM이 되도록 처리하였다. 형광표준 용액인 fluorescein의 최종 반응 농도는 Ou 등(17)의 방법에 따라 40 nM이 되도록 처리하였으며, 최종 반응 농도 1 µM trolox를 control standard로 이용하였다. Free radical에 의한 fluorescein의 감소는 Tecan GENios multi-functional plate reader(Tecan Trading AG, Salzburg, Austria)를 이용하여 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 2시간 동안 2분 간격으로 측정하였다. 각 시료 추출물의 ORAC value는 형광이 감소하는 곡선 아래 부분의 총면적(net area under the curve)을 산출하여 1 µM trolox equivalents(TE)로 나타내었으며 각 시료에 대한 실험은 최소 3회 반복 실험하였다.

Net area under the curve:

$$\text{net AUC} = \text{AUC}_{\text{sample}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$$

$$\text{ORAC value} = \text{net AUC}_{\text{sample}} / \text{net AUC}_{\text{trolox}}$$

혈액 내 백혈구 세포 분리 및 시료 처리

건강한 성인남성으로부터 채혈한 신선한 전혈을 Histo-paque[®]-1077(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 이용해 백혈구를 분리한 후 본 실험에 사용하였다. Singh 등(18)의 alkaline comet assay 방법에 따라 분리해 놓은 백혈구에 100 µg/mL의 농도로 처리하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 백혈구를 PBS(phosphate buffered saline)로 세척한 후 인위적인 산화적 스트레스를 유발하기 위하여 200 µM의 H₂O₂를 처리하여 4°C에 5분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. Positive control을 위해 시료 대신 1% DMSO를 처리한 후 200 µM H₂O₂를 처리하였고, negative control(NC)은 DMSO만을 처리하였다.

DNA 손상 측정(comet assay)

반응을 끝낸 백혈구를 75 µL의 0.7% low melting agarose gel(LMA)과 섞은 후, 1.0% normal melting agarose(NMA)를 미리 코팅한 슬라이드 위로 현탁액이 골고루 분산되게 한 후 커버 글라스로 덮어 4°C에 방치하였다. 젤이 굳으면 커버 글라스를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 µL로 덮은 후 4°C에 방치하였다. 젤이 굳으면 차가운 alkali lysis buffer(2.5M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM tris, 1% sodium lauryl sarcosine, 1% Triton X-100, 10% DMSO)에 슬라이드를 담가 암실에 1시간 동안 침지시켜 백혈구를 용해시켜 핵막을 제거하였다. Lysis가 끝난 후, 슬라이드를 전기영동수조에 배열하고 4°C의 차가운 전기영동 buffer(300 mM NaOH, 10 mM Na₂EDTA, pH>13)를 채워 20분 동안 방치하여 DNA의 이중가닥을 풀어주어 alkali labile sites가 드러나게 한 후 25 V/300±3 mA의 전압으로 20분간 전기영동을 실시하였다. 본 과정은 빛에 의한 DNA의 부가적 손상을 막기 위해 암실조건에서 실시하였으며 전기영동이 끝난 후 차가운 중성용액(0.4 M trizma base, pH 7.5)에 5분간 3회 세척하여 중화시켰으며 에탄올에 5분간 세척한 후 슬라이드를 건조시켰다. 20 µg/mL ethidium bromide로 염색한 slide를 형광현미경(LEICA DM LB, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)의 CCD 카메라(Nikon, Tokyo, Japan)를 통해 보내진 세포핵 이미지를 comet image analyzing system(Komet version 5.0, Kinetic Imaging, Liverpool, UK)을 이용해 분석하였다. 백혈구의 200 µM H₂O₂에 의해 유도된 DNA의 손상 정도는 핵으로부터 꼬리 부분으로 떨어져 나간 꼬리 부분 내 DNA 함량(tail intensity)으로 나타내었다.

Tail intensity=tail 내 함유된 DNA의 %

통계처리

모든 데이터의 통계처리는 SPSS Windows 14.0(IBM, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였고 결과는 평균±표준편차(SD)로 나타내었으며, 신뢰수준 95%($P<0.05$)에서 평균값들에 대해 유의성을 검증하였다. 각 항목은 조리

전과 후로 나누어 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 통해 F값을 구하고, Duncan's multiple range test를 이용하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다. 각 시료의 조리 전후의 비교는 독립표본 *t*-test를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

호화가 백미, 현미, 발아현미의 총 페놀 함량에 미치는 영향

백미, 현미, 발아현미의 총 페놀 함량 분석 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 호화 전 시료의 총 페놀함량은 백미 4.8±0.6 mg GAE/100 g, 현미 18.4±0.3 mg GAE/100 g, 발아현미 15.2±1.2 mg GAE/100 g으로 나타났다. 백미에 비해 현미의 총 폴리페놀 함량이 4배 이상 높은 것으로 나타났으며 발아현미는 현미보다 다소 낮은 것으로 나타났다. 이는 도정 정도에 따라 그리고 발아 유무에 따라 총 페놀 함량이 영향을 받는 것으로 판단된다. 추청쌀의 백미와 현미의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과(19), 백미에 비해 현미가 5배 높게 나타났으며, Kim 등(10)에 의한 품종별 현미와 백미 에탄올 추출물의 총 페놀함량 분석 결과에서도 모든 품종에서 백미에 비해 현미의 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타났다. Kim 등(20)에 의하면 현미의 발아 정도에 따라서도 총 페놀 함량은 영향을 받으며 현미에 비해 발아현미의 총 페놀 함량이 약 30% 가량 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 선행연구 결과는 본 연구와도 일치함을 알 수 있었다. Polyphenol compounds는 식물이 함유하는 항산화 활성과 관련이 깊은 성분으로써 이들이 가지는 phenolic hydroxyl기에 의해 단백질 및 기타 거대분자들과 결합하여 생리활성 효과를 나타낸다(21,22). 쌀의 경우 미강부분에 cumaric acid, syringic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid 등이 다량 존재하는 것으로 알려져 있으며(23), 이러한 성분은 발아 시간과 온도에 따라 영향을 받는 것으로 나타났다(20).

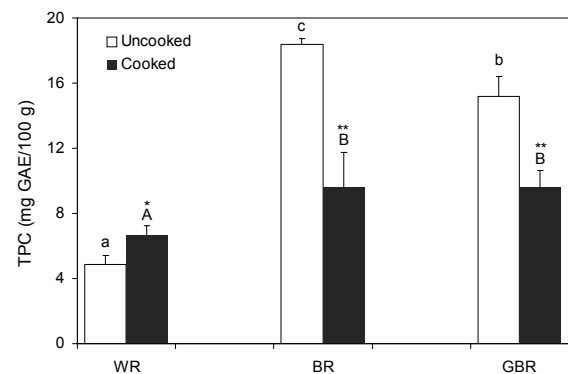


Fig. 1. Effect of cooking on total phenolic contents (TPC) of various rices. Values are means±SD. GAE, gallic acid equivalents (mg GAE/100 g). WR, white rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice. The different small letters (a-c) and the different capital letters (A-C) mean significantly difference among the uncooked rices and cooked rices respectively by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$; Significantly different from cooking process by Student *t*-test.

본 연구에서도 현미에 비해 발아현미의 총 페놀 함량이 낮은 이유는 발아과정을 거치면서 이들 성분의 함량에 차이를 보임으로써 나타난 결과로 사료된다. 호화 후의 총 페놀 함량은 백미의 경우 37% 증가하였고, 현미와 발아현미는 각각 47.7%, 36.7% 감소하였으나 호화 후에도 현미, 발아현미가 백미에 비해 총 페놀 함량은 유의적으로 높았다(Fig. 1). 이러한 결과는 취반과정에서 일어나는 호화에 의해 생리활성 물질들이 화학적 변성을 일으킨 결과로 유추되나 이를 뒷받침할 수 있는 선행연구는 아직 보고된 바 없으며 조리 전후에 따른 쌀의 함유 성분 분석이 차후 진행되어야 할 것으로 사료된다.

호화가 백미, 현미, 발아현미의 DPPH radical 소거능에 미치는 영향

DPPH는 비교적 안정한 free radical로서 수소 공여체의 수소기와 결합 시 환원되어 DPPH의 보라빛이 탈색되는 원리로 항산화 활성 측정에 많이 이용되고 있다(24). 호화 전후의 백미, 현미, 발아현미의 DPPH radical 소거능을 Table 1에 제시하였으며 radical을 50% 저해하는 농도인 IC₅₀은 Fig. 2A에 제시하였다. 백미를 제외한 모든 시료에서 농도 유의적인 DPPH radical 소거능을 나타내었으며 2 mg/mL의 최고 농도에서 현미의 radical 소거능은 호화 전 24.2±0.4%에서 호화 후 27.8±0.3%로 증가한 반면, 백미와 발아현미는 호화 후 각각 94.8%, 20% 가량 감소하였다. 호화 전 각 시료의 IC₅₀은 현미의 경우 호화 전 3.5±0.0 mg/mL에서 호화 후 3.1±0.0 mg/mL로 감소하였고, 발아현미의 IC₅₀은 호화 전 3.3±0.2 mg/mL에서 호화 후 4.2±0.2 mg/mL로 증가하였으며, 호화 후 백미의 경우 저농도에서 활성이 측정되지 않아 호화 과정에 대한 IC₅₀의 차이를 나타낼 수 없었다(Fig. 2A). 따라서 취반과정을 통해 현미의 DPPH radical 소거활성은 증가하나 백미와 발아현미는 감소함을 알 수 있었다. 한편 각 샘플의 IC₅₀값은 양성대조구인 ascorbic acid (IC₅₀ 0.03±0.0 mg/mL)에 비해 높은 것으로 나타나(data not shown) 백미, 현미, 발아현미의 전반적인 DPPH radical 소거활성이 매우 낮음을 알 수 있었다.

Kim 등(10)의 연구결과에 의하면 품종별 백미와 현미의 DPPH radical 소거활성을 분석한 결과, 백미에 비해 현미의 활성이 높음을 알 수 있었으며 그 수치는 품종에 따라 0~9

배 정도의 차이를 나타내었다. 또한 51종의 브랜드 쌀 중 항산화력이 뛰어난 6종의 백미에 10분간 열처리를 한 후 잔존하는 DPPH radical 소거활성을 분석한 결과(1), 적게는 2배에서 많게는 8배까지 활성이 감소하는 것으로 나타나 본 연구의 결과와 일치하는 경향을 보였다. Woo 등(25)의 연구에서 수원 511호와 일품쌀의 70% 에탄올 추출물이 1 mg/mL의 농도에서 각 14.16%와 10.92%의 활성을 가지는 것으로 보고하였으며 본 연구결과와 유사한 활성을 가지는 것으로 나타났다. 백미와 현미의 DPPH radical 소거활성 또는 현미를 이용한 발아 전후의 DPPH radical 소거활성을 분석한 사전 연구들(10,11,26)에 의하면 품종에 따라 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며 그 수치는 10~75%로 품종별 편차가 큰 것으로 나타났다. 따라서 본 연구의 결과만으로는 현미와 발아현미의 DPPH radical 소거활성을 비교하기에는 다소 무리가 있을 것으로 판단된다. 그럼에도 현미와 발아현미의 경우 호화 전후에 따른 DPPH radical 소거활성이 큰 변화를 보이지 않은 것은 미강층에 다량 함유되어 있는 항산화물과 연관이 있을 것으로 판단되며 이 물질들은 높은 내열성을 띄어 호화 과정 중에 의한 열처리에도 활성을 유지하는 것으로 사료된다.

호화과정이 백미, 현미, 발아현미의 TRAP 및 ORAC 수준에 미치는 영향

TRAP 측정법은 항산화제들의 복합된 활성을 측정하여 특정 물질의 총 유리기 포집 항산화능을 나타내는 방법으로 알려져 있다(15). 호화 전후의 백미, 현미, 발아현미의 TRAP 수준에 관한 결과는 Table 2에 제시하였으며 IC₅₀값은 Fig. 2B에 나타내었다. 모든 시료에서 농도 유의적으로 활성이 증가하였으며 가장 높은 농도인 133.3 µg/mL에서 비교하였을 때 현미와 발아현미는 호화 후 각각 17.1%, 71.6% 증가한 반면, 호화 후 백미의 활성은 63.6% 감소하였다. 한편 발아현미의 IC₅₀값은 호화 전 90.3±1.8 µg/mL에서 호화 후 56.1±0.4 µg/mL로 감소하여 호화 후 총 항산화능이 증가한다는 것을 알 수 있었으나 호화 후 백미와 호화 전 현미의 경우 저농도에서 활성이 측정되지 않아 호화 전후 백미와 현미에 대한 IC₅₀의 차이를 비교할 수 없었다. 따라서 호화 과정에 따라 백미의 TRAP 수준은 감소하는 반면 현미와 발아현미의 TRAP 수준은 증가하는 것으로 확인되었다.

Table 1. Effect of cooking on DPPH radical scavenging activity of various rices (%)

Conc. (mg/mL)	WR ¹⁾		BR		GBR	
	Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked
0.25	3.6±0.8 ^a	N.D ²⁾	3.9±1.4 ^a	0.7±0.7 ^a	0.6±1.3 ^a	7.5±1.6 ^a
0.5	8.4±0.4 ^b	N.D	4.9±1.6 ^a	2.9±0.4 ^b	6.2±1.4 ^b	9.6±0.9 ^a
1.0	11.3±1.4 ^c	N.D	11.6±1.0 ^b	13.9±0.7 ^c	17.7±1.2 ^c	16.5±1.5 ^b
2.0	26.4±2.5 ^d	1.4±0.4	24.2±0.4 ^c	27.8±0.3 ^d	24.3±1.7 ^d	19.4±0.4 ^c

¹⁾WR, white rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice. ²⁾N.D: not detected.
 Values are mean±SD.
 Values not sharing the same letter within a column are significantly different from one another (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

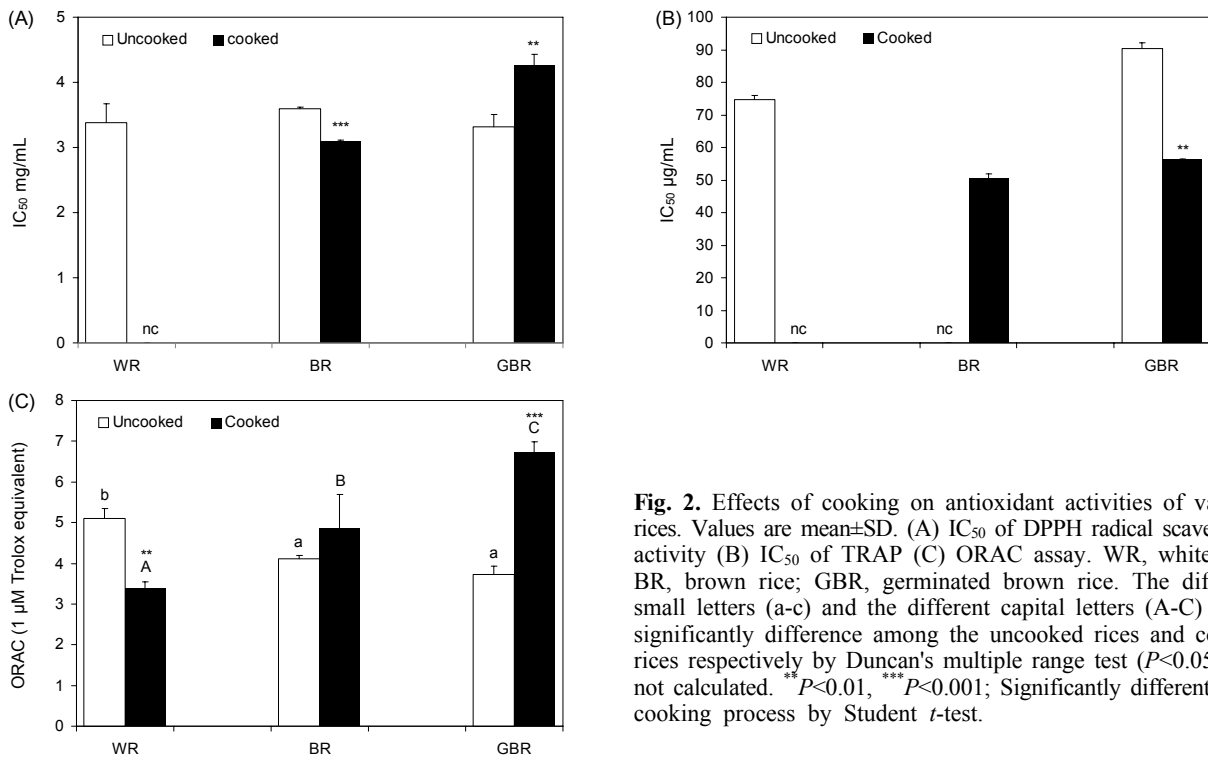


Fig. 2. Effects of cooking on antioxidant activities of various rices. Values are mean±SD. (A) IC₅₀ of DPPH radical scavenging activity (B) IC₅₀ of TRAP (C) ORAC assay. WR, white rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice. The different small letters (a-c) and the different capital letters (A-C) mean significantly difference among the uncooked rices and cooked rices respectively by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). nc, not calculated. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; Significantly different from cooking process by Student *t*-test.

Table 2. Effect of cooking on total radical trapping potential (TRAP, mM TEAC¹⁾) of various rices

Conc. (µg/mL)	WR ²⁾		BR		GBR	
	Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked
16.7	0.00±0.02 ^a	N.D. ³⁾	N.D.	0.24±0.05 ^a	0.00±0.08 ^a	0.06±0.03 ^a
33.3	0.26±0.01 ^b	N.D.	N.D.	0.65±0.03 ^b	0.10±0.01 ^b	0.26±0.02 ^b
66.7	0.51±0.01 ^c	0.19±0.03 ^a	0.35±0.04 ^a	1.20±0.01 ^d	0.36±0.06 ^c	0.87±0.01 ^c
133.3	0.99±0.02 ^d	0.36±0.06 ^b	0.76±0.01 ^b	0.89±0.03 ^c	0.81±0.01 ^d	1.39±0.02 ^d

¹⁾TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity. ²⁾WR, white rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice. ³⁾N.D: not detected. Values are mean±SD.

Values not sharing the same letter within a column are significantly different from one another ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

ORAC 측정법은 peroxy radical generator에서 유도된 peroxy radical에 대한 항산화 물질의 저해능을 측정하는 방법으로 peroxy radical과 형광 probe가 반응하여 형성되는 비형광 생성물의 양이 시간에 따라 얼마나 감소하는지를 평가하여 항산화 활성을 측정하는 원리이다(17,27). 1, 5, 10, 50 µg/mL 농도로 측정된 모든 시료에서 농도 의존적으로 ORAC 수준이 증가하는 것으로 나타났으며(data not shown), 가장 높은 농도인 50 µg/mL에서 쌀 종류별과 호화 전후의 ORAC 수준을 Fig. 2C에 제시하였다. 호화 전 백미의 ORAC 수준은 현미나 발아현미에 비해 유의적으로 높게 나타났으나 호화 후 백미의 ORAC 수준은 48% 감소한 반면, 발아현미의 경우에는 호화 전 3.9 µM TE에서 호화 후 6.9 µM TE로 ORAC 수준이 77% 증가한 것으로 나타났다. 현미의 경우에는 호화 후의 ORAC 수준이 증가하는 경향은 있었으나 유의성은 없었다. 즉 백미의 경우 호화 과정 중에 peroxy radical 저해능이 감소하였으나 현미나 발아현미의

경우에는 peroxy radical 저해능이 유지되거나 증가되는 것을 알 수 있었으며, 이는 앞에서 제시한 TRAP의 결과와 유사한 것으로 보인다. Chun 등(28)의 연구에 의하면 쌀의 항산화 활성은 배아나 미강 그리고 백미 등의 부위에 따라 항산화 활성이 다르다고 보고한 바 있고, 백미와 현미, 발아현미 사이의 항산화 활성에 차이를 보여 도정율이 낮을수록 활성이 증가함을 보였다. 또한 Kong 등의 연구(19)에서도 백미에 비해 현미의 총 항산화력이 높은 것으로 나타났다. 백미와 현미(10), 현미와 발아현미(26)의 ABTS 소거능을 분석한 결과, 모든 품종에서 백미에 비해 발아현미의 활성이 높은 것으로 나타났으며, 현미의 발아 유무에 따라서는 차이가 없는 것으로 나타났다. 또한 Sohn 등(1)에 의한 연구에서도 현미와 백미 사이의 활성 차이가 품종에 따라 다르게 나타나 모든 연구결과들이 일치하지는 않는 것으로 나타났다. 이처럼 선행된 연구들은 같은 품종 내의 도정 정도 또는 발아 유무에 따른 분석이 대부분으로 다른 품종 간의 활성 편

차가 큰 것을 감안하면 본 연구결과와 비교하기에는 다소 무리가 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 호화 후의 현미와 발아현미의 총 폴리페놀 함량이 낮음에도 불구하고 항산화 활성이 조리 전과 비슷하거나 향상되는 것은 백미, 현미, 발아현미의 항산화능이 단순히 페놀류 화합물에 의한 것이라기보다는 복합적인 물질들의 상호작용에 의한 결과일 것으로 판단된다. Lee 등(29)은 마늘을 증자처리 할 경우 polyphenol compound는 감소하나 항산화 활성은 증가하는 것으로 보고한 바 있으며 이는 본 연구의 결과와 일치한다. TP외에 쌀에 함유되어 있는 대표적인 항산화 물질로써 γ -oryzanol이 있으며, 피부의 항노화 효과가 있는 것으로 밝혀진 바 있을 뿐만 아니라 그 활성이 고온에서 유지되는 것으로 나타났다(30). 따라서 본 연구의 결과에서도 호화 전후 항산화 활성이 증가하거나 유지되는 것은 이러한 γ -oryzanol의 활성화에 의한 것으로 예측된다. 따라서 조리과정에 의한 활성변화와 이것이 항산화 활성화에 어떠한 영향을 미치는 지는 차후 시행될 필요가 있을 것으로 사료된다.

호화가 백미, 현미, 발아현미의 항유전 독성에 미치는 영향

200 μ M H₂O₂로 유도된 백혈구 DNA 손상에 대한 백미, 현미, 발아현미의 억제 효과는 Fig. 3에 제시하였다. 호화 전의 백미, 현미, 발아현미 에탄올 추출물을 인체 백혈구에 100 μ g/mL 농도로 처리한 결과 양성대조구에 비해 모든 시료에서 유의적으로 DNA 손상을 억제한 것으로 나타났다. 호화 후에는 백미를 제외한 현미, 발아현미 추출물이 양성대조구에 비해 유의적으로 감소하였다. 각 시료에서 호화 전후에 따른 DNA 손상 억제는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. Chun 등(31)에 의한 연구에 따르면, 현미와 백미의 메탄올 추출물이 강한 돌연변이 억제활성을 가지는 것으로 나타났으며 유방암 세포를 이용하여 현미와 발아현미의 암

세포 성장 억제 효과를 분석 결과 32~52%의 억제력이 나타났으며 현미가 발아현미보다 높은 활성을 보이는 것으로 나타났다. 친화성 발암인자에 의해 생체 내에서 대사적으로 활성화되어 유전자의 핵산에 비가역적으로 결합함으로써 정상세포의 DNA를 손상시켜 신생물 전구세포를 형성하는 돌연변이를 유발한다(32,33). 따라서 본 연구에서 현미와 발아현미의 DNA 손상 억제 효과는 돌연변이 억제활성 및 항암활성과 일맥상통한다고 판단된다. 뿐만 아니라 Jeon 등에 의해 선행된 연구결과(34)에 따르면 왕겨 추출물은 H₂O₂로 산화적 스트레스를 유발한 백혈구의 손상 억제에 탁월한 효과를 보임으로써 현미가 보유한 미강부분의 항산화물질들이 DNA 손상 억제에 더 큰 역할을 하여 본 연구결과와 같이 백미에 비해 현미 및 발아현미의 DNA 손상 억제 효과가 큰 것에 영향을 준 것으로 판단된다. 이러한 효과는 앞서 분석한 호화 전후의 백미, 현미, 발아현미의 총 폴리페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능, 총항산화능(TRAP)과 peroxy radical 소거능에 영향을 준 항산화물질에 의한 복합적인 효과라고 판단된다.

본 연구는 쌀, 현미 그리고 발아현미의 항산화 활성뿐만 아니라 호화과정에 의한 항산화 활성의 변화를 분석하였다. 이를 통해 호화 과정을 거친 후에도 어느 정도의 항산화 활성이 유지되는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 일반적으로 쌀 섭취 시 호화과정을 거쳐 밥의 형태로 먹는 우리의 식문화를 생각할 때 매우 의미 있는 연구라 생각된다. 본 연구에서는 시료의 품종을 통일시키지 못했다는 제한점이 있으므로 차후 연구에서는 같은 원산지의 쌀을 이용하여 도정 및 발아 유무에 의한 여러 가지 호화 과정 전후의 생리활성 변화에 대한 연구 및 항산화성분이 변화에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서는 *in vitro*에서 호화 전후 쌀의 항산화 및 항유전 독성을 확인한 것이므로 생체 내 활성화에 대한 호화 전후 쌀의 효과를 예측하기 어렵다. 따라서 본 연구 결과를 바탕으로 향후 소화 및 흡수과정을 거친 환경에서 호화 후 쌀의 항산화 활성 및 항유전 독성을 조사하는 연구가 부가적으로 시행되어야 할 것이라 사료된다.

요 약

쌀은 우리의 중요한 주식으로 대부분 취반과정을 통하여 호화시킨 형태로 섭취하는 것이 일반적이다. 따라서 본 연구에서는 백미, 현미, 발아현미 세 종류 쌀을 이용하여 총 폴리페놀 함량(TPC)과 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거능, TRAP, ORAC assay) 및 항유전 독성을 분석하고 호화과정에 따른 생리활성의 변화를 살펴보고자 하였다. 총 페놀함량에서 현미와 발아현미는 호화 후 함량이 유의적으로 감소하였으나 백미는 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능의 IC₅₀값을 비교한 결과, 백미는 호화과정을 거친 후에는 최고 농도를 제외한 농도에서 활성이 나타나지

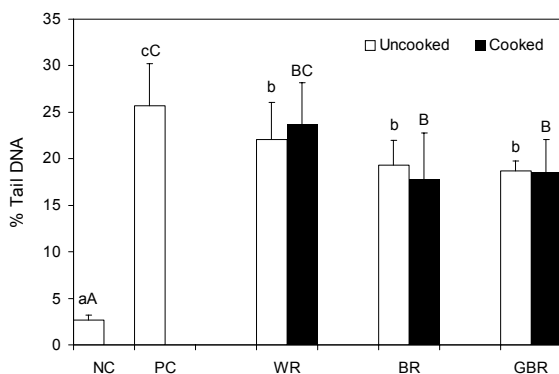


Fig. 3. Effect of cooking on inhibition of human leukocytic DNA damage of various rices. Values are mean±SD. NC, 1% DMSO (without oxidative stimulus) treated negative control; PC, 200 μ M H₂O₂ treated positive control; WR, white rice; BR, brown rice; GBR, germinated brown rice. The different small letters (a-c) and the different capital letters (A-C) mean significantly difference among the uncooked rices and cooked rices respectively by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

않아 IC₅₀값을 산출할 수 없었으며 발아현미의 경우 호화 전 3.3 mg/mL에서 호화 후 4.2 mg/mL로 증가한 반면, 현미는 호화 전 3.5 mg/mL에서 호화 후 3.1 mg/mL로 증가하였다. 총 항산화능을 측정된 TRAP 분석에서는 호화 전 백미와 발아현미의 경우 16.7 µg/mL에서부터 농도 의존적으로 수치가 증가하였으나, 현미의 경우 백미와 발아현미에 비해 낮은 TRAP 수치를 나타내었다. 호화 후 백미는 TRAP 수준이 낮아진 반면 현미와 발아현미의 TRAP 수준은 높아지는 것을 확인할 수 있었다. ORAC assay 결과 또한 세 가지 종류의 쌀을 비교하였을 때, 호화 전의 경우 백미가 5.1±0.2 µM TE로 가장 높았으나 호화 후 백미의 활성은 감소한 반면 현미와 발아현미는 증가하여 TRAP과 유사한 경향을 나타내었다. 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상 억제 효과는 백미의 경우 호화 전과 후 모두 양성대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 반면 현미와 발아현미의 경우 호화 전후에 상관없이 양성대조군에 비해 DNA 손상을 보호하는 효과를 나타내었으며 각 시료의 농도 간 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해보면, 호화과정을 거친 후 쌀을 섭취 시 백미보다 현미 또는 발아현미를 섭취하는 것이 건강에 더 유익할 것이라고 판단된다.

REFERENCES

1. Sohn HY, Kwon CS, Son KH, Kwon GS, Kwon YS, Ryu HY, Kum EJ. 2005. Antithrombosis and antioxidant activity of methanol extract from different brands of rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 593-598.
2. Choi YH, Kim SL, Jeong EG, Song J, Kim JT, Kim JH, Lee CG. 2008. Effects of low-temperature storage of brown rice on rice and cooked rice quality. *Korean J Crop Sci* 53: 179-186.
3. Jang SS. 1998. Method of germinating with brown rice. *Korean Patent* 1998-0247686.
4. Kim SK, Cheigh HS. 1979. Radial distribution of calcium, phosphorus, iron, thiamine, and riboflavin in the degermed brown rice kernel. *Korean J Food Sci Technol* 11: 122-125.
5. Oh SH. 2007. Effects and applications of germinated brown rice with enhanced levels of GABA. *Food Science and Industry* 40(3): 41-46.
6. Lee JY, Lee WJ. 2011. Quality characteristics of germinated brown rice flour added noodles. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 981-985.
7. Oh SS. 2002. Study on nutritional properties of sprouting brown rice. *MS Thesis*. Kongju National University, Gongju, Korea.
8. Cho D, Chung HJ, Cho HY, Lim ST. 2011. Health functions and utilization products of germinated brown rice. *Food Science and Industry* 44(1): 76-86.
9. Butsat S, Siriamornpun S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran, and endosperm of Thai rice. *Food Chem* 119: 606-613.
10. 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.
11. Kang BR, Park M, Lee HS. 2006. Germination dependency of antioxidative activities in brown rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 389-394.
12. Kim NH, Lee MG, Lee SR. 1996. Elimination of phenthoate residues in the washing and cooking of polished rice. *Korean J Food Sci Technol* 28: 490-496.
13. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
14. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, dos Santos TC, Coube CS, Leitão SG. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res* 15: 127-130.
15. Rice-Evans C, Miller NJ. 1994. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol* 234: 279-293.
16. Kurihara H, Fukami H, Asami S, Toyoda Y, Nakai M, Shibata H, Yao XS. 2004. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Biol Pharm Bull* 27: 1093-1098.
17. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49: 4619-4626.
18. Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191.
19. Kong S, Choi Y, Kim Y, Kim DJ, Lee J. 2009. Antioxidant activity and antioxidant components in methanolic extract from Geumjong rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 807-811.
20. Kim MH, Tungjaroenchai W, Ryu GH. 2007. Effect of germination time and extrusion temperature on properties of germinated brown rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 636-642.
21. Kim H, Park CK, Jeong JH, Jeong HS, Lee HY, Yu KW. 2009. Immune stimulation and anti-metastasis of crude polysaccharide from submerged culture of *Hericium erinaceum* in the medium supplemented with Korean ginseng extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1535-1542.
22. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81: 215S-217S.
23. Tian S, Nakamura K, Cui T, Kayahara H. 2005. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. *J Chromatogr A* 1063: 121-128.
24. Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeong JM. 2006. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 328-333.
25. Woo KS, Jeong EG, Suh SJ, Yang CI, Jeong HS, Kim KJ. 2008. Antioxidant components and antioxidant activities of 70% ethanol extracts on *Suweon-511* and *Ilpum* rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1223-1230.
26. 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.
27. Ronald LP, Xianli W, Karen S. 2005. Standardized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 53: 4290-4302.
28. Chun HS, Yoo JE, Kim IH, Cho JS. 1999. Comparative antimutagenic and antioxidative activities of rice with different milling fractions. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1371-1377.
29. Lee YR, Woo KS, Hwang IG, Kim HY, Lee SH, Lee J,

- Jeong HS. 2012. Physicochemical properties and antioxidant activities of garlic (*Allium sativum* L.) with different heat and pressure treatments. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 278-282.
30. Yuji Y, Keitaro S, Hiroshi O, Tomoya O, Katsuhiko H, Kenichi O. 2004. Preparation of co-extruded flours using germinated brown rice and barley and its antihypertensive effect. *Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi* 51: 592-603.
31. Chun HS, Kim IH, Kim YJ, Kim KH. 1994. inhibitory effect of rice extract on the chemically induced mutagenesis. *Korean J Food Sci Technol* 26: 188-194.
32. Surh Y. 1999. Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutat Res* 428: 305-327.
33. Johnson IT, Williamson G, Musk SR. 1994. Anticarcinogenic factors in plant foods: a new class of nutrients? *Nutr Res Rev* 7: 175-204.
34. Jeon KI, Park E, Park HR, Jeon YJ, Cha SH, Lee SC. 2006. Antioxidant activity of far-infrared radiated rice hull extracts on reactive oxygen species scavenging and oxidative DNA damage in human lymphocytes. *J Med Food* 9: 42-48.