

## Bioactive Materials and Antioxidant Properties of Fermented Rice-bran Extract

Hee-Young Ahn<sup>1,2</sup>, Da-Jeong Choe<sup>2</sup>, Bo-Kyung Kim<sup>1</sup>, Jae-Hong Lee<sup>1</sup> and Young-Su Cho<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Korea Bio Solutions Co., Ltd. Heaundae-gu, Busan 48060, Korea

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 49315, Korea

Received July 9, 2015 / Revised September 30, 2015 / Accepted September 30, 2015

This study suggests that fermented rice bran extract contains natural antioxidants. The contents of bioactive materials (e.g., polyphenolic compounds and flavonoids), antioxidative properties (DPPH ( $\alpha,\alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl) free radical scavenging activity, Fe reducing, Cu reducing power, peroxidation of linoleic acid and rat hepatocyte microsome) were tested by *in vitro* experimental models using fermented rice bran (FRB) extract. The concentrations of phenolic compound and flavonoid were 19.92 mg/g and 11.56 mg/g, respectively. In oxidation in vitro models using DPPH free radical scavenging activity, (free radical scavenging activity 69.8%) Fe reducing power and Cu reducing power (effect of dose-dependent manner),  $Fe^{2+}$ /ascorbate induced linolenic acid peroxidation by ferric thiocyanate and thiobarbituric acid (TBA) methods (inhibition activity 81%), and autoxidation of rat hepatic microsomes membrane (lipid peroxidation inhibition activity 38%), antioxidative activities were stronger in FRB extract than FRS (Fermented Rice and Soybean, positive control) extract and, these effects were dose-dependent manner. From these results, FRB extract was shown to have the most potent antioxidative properties and contain the highest amounts of antioxidative compounds such as phenolic compounds and flavonoids. Overall, these results may provide the basic data to understand the antioxidative properties of fermented rice bran for development of functional foods.

**Key words :** Antioxidation, biological activities, fermentation, rice-bran, soybean

### 서 론

경제 성장과 더불어 환경오염 및 운동부족, 스트레스, 식생 활문화의 양적, 질적 변화를 기초로 한 에너지의 과잉 섭취와 알코올의 다량 섭취로 인하여 비만, 고지혈증, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 등의 만성퇴행성질환(생활습관병)과 암으로 인한 사망률이 많이 발생함으로써 사회적 문제로 관심이 높아지고 있다[12]. 이는 체내에 유입된 이질성 물질(Xenobiotics)로 인한 세포 내 유리기(Free radical) 생성이나 산화 스트레스에 의한 생체막 과산화지질의 증가로 인해 조직 세포에 산화적 손상을 주어 조직의 정상적인 생리적 기능이 저하되어 다양한 질환의 원인이 된 것으로 알려져 있다[17]. 이들 질환에 효과가 우수한 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있으며, 현대인들은 화학적 처리나 인공적 가공을 최소화 하여 사람들에게 보다 안전한 기술이 적용된 제품을 선호함에 따라, 식품과 바이오산업은 인간의 건강을 근본적으로 친환경, 그린기술, 유기농 등 자연친화를 추구하는 추세로, 천연물에서부터 생리활성

을 가지는 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다[9, 14].

미곡을 주식으로 하는 우리나라의 미곡종합처리장에서 지속적으로 생성되는 저가의 미곡 부산물은 극히 일부가 식용유의 원료 및 사료(비료)로 이용되고 있을 뿐 대부분이 적절히 회수되지 않고 농업폐기물로 처리되고 있으며, 산업적으로 활용되는 경우는 미강유, 오리자놀 생산 정도이다. 쌀겨에는 단백질이 12%~16%, 식이섬유가 20~25%이며 지방이 16~22% 함유되어 있고 구성 지방산의 70% 이상이 올레인산, 리놀렌산, 리놀렌산의 불포화 지방산으로 이루어져 있을 뿐만 아니라, 비타민E, 식이섬유 등 다양한 유효성분들이 함유되어 있어 항산화, 항암, 고지혈증 개선, 혈당 저하, 동맥경화 완화 등 여러 가지 생리기능적 효과를 가지는 것으로 알려져 있다[16].

쌀겨를 활용한 제품들 중에서 최근 관심을 받고 있는 분야는 숙취해소, 혈중 콜레스테롤 감소, 간기능 개선, 영양보충용 보조식품 등이 있다[1, 7]. 이미 일본, 미국 등의 나라에서는 영양보충용 식품, 제과제빵용 소재 등으로 개발해 왔으며, 국내에서도 미곡종합처리장의 급속한 모습으로 부산물의 회수가 용이해져 적절한 이용기술개발이 필요한 실정이다[1, 7].

본 연구는 여러가지 유효성분들을 함유하고 있는 쌀겨와 이를 이용하여 생명공학적 기술을 연관시킨 쌀겨발효산물의 이화학적 특성 및 생리활성작용을 검토하였다.

\*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용된 실험재료는 (주)한국바이오솔루션(부산, 한국)에서 제공받은 쌀겨 및 기타 조성물 이용하여 바실러스 균주로 액체 배양한 쌀겨발효추출물(Fermented Rice-Bran, FRB)과 현재, 시판중인 제품의 재료로 사용되고 있는 미배아 및 대두를 사용하여 액체 배양한 미배아대두발효추출물(Fermented Rice- Soybean, FRS) [13]을 대조군으로 사용 하여 비교 분석 하였다.

### 페놀성 화합물 함량 측정

페놀성 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 법[23]으로 측정하였다. 즉, 0.1%(w/v) 시료 용액에 Folin-cioalteau's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합하고 실온에서 반응시킨 후 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 가하여 혼합하고 50°C에서 발색시킨 후 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo, Japan)의 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 페놀성 화합물의 함량은 tannic acid를 0-500 μg/ml 농도로 하여 시료와 동일한 방법으로 측정한 표준곡선으로부터 계산하였다.

### Flavonoid 함량 측정

Flavonoid 함량은 Jia 등의 방법[11]에 따라 측정하였다. 0.1% (w/v) 시료 용액에 5% NaNO<sub>2</sub> 용액을 가하고, 10% AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O를 잘 혼합하고, 이 혼합 용액으로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 플라보노이드 함량은 표준물질로서 (+)-catechin hydrate을 20-200 μg/ml 농도로 시료와 동일한 방법으로 측정하여 작성한 표준곡선으로부터 계산하였다.

### DPPH에 의한 항산화 활성 측정

항산화 활성 측정은 Blois 방법[3]에 따라 측정하였다. 시료에 DPPH 반응 용액을 넣어 잘 혼합한 후 실온에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다. 이때 활성 대조를 위하여 기존에 항산화제로 많이 사용되고 있는 합성 항산화제 BHT (butylated hydroxytoluene)를 0.05% 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. DPPH를 이용한 항산화 활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

#### DPPH radical scavenging activity (%)

$$= [1 - (\text{sample absorbance } 528 \text{ nm}) / \text{control absorbance } 528 \text{ nm}] \times 100$$

### Fe/Cu 환원력 측정

Fe 환원력 측정은 Zhu 등의 방법[25]에 따라 측정하였다. 시료 용액 0.75 ml을 취하고, 0.2 M sodium phosphate buffer

(pH 6.6) 및 1% (w/v) potassium ferricyanide [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>]을 혼합하여 50°C에서 진탕반응 시켰다. 이 반응액에 10% trichloroacetic acid (w/v)를 가하여, 상층액을 취하고 중류수 및 0.5% ferric chloride (FeCl<sub>3</sub>)를 혼합한 후 실온에서 반응시켜 spectrophotometer (Hitachi U-2900)의 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편, Cu-환원력 측정은 시료 용액에 0.01 M CuCl<sub>2</sub>, 7.5 mM ethnolic neocuprorine solution, 1 M NH<sub>4</sub>OAc buffer를 혼합하고 중류수 넣은 후 상온에서 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 환원력 비교를 위하여 기존에 항산화제로 많이 사용되고 있는 천연 항산화제 ascorbic acid와 합성 항산화제 BHT를 각각 시료와 동일 농도로 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다. 환원력은 시료 반응액에서 흡광도가 증가된 만큼 강한 환원력을 나타내어 준다.

### 간 microsome의 지질 과산화 억제 활성 측정

간 microsome 분획을 이용한 지질 과산화 억제 활성은 Wong 등의 방법[24]에 따라 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 간 microsome 분획(1 ml 중 1 mg의 단백질 함유), 0.1 mM ascorbate와 5 mM FeSO<sub>4</sub> 반응액을 잘 혼합한 후 37°C에서 반응시켜 과산화를 유도시켰다. 대조구는 시료를 첨가하지 않고 위와 동일한 방법으로 실시하였다. 반응액에 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액을 가하고 원심분리 후 상등액에 0.67% TBA를 넣고 가열하여 발색시켰다. 반응액은 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 지질과산화의 억제율을 대조구 흡광도에 대한 저해율(%)로 나타내었다.

### TBA(2-thiobarbituric acid)에 의한 항산화 활성 측정

Ohkawa의 방법[18]에 따라 linoleic acid (25 mg/ml in EtOH) 1.0 ml과 시료용액 1.0 ml을 시험관에 넣고 혼합한 후 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 2 ml와 중류수 1.0 ml를 가하여 stock을 제조하고, 40°C에서 incubation 하면서 반응 1일, 3일, 4일, 6일, 7일째 일정한 시간에 측정하였다. 측정 방법[4]은 시료액 0.5 ml를 tube에 넣고 35% trichloroacetic acid 0.25 ml와 0.75% aqueous TBA 0.5 ml를 가하여 혼합한 후 boiling water bath에서 5분마다 shacking 하면서 15분간 처리하여 흐르는 물에 냉각시키고, 70% trichloroacetic acid 0.5 ml를 가한 다음 20분 반응하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 그 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Thiocyanate에 의한 항산화 활성 측정

Linoleic acid (25 mg/ml in EtOH) 1.0 ml과 시료용액 1.0 ml을 시험관에 넣고 혼합한 후 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 2 ml와 중류수 1.0 ml를 가하여 stock을 제조하고, 40°C에서 incubation 하면서 반응 1일, 3일, 4일, 6일, 7일째 일정한 시간에 측정하였다. 측정 방법[4, 18]은 stock 용액에서 0.1 ml을 취하여 시험관에 넣고 70% ethanol 3 ml과 ammonium

thiocyanate (0.3 g/ml in water) 용액 0.1 ml, ferrous chloride (2.45 mg/ml in 3.5% hydrochloric acid) 용액 0.1 ml을 혼합한 후 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계 처리

실험으로부터 얻어진 결과는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean  $\pm$  SE)로 표시하였고, 각 실험군 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 나타내었다[8].

### 결과 및 고찰

#### 총 폐놀성 화합물 함량 및 flavonoid 함량

폐놀성 화합물은 flavonoid, catechin, tannin 류로 크게 구분되는 2차 대사산물로, 이들 물질들은 항산화 작용, 간기능 보호작용, 혈중 지질 저하 작용 등이 알려져 있다[4]. 본 연구에서 사용한 FRB와 FRS의 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. FRB의 총 폴리페놀 화합물은 19.92 mg/g으로 FRS의 8.57 mg/g에 비해 약 2.32배 높은 함량을 나타내었다. 한편, 이 등[15]의 실험에서 일반 탈지대두 grits의 폴리페놀 함량이 고초균에 의해 발효됨으로써 약 5.62배 증가하였으며, 백 등[2]의 연구에서도 원료 콩의 폴리페놀 함량이 청국장으로 발효됨으로써 약 1.4배 증가하였다.

식물체에 함유되어 있는 flavonoid는 항균 활성, 항산화 효과, 항염증 작용, 콜레스테롤 저하작용, 지방간 억제 작용 등이 보고되어 있으며, 여러 종양 세포의 성장 및 분화를 저해시키는 효과도 다수 보고되어 있다[6]. Flavonoid의 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같으며, FRB의 flavonoid 함량은 11.56 mg/g으로 FRS의 4.30 mg/g에 비해 약 2.68배 높은 수치를 나타내었다(Table 1). 총 폴리페놀 화합물과 flavonoid 함량에서 FRB는 FRS보다 높은 함량을 보여, 높은 항산화 활성을 나타낼 것으로 사료된다.

#### DPPH free radical에 의한 전자공여 활성

DPPH는 비교적 안정한 free radical로써 폴리페놀 및 플라보노이드와 같은 생리활성 성분들의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있다[3]. DPPH free radical scav-

Table 1. Concentrations of phenolic compounds and flavonoids in the fermented rice-bran (FRB) and fermented rice-soybean (FRS)

	Total phenolic compounds concentrations (mg/g)	Flavonoids concentrations (mg/g)
FRB	19.92 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	11.56 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>
FRS	8.57 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	4.30 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>

Values are mean  $\pm$  SD, n=3.

enging 활성에서 FRB와 FRS는 모든 농도에서 양성대조군으로 시판되고 있는 합성항산화제인 BHT보다 낮은 수치를 보였으나 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 특히, FRB은 1% 농도에서 FRS보다 약 1.3배 높은 활성을 나타내었다. 최 등[5]의 연구에 의하면 대두에서 메주를 거쳐 된장으로 발효 되는 동안, radical 소거효과가 점차 증가하는 것으로 나타나 발효에 의한 항산화 효과의 증가가 본 연구의 결과를 뒷받침 할 수 있는 하나의 근거로 사료된다. 또한, 송 등[22]의 실험에서 유산균발효대두의 DPPH radical 소거능이 5% 농도에서 약 60%인 것에 반해, 본 실험결과 FRS 1.0% 농도에서 약 54%의 라디칼 소거율을 보였다.

앞선 총 폴리페놀과 flavonoid 함량 결과와 마찬가지로, FRB는 기존에 시판되고 있는 제품의 원료인 FRS보다 높은 라디칼 소거능을 보여 향후 천연 항산화제 소재로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### Fe/Cu 환원력 측정

Fe<sup>2+</sup>와 Cu<sup>2+</sup>는 hydroxyl radical (-OH)과 superoxide radical (O<sup>2-</sup>) 등의 생성을 촉진하며, 이러한 금속이온인자에 대한 chelating 활성이 높을수록 산화반응에 촉매작용을 감소시킬 수 있는 능력을 측정하는 지표로 이용되고, 환원력 효과는 반응 물질의 흡광도 수치가 높을수록 환원력의 세기가 높다는 것을 나타낸다[10].

본 연구결과에서 FRB와 FRS의 Fe 환원력은 모든 농도에서 양성대조군인 BHT와 A.A. (ascorbic acid)보다 낮은 수치를 나타냈으나, 농도의존적으로는 환원력이 증가하는 경향을 보였다. 하지만 FRB와 FRS 사이의 결과는 각각 1.69와 1.62로, 유의적으로 차이가 없이 비슷한 경향을 나타내었다.

Cu 환원력의 경우, Fe 환원력과 마찬가지로 FRB과 FRS의 모든 농도에서 양성대조군인 BHT와 A.A.보다 낮은 수치를

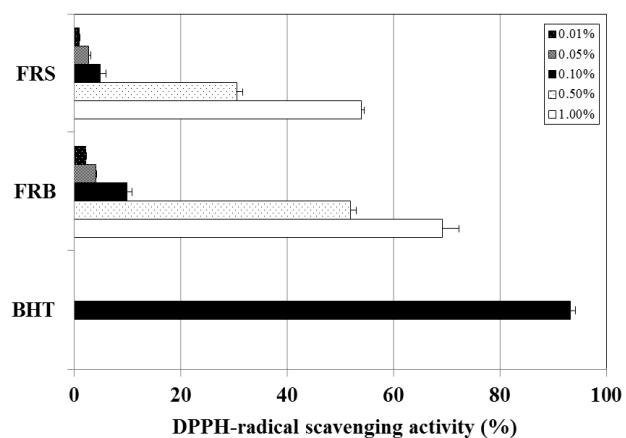


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of the fermented rice-bran (FRB) and fermented rice-soybean (FRS). BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%), Values are mean  $\pm$  SD, n=3.

Table 2. Reducing power of the fermented rice-bran (FRB) and fermented rice-soybean (FRS)

Composition	Conc. (%)	Fe-Reducing power	Cu-Reducing power
BHT	1.00	3.06±0.02	3.80±0.02
	0.50	3.03±0.05	2.61±0.04
	0.10	2.87±0.06	2.59±0.02
	0.05	2.19±0.02	2.23±0.01
	0.01	0.58±0.04	1.06±0.00
A.A.	1.00	3.21±0.04	3.84±0.05
	0.50	3.18±0.05	2.79±0.03
	0.10	2.90±0.03	2.11±0.01
	0.05	2.61±0.02	1.05±0.01
	0.01	1.44±0.03	0.65±0.04
FRB	1.00	1.69±0.03	1.19±0.02
	0.50	0.88±0.02	0.71±0.03
	0.10	0.23±0.01	0.58±0.04
	0.05	0.11±0.02	0.10±0.03
	0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
FRS	1.00	1.62±0.03	0.75±0.03
	0.50	0.87±0.02	0.47±0.03
	0.10	0.18±0.02	0.15±0.04
	0.05	0.08±0.01	0.08±0.01
	0.01	0.02±0.01	0.02±0.01

BHT : butylated hydroxytoluene, A.A. : ascorbic acid.

Values are mean± SD, n=3.

나타냈으며 농도의존적으로 높아졌다. 하지만 Fe 환원력과는 달리, FRB에서 1.19로 FRS의 0.75보다 약 1.6배 높은 환원력을 나타내었다.

#### 간장 microsome을 이용한 지질 과산화 억제활성

지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화학물이나 약물 또는 당뇨병 등 생체 이상에 의해 간세포에 중대한 손상을 입히는 것으로 알려져 있다[19]. 이러한 기전은 조직 내 세포의 산화적 스트레스 증가 또는 항산화적 방어력의 감소로 인해 일어나게 되며, 생체 내에서 퇴행성 과정을 거쳐 질환을 유발하거나 노화를 촉진시키는 원인으로 알려져 있어[20], 생체 내에서 지질 과산화물의 제어는 매우 중요하다. 동물 체내에서 생체막 지질의 과산화물 생성 정도를 나타내는 TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) 함량은 각 조직 세포의 microsome에  $\text{Fe}^{++}$ /ascorbate을 첨가하여 비효소적 방법으로 지질의 과산화를 유도한 후[24] 지질 과산화 억제능(%)으로 나타낸 결과, FRB와 FRS 모두 농도의존적으로 높은 지질 과산화 억제능을 보였다(Fig. 2). 특히 FRB는 0.05% 이하의 낮은 농도에서는 FRS와 유의적인 차이 없이 유사한 억제능을 보였으나, 1% 농도에서 FRS보다 높은 지질 과산화 억제능을 나타내었다. 또한, 합성항산화제인 BHT와 비슷한 수준의 지질 과산화 억제율을 보여 지질 대사에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

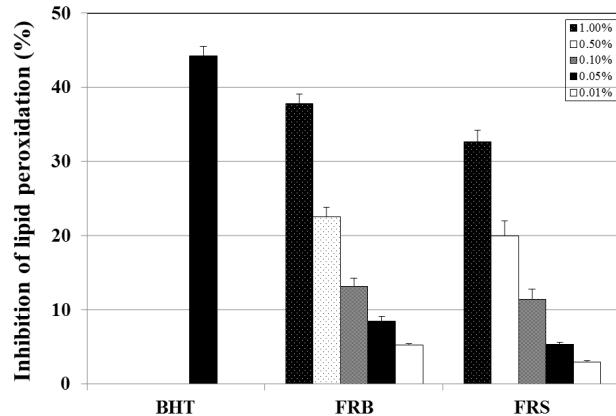


Fig. 2. Antioxidant activities of the fermented rice-bran (FRB) and fermented rice-soybean (FRS) on lipid peroxidation using rat liver homogenates as measured by TBARS method. BHT : butylated hydroxytoluene (0.05%), Values are mean ± SD, n=3.

다.

#### Linoleic acid 산화 실험계를 이용한 항산화 활성

자연계에 존재하는 지방산은 이중결합이 2개 이상이면 non-conjugate 형태로 존재하나 지방산이 산화되면 conjugate 이중결합 형태가 증가한다. 따라서 공액형의 지방산 함량을 측정하면 산폐의 정도를 측정할 수 있다.

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 TBA 방법으로 FRB과 FRS의 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Linoleic acid의 본격적인 산폐는 반응 3일차부터 볼 수 있는데 FRB과 FRS의 1.0% 및 0.5% 농도에서 양성대조구인 BHT와 상응하는 높은 억제율을 보였다. 특히, FRS의 1.0% 및 0.5%에서 7일차부터 BHT와 달리 산폐가 진행되어 억제율이 낮아지는 것에 반해, FRB의 1.0% 및 0.5%에서는 여전히 BHT와 유사한 억제율을 나타내었다.

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 법으로 항산화 활성을 측정한 결과 TBA 방법으로 측정한 결과와 비슷한 경향을 나타내었다(Fig. 4). 하지만 FRB의 1.0% 및 0.5% 처리농도에서는 BHT와 비슷한 억제율을 보인데 반해, FRS는 동일한 처리농도에서 BHT 이하의 억제율을 보였다.

반응 7일째에 대조구에 대한 상대 활성으로 나타낸 결과는 Fig. 5에 나타내었다. TBA법을 이용한 과산화지질 억제율은 FRB와 FRS 모두 양성대조구인 BHT에 상응하는 수치를 나타내었으며, 특히 FRB는 BHT와 유의적인 차이가 보이지 않았다. Thiocyanate 법을 이용한 과산화지질 억제율은 FRB와 FRS 모두 높은 과산화지질 억제율을 보였으며, 특히 FRB는 양성대조구인 BHT와 유의적인 차이는 없었지만 더 높은 억제율을 나타내었다. 한편, 발효된 대두, 미강, 홍삼을 각각의 비율에 따라 혼합하여 linoleic acid 자동산화 반응을 이용한 thiocyanate법으로 항산화 활성을 측정한 결과, 1% 농도에서

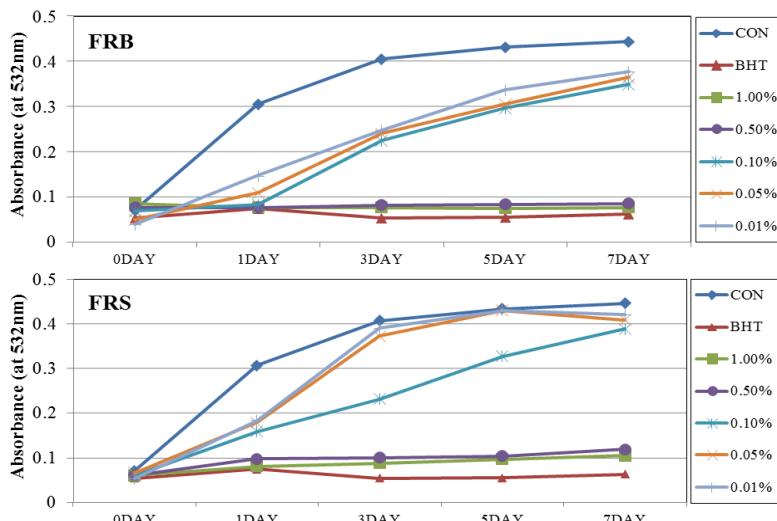


Fig. 3. Antioxidant activities of the fermented rice-bran (FRB) and rice-soybean (FRS) on linoleic acid oxidation as measured by TBA method. CON : control, BHT : butylated hydroxytoluene (0.05%), Values are mean $\pm$  SD, n=3.

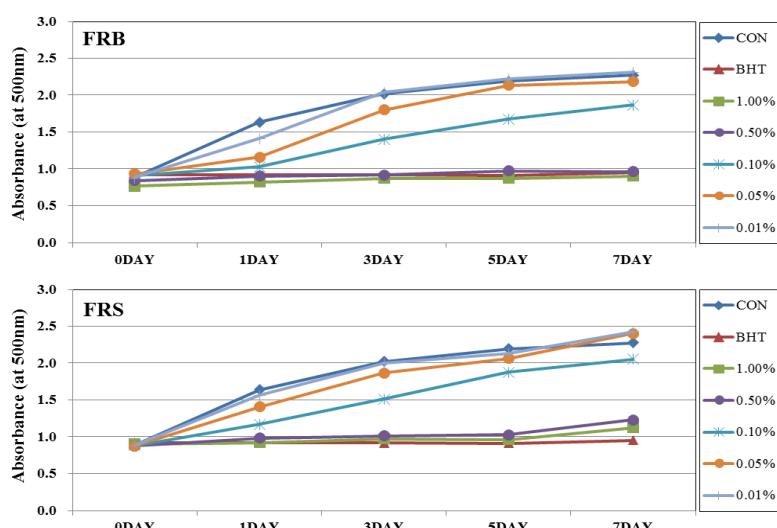


Fig. 4. Antioxidant activities of the fermented rice-bran (FRB) and rice-soybean (FRS) on linoleic acid oxidation as measured by the ferric thiocyanate method. CON : control, BHT : butylated hydroxytoluene (0.05%), Values are mean $\pm$  SD, n=3.

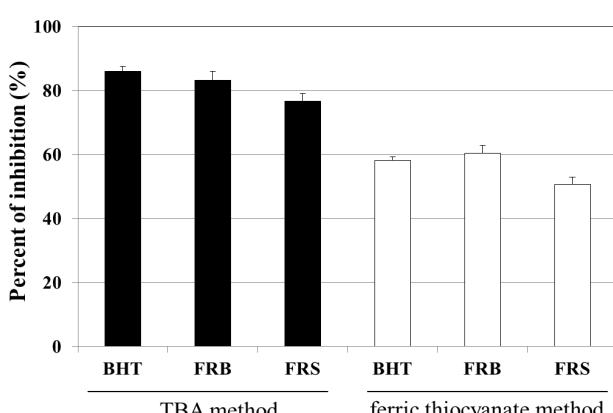


Fig. 5. Antioxidant activities of the fermented rice-bran (FRB) and fermented rice-soybean (FRS) on linoleic acid oxidation as measured by TBA and ferric thiocyanate methods on the final day of reaction. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%). Values are mean  $\pm$  SD, n=3.

2:6:2 비율 혼합시 42.83%, 6:2:2 비율 혼합시 43.30%, 4:4:2 비율 혼합시 56.57%의 자동산화 저해 활성을 보였으며 농도 의존적으로 억제 효과가 나타났다고 보고하였다[6].

이상의 연구에서 쌀겨발효 추출물은 항산화 활성과 밀접한 관련성을 가지고 있는 총 폴리페놀 화합물 및 플라보노이드 함량이 시판중인 미배아대두발효 추출물에 비해 각각 약 2.3 배 및 2.6배의 높은 함량을 확인하였고, DPPH free radical 소거 활성능에서도 69.8%로 상당히 높은 소거율을 나타내었다. 환원력에서도 처리농도 증가와 함께 높아지는 경향을 보였으며, 지질과산화 억제활성 또한 쌀겨발효 추출물이 우수함을 확인하였다. 앞으로 쌀겨발효 추출물에서의 주요한 유효성분을 분리, 정제하여 항산화 검증과 항노화 검증의 필요성이 있다고 생각되며, 이상의 실험결과를 바탕으로 향후 천연 항산화제의 소재로서 건강기능식품이나 화장품 소재 개발에 유용하게 사용될 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 중소기업청의 중소기업용복합기술개발사업의 일환으로 수행하였음[S2148298, GMT(glumate) 대체 숙취와 간기능 개선 신소재 개발].

## References

- Aggarwal, B., Sundaram, C., Prasad, S. and Kannappan, R. 2010. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem. Pharmacol.* **80**, 1613-1631.
- Baek, L. M. 2009. Effect of soybean germination on the quality characteristics of Cheongkookjang inoculated with *Bacillus licheniformis* B-59 isolated from rice straw. MS Thesis. Catholic University of Daegu, Korea.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
- Cha, J. Y., Kim, H. J., Chung, C. H. and Cho, Y. S. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
- Choe, G. S., Lim, S. Y. and Choi, J. S. 1998. Antioxidant and nitrite scavenging effect of soybean, meju and doenjang. *J. Life Sci.* **8**, 473-478.
- Choi, Y. M., Gu, J. B., Kim, M. H. and Lee, J. S. 2008. Antioxidant and antiproliferative activities of methanolic extracts from thirty Korean medicinal plants. *Food Sci. Biotechnol.* **17**, 1235-1239.
- Constantinou, C., Papas, A. and Constantinou, A. I. 2008. Vitamin E and cancer: An insight into the anticancer activities of vitamin E isomers and analogs. *Int. J. Cancer* **123**, 739-752.
- Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **13**, 11-42.
- Hong, M. W. 1972. Statistical studies on the formularies of oriental medicine(I) prescription frequency and their origin distribution of herb drugs. *Kor. J. Pharmaco.* **3**, 57-64.
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P. and Sakariah, K. K. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chem.* **73**, 285-290.
- Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **64**, 555-559.
- Johnson, J. E., Walford, R., Harma, D. and Miquel, J. 1986. In 'Free radicals, aging and degenerative disease', Alen R. Liss, N.Y.
- Kim, Y. C., Pack, S. H. and Lee, M. G. 1993. Effect of glutamate on the blood concentrations of ethanol in healthy adults. *Yakhak Hoeji* **37**, 549-553.
- Kim, E. Y., Baik, I. H., Kim, J. H., Kim, S. R. and Rhyu, M. R. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
- Lee, S. G., Kim, H. J., Lee, S. P. and Lee, I. S. 2009. Antioxidant and anticancer activities of defatted soybean grits fermented by *Bacillus subtilis* NUC1. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 657-662.
- Lee, Y. H. and Moon, T. W. 1994. Composition, water-holding capacity and effect on starch retrogradation of rice bran dietary fiber. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **26**, 288-294.
- Mushtakova, V. M., Fomina, V. A. and Rogovin, V. V. 2007. Effect of some xenobiotics on oxidative metabolism of human blood neutrophils. *Bull. Exp. Biol. Med.* **143**, 344-346.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
- Plaa, G. L. and Witschi, H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-131.
- Saito, M. 1988. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **41**, 343-349.
- Son, J. H. and Ha, B. J. 2013. Antioxidative and antiaging effects of fermented soybean, rice bran, and red ginseng by mixed ratios. *J. Fd. Hyg. Safety* **28**, 354-359.
- Song, H. N. and Jung, K. S. 2006. Quality characteristics and physiological activities of fermented soybean by Lactic acid bacteria. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**, 475-482.
- Swain, T., Hillis, W. E. and Ortega, M. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
- Wong, S. F., Holliwell, B., Richimond, R. and Skowroneck, W. R. 1981. The role of superoxide and hydroxylradical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic. Biochem.* **14**, 127-134.
- Zhu, Q. V., Hackman, R. M., Jodilensunsa, X. X., Holt, R. R. and Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of Oolong tea. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6229-6234.

## 초록 : 쌀겨발효추출물의 이화학적 특성 및 항산화 작용

안희영<sup>1,2</sup> · 최다정<sup>2</sup> · 김보경<sup>1</sup> · 이재홍<sup>1</sup> · 조영수<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>)한국바이오솔루션, <sup>2</sup>동아대학교 생명공학과)

(주)한국바이오솔루션에서 제공받은 쌀겨발효 추출물(Fermented Rice-Bran, FRB)과 현재 시판 중에 있는 제품의 주원료로 사용되고 있는 미배아대두발효 추출물(Fermented Rice-Soybean, FRS)을 대조군으로 *in vitro*상에서의 이화학적 특성과 생리활성 및 항산화작용에 대하여 검토하였다. 이화학적 특성으로 총 폴리페놀 화합물과 flavonoid 함량을 측정하였고, 생리활성 및 항산화작용은 DPPH 자유라디칼 소거활성, Fe/Cu 환원력, 간장 microsome을 이용한 지질 과산화 억제활성, linoleic acid 산화 실험계를 이용하여 측정하였다. 쌀겨발효 추출물의 총 폴리페놀과 flavonoids 함량은 각각 19.92 mg/g과 11.56 mg/g으로 미배아대두발효 추출물보다 높은 수치를 보였다. 쌀겨발효 추출물은 DPPH free radical 소거 활성능에서도 69.8%로 상당히 높은 소거율을 나타내었으며 환원력 또한, 처리농도 증가와 함께 높아지는 경향을 보였다. 간장 microsome을 이용한 지질 과산화 억제활성, linoleic acid 산화 실험계를 통한 지질과산화 억제활성을 확인한 결과, 쌀겨발효 추출물이 미배아대두발효 추출물보다 우수함을 확인하였다. 따라서, 본 연구는 건강식품소재 개발을 위해 쌀겨발효 추출물의 생리활성물질과 항산화 활성을 검토하는 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 사료된다.