

미생물 발효 쌀 배아의 품질특성 및 생리활성

†송 호 남 · 이 연 리*

세명대학교 한방바이오융합과학부 식품영양전공, *대전보건대학교 식품영양과

Biological Activities and Quality Characteristics of Rice Germ after Microbial Fermentation

†Hyo-Nam Song and Youn Ri Lee*

Dept. of Food and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Daejeon Health Institute of Technology, Daejeon 34504, Korea

Abstract

This study investigated the quality characteristics and biological activities of rice germ fermented by *Bacillus* spp. During the milling process, the contents of rice germ in the rice bran (Control) were adjusted to 30% (RG30) and 70% (RG70). The approximate composition, pH, total acidity, total soluble solid, total sugar, polyphenol and flavonoid contents were measured. DPPH radical scavenging activity, xanthine oxidase (XO) and angiotensin converting enzyme (ACE) activities were also determined. We observed that the moisture content decreased after fermentation, while the crude protein was significantly increased. Fermentation remarkably lowered the pH from 5.83~6.26 to 4.77~4.93, thereby elevating the total acidity. Fermentation also increased the total solid contents, from 0.40~0.87 °Bx to 1.63~2.20 °Bx. The total sugar decreased to 136.81~151.53 mg/mL from 377.56~450.64 mg/mL. Polyphenol contents were the highest in control (0.59 and 0.73 mg/mL before and after fermentation, respectively). Fermentation significantly affected the increase of the polyphenols in both rice germ 30% and 70% samples, from 0.26 and 0.28 mg GAE/g before fermentation, to 0.52 and 0.70 mg GAE/g after fermentation, respectively. There was a slight increase in the flavonoid contents after fermentation. The IC₅₀ value of the electron donating ability, as evaluated by the DPPH method, was the lowest in control (3.77 and 3.36 mg/mL before and after fermentation, respectively). Fermentation increased the XO inhibition activity up to 63.69% in control, 49.81% in rice germ 30%, and 59.32% in rice germ 70%. The ACE inhibition activities were also increased in the fermented control, rice germ 30% and 70%, to 40.51%, 22.69% and 33.91%, respectively.

Key words: rice germ, fermentation, DPPH, xanthine oxidase inhibition, ACE inhibition

서 론

쌀의 구조에서 부피로 보면 백미부분이 95% 이상이며, 쌀 배아는 겨우 1~2%를 차지하고 있으나, 양질의 단백질을 20.2% 함유하고 있고, 21.6% 이상의 지방, 전분 2.4%, 무기질 및 비타민 등이 함유된 영양원으로 그 기능성을 인정받고 있다(Ko 등 2003). 국내의 2015년 쌀 생산량은 432만 7천톤으로(통계청) 쌀의 도정시 발생하는 부산물인 왕겨는 약 21%, 쌀겨(미

강)은 약 8.5% 및 쌀 배아(쌀눈)는 약 3.6% 내외로 발생되는 것으로 추정된다(Song HN 2007). 그런데, 이와 같은 도정 부산물 중 쌀 배아가 함유된 쌀겨는 섬유질과 왕겨 등 이물질이 많고, 도정 후 산패가 급격히 일어나 유통기한이 짧기 때문에 일부가 미강유 생산에 이용될 뿐 대부분은 가축사료로 이용되거나 폐기되고 있다. 특히 쌀 배아는 쌀겨로부터 순수분리가 어려워 우수한 영양적 가치에도 불구하고, 식품으로써의 이용률이 매우 낮으며, 상당량이 미강에 혼입되어 상품가치가 적

† Corresponding author: Hyo-Nam Song, Dept. of Food and Nutrition, Semyung University, Jecheon 27136, Korea. Tel: +82-43-649-1430, Fax: +82-43-649-1759, E-mail: hnsong@semyung.ac.kr

기 때문에 고부가가치의 산업적 가공제품이나 식품자원으로 활용되지 못하고 있는 형편이다(Shin & Jung 1998).

쌀 배아에 관한 선행연구로는 쌀겨로부터 쌀 배아를 최대한 분리하고 잔존시키기 위한 도정기술에 관한 연구(Oh 등 2012)를 비롯하여, 식품학적 연구로서 쌀겨로부터 분리한 쌀눈의 일반성분과 저장 중 유지안정성(Shin & Jung 1998), 이화학적 성분(Choi 등 2000), 볶은 쌀눈의 품질특성(Ko 등 2003), 쌀 배아 음료 제조방법(Choi 등 2001) 및 콩고물과 혼합한 떡의 부재료로의 응용(Cho 등 2011) 등이 이루어져 있다. 쌀 배아의 생리기능성에 대한 연구로는 미배아 발효액(glumate)이 에탄올의 혈중농도에 미치는 영향(Kim 등 1993), 쌀눈기름의 혈당조절 효과(Lee 등 2003), 발효쌀 배아에서 추출한 GABA의 카페인으로 인한 불면증에 대한 개선 효과(Mabunga 등 2015) 등의 연구가 이루어져 있다.

그러나 미강 관련 연구와 달리 전반적으로 쌀 배아에 대한 관심은 매우 저조하여 축적된 연구결과가 매우 미흡할 뿐만 아니라, 오히려 쌀 배아를 분리하여 상품화하고자 하는 노력은 발효미강을 이용한 화장품 소재연구(Chae 등 2011), 쌀 배아와 황련을 이용한 자외선 차단 화장료(Hong 등 2009) 등과 같이 화장품 분야에서 증가하고 있는 추세이다.

그러나, 미강으로부터 순수한 쌀눈을 분리하는 새로운 도정장치에 대한 연구가 끊임없이 진행되고 있는 추세이므로, 쌀 배아를 식품의 소재로 폭넓게 활용할 수 있는 기술 또한 개발되어야 하며, 그 우수한 영양과 생리활성을 지닌 다양한 식품의 개발에도 많은 관심과 노력이 절실히 필요하다.

선행연구에서 쌀 배아는 효소적인 방법 등으로 액화시켜도 특유의 쌀뜨물 냄새나 텁텁한 맛, 아린맛 및 뚝은맛 등이 나타나, 기호도가 떨어지는 문제점이 발견되었다(Song HN 2007). 이에 본 연구에서는 미생물을 이용하여 발효 쌀 배아를 제조한 후 그 품질특성과 생리활성을 분석하였기에 보고하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

쌀 배아 시료는 도정시 미강과 쌀 배아의 비율을 달리하여 주문 제조하였다. 혼입된 배아의 비율에 따라 미강(Control), 쌀 배아 30% 함유시료(rice germ 30%; 이하 RG30) 및 쌀 배아 70% 함유시료(rice germ 70%; 이하 RG70)를 발효 전 시료로 사용하였다.

2. 발효 쌀 배아 제조

쌀 배아의 발효를 위하여 전보(Jung & Song 2009)에서와

같이 *Bacillus* 속의 초산발효균 원모배양액을 각 시료 무게의 40% 중량비로 접종하여 30일간 1차 발효시키고, 다시 시료 무게의 10% 중량비로 접종하여 동일한 방법으로 2차 발효를 시킨 후 48시간 동안 실온에서 자연 건조하였다. 건조한 시료는 1~2개월간 자연 숙성시킨 후 70~80°C의 건열에서 10분간 멸균시켜 최종발효물 시료로 하고, 각각 CF, RG30-F 및 RG70-F로 명명하였다.

3. 발효 쌀 배아의 일반성분 분석

일반성분은 각 시료를 와링블렌더(Variable speed laboratory blender, LB20ES, Waring Lab., Torrington, CT, USA)로 분쇄하여 분말로 만들고, AOAC 방법(AOAC 1996)에 준하여 분석하였다. 수분함량은 105°C 상압건조법, 회분함량은 550°C에서 직접회화법으로 분석하였다. 조단백질 함량은 micro-Kjeldahl 법을 이용한 단백질 자동분석기(Kjeltec protein analyzer, Tecator Co., Hoeganaes, Sweden)로, 조지방 함량은 Soxhlet 법을 이용하여 분석하였다. 탄수화물은 전체 100%에서 수분, 조단백질, 조지방과 조회분 함량을 제외한 값으로 나타내었다.

4. 발효 쌀 배아의 이화학적 품질특성 분석

각 시료 25 g에 증류수를 15배 가하여 3시간 동안 상온에서 교반 추출하고, Whatman No. 2 여과지로 감압 여과하여 시료로 사용하였다.

1) pH 및 총고형분 함량

pH는 시료 10 g을 증류수로 10배 희석한 후 pH meter(420A, Orion Co., USA)로 측정하였고, total soluble solids는 0.45 µm membrane filter로 여과한 후, Handrefractometer(PR-101; 0-45%, Atago Co., Japan)로 측정하였다(Song 등 2014).

2) 총당 함량

총당 함량은 phenol-sulfuric acid 법으로 측정하였다. 시료 희석액에 5% phenol 1 mL를 가하여 진탕하고, 진한 H₂SO₄ 5 mL를 가하여 다시 진탕한 후 10분간 방치하였다. 30°C의 water bath에서 20분간 방치한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다(Masuko 등 2005).

3) 총산도

시료를 3배 희석하여 0.1% phenolphthalein 지시약 2~3방울을 가한 후, 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.3이 될 때까지 적정하고, 소비된 0.1N NaOH 용액의 양을 식에 대입하여 계산하였다.

Total acidity(%) =

$$\frac{\text{Consumed } 0.1\text{N NaOH(mL)} \times 0.0064^{1)} \times 1.001^{2)} \times 100}{\text{Sample wt.(g)}}$$

¹⁾ 0.0064: citric acid factor, ²⁾ 1.001: 0.1N NaOH factor

5. 발효 쌀 배아의 생리활성 성분 분석

쌀 배아의 생리활성 분석을 위해 시료분말을 80% methanol로 추출하여 실험에 이용하였다.

1) Total polyphenol contents

Folin-Ciocalteu reagent가 시료의 폴리페놀성 물질에 의해 환원된 결과, 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 측정하였다(Song HN 2013a). 시료 1 mL에 2 N Folin-Denis reagent 1 mL를 가하여 진탕하고, 3분 후 10% Na₂CO₃ 용액 5 mL를 가한 다음 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응액을 분광광도계로 760 nm에서 흡광도를 측정하였고, gallic acid로 작성한 표준곡선으로부터 total polyphenol 화합물의 함량을 구하였다.

2) Total flavonoid contents

시료 250 µL에 증류수 1 mL와 5% NaNO₂ 75 µL를 가하였다. 5분 후 10% AlCl₃ · 6H₂O 150 µL를 가하여 6분 방치하고, 1 M NaOH 500 µL를 가하였다. 반응액의 흡광도값을 510 nm에서 측정하였고, 표준물질로(+)-catechin hydrate(Sigma Chemical Co. USA)를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 총 플라보노이드 함량은 g중의 µg(+)-catechin hydrate로 나타내었다(Samatha 등 2012).

6. 발효 쌀 배아의 생리활성 분석

1) DPPH radical 소거능 측정

DPPH(α,α-diphenyl-picrylhydrazyl)의 라디칼소거능은 ethanol 1 mL, 쌀 배아 추출물(0.5~10 mg/mL) 10 µL, 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.5) 990 µL를 분주한 시험관에 0.5 mM DPPH 용액 0.5 mL를 넣어 진탕한 후 암실에서 5분간 반응을 유도하였다. 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH 자유라디칼을 50% 억제하는데 요구되는 농도(IC₅₀)를 계산하였다(Song HN 2013b).

2) Xanthine oxidase(XO) 저해활성

시료용액(5 mg/mL) 0.1 mL에 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine 2 mM를 녹인 기질액 0.2 mL와 효소액 0.1 mL(40 mU/mL)를 37°C에서 5분간 반응시킨 후, 1N HCl 0.2 mL를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 생성된 uric acid를 292

nm에서 측정하여 저해율을 계산하였다(Sahgal 등 2009).

3) Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성

Angiotensin converting enzyme 저해효과측정은 Cushman과 Cheung(1971)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 기질 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine 2.5 mM를 녹인 용액 0.15 mL ACE(0.2 unit/mL) 0.1 mL와 시료(0.5 mg/mL) 0.1 mL를 혼합하고, 대조구는 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 0.25 mL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 1.5 mL ethyle acetate를 첨가하여 ethyl acetate층으로부터 용매를 증류시킨 후 잔사에 1 mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 228 nm에서 측정하여 저해율을 측정하였다.

7. 통계처리

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고, 처리간의 차이 유무를 one-way ANOVA(Analysis of variation)로 분석한 뒤, Duncan's multiple range test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 발효 쌀 배아의 일반성분

쌀 배아의 발효 전·후 일반성분을 비교하였다(Table 1). 수분함량은 발효 전 11.10~12.29%였으나, 발효 후 4.84~8.77%로 현저히 감소하였다. 쌀 배아 함유량이 증가할수록 조단백질 함량도 증가하여 쌀 배아 함량 70%인 시료가 발효 전·후 각각 20.25% 및 23.47%로 가장 높았다. 이는 Choi 등(2000)이 보고한 16.50%보다 높은 값이었다. 조지방은 발효 전 16.79~17.43%에서 발효 후 18.03~19.65%로 증가하였으며, 이는 Ko 등(2003)이 보고한 21.6%보다 낮았다. 조회분은 발효 전 6.39~8.26%에서 발효 후 7.53~9.99%로 다소 증가하였다. Choi 등(2000)은 수분 8.69%, 조단백 16.50%, 조지방 21.18%, 회분 6.23%, 조섬유 2.95% 및 탄수화물 44.45%로 보고한 바 있다. 발아 후 조단백질, 조지방, 조회분이 증가하는 것은 식물 종자의 발아 과정에서 대사에 관여하는 각종 효소들이 활성화됨에 따라 체내에서 다양한 물질로의 생합성이 증가되기 때문으로 보고되고 있다(Kim 등 2012).

2. 발효 쌀 배아의 품질 특성

쌀 배아의 발효 전·후 품질 특성을 비교하였다(Table 2).

Table 1. Approximate compositions of rice germ before and after fermentation¹⁾

(unit: %)

Samples	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Carbohydrate	
Before fermentation	C	11.10±0.01 ²⁾³⁾	14.31±0.14 ^a	16.79±0.10 ^a	7.50±0.2 ^b	50.29±0.13 ^c
	RG30	11.44±0.19 ^c	16.89±0.01 ^c	17.43±0.68 ^b	6.39±0.05 ^a	47.25±0.41 ^b
	RG70	12.29±0.08 ^f	20.25±0.07 ^e	17.25±2.52 ^b	8.26±0.11 ^c	41.97±0.5 ^a
After fermentation	CF	8.77±0.30 ^c	15.04±0.05 ^b	19.65±0.46 ^c	9.99±0.54 ^e	46.09±0.32 ^b
	RG30-F	4.84±0.27 ^a	17.16±0.08 ^d	18.03±0.54 ^c	7.53±0.19 ^b	53.03±0.35 ^e
	RG70-F	6.99±0.08 ^b	23.47±0.04 ^f	18.90±0.10 ^c	9.05±0.14 ^d	41.65±0.21 ^d

¹⁾ Abbreviations: C (control), RG30 (rice germ 30%), RG70 (rice germ 70%)

²⁾ Each values are mean±standard deviation (n=3).

³⁾ The different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

발효 전 pH는 5.83~6.26이었으나, 발효 후에는 4.77~4.93으로 급격히 감소하였다. 이에 따라 발효 전 총산도는 0.08~0.15%에서 발효 후 0.42~0.54%로 크게 증가하여 발효된 쌀 배아에는 미생물의 발효에 의해 유기산 생성이 많아진 것으로 추측되었다. 쌀 배아 및 발효 쌀 배아의 산도측정에 관한 선행연구는 보고된 바 없다.

쌀 배아의 총고형분 함량은 발효 전 0.40~0.87 °Bx로 매우 낮았으나, 발효 후 1.63~2.20 °Bx로 크게 증가하였다. 이와 같이 발효 후 고형분 함량이 증가한 것은 미생물 발효에 따른 물리화학적 변화에 의해 고분자 물질이 수용성의 저분자 물질로 분해되었거나, 조직의 파괴에 의해 가용성 성분이 쉽게 분리되어 나왔기 때문인 것으로 추측된다(Ryu 등 1997). Lee 등(2004)은 침출차의 특성 모니터링 연구를 통해 가용성 고형분 함량 증가는 관능평가시 전반적인 기호도의 증가와 밀접한 상관관계가 있는 것으로 보고한 바, 본 연구에서 나타난 발효 쌀 배아의 고형분 함량 증가 또한 향후 침출차 등의 제품 개발에 매우 유리한 특성이 될 것으로 기대된다.

쌀 배아의 총당 함량은 발효 전에는 377.56~450.64 mg/mL였으나, 발효 후에는 136.81~151.53 mg/mL로 크게 감소하였

다. 이는 발효과정에서 쌀 배아의 당류화합물이 미생물의 영양원으로 쓰이거나 분해되었기 때문인 것으로 추측된다.

3. 발효 쌀 배아의 생리활성 성분분석

쌀 배아 발효 전·후의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 폴리페놀 화합물은 식품계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 항산화, 항균활성 등의 생리활성을 지닌 것으로 알려져 있다. 체내 생체막에 존재하는 지질이 활성 산소에 의해 유리기와 연쇄반응을 일으켜 산화됨으로써 인체의 노화의 원인이 되는데, 이때 폴리페놀 물질들이 이러한 유리기를 제거시킨다.(Song & Gil 2002; Osawa T 1994). 발효 전·후 폴리페놀 함량은 대조군이 0.59 및 0.73 mg GAE/g으로 가장 높았고, RG30과 RG70은 발효 전 0.26 및 0.28 mg GAE/g에서 발효 후 0.52 및 0.70 mg GAE/g과 같이 유의적으로 증가하였다. 버섯발효액의 생리기능성 분석에 대한 Kim & Lee(2003)의 연구결과에서도 총 폴리페놀함량은 모든 군주에서 발효 전보다 발효 후 유의적으로 높은 함량을 나타내어, 본 연구 결과와 일치하는 경향을 보였다. 이는 미생물의

Table 2. pH, total acidity, total soluble solids and total sugar of rice germ before and after fermentation¹⁾

Samples	pH	Total acidity (%)	Total soluble solid (°Bx)	Total sugar (mg/mL)	
Before fermentation	C	6.01±0.04 ²⁾³⁾	0.08±0.00 ^a	0.50±0.10 ^b	377.56± 0.59 ^d
	RG30	6.26±0.01 ^a	0.08±0.00 ^a	0.40±0.10 ^a	428.54±10.90 ^e
	RG70	5.83±0.03 ^c	0.15±0.00 ^b	0.87±0.06 ^c	450.64±12.13 ^f
After fermentation	CF	4.77±0.00 ^b	0.52±0.00 ^d	1.73±0.06 ^e	151.53± 0.93 ^c
	RG30-F	4.93±0.02 ^c	0.42±0.01 ^c	1.63±0.06 ^d	136.81± 1.13 ^a
	RG70-F	4.92±0.05 ^b	0.54±0.01 ^d	2.20±0.10 ^f	148.96± 1.09 ^b

¹⁾ Abbreviations: C (control), RG30 (rice germ 30%), RG70 (rice germ 70%)

²⁾ Each values are mean±standard deviation (n=3).

³⁾ The different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

Table 3. Contents of polyphenol and flavonoid in rice germ before and after fermentation¹⁾

Samples		Polyphenol contents (mg gallic acid equivalent/g)	Flavonoid contents (mg catechin equivalent/g)
Before fermentation	C	0.59±0.03 ^{2)db3)}	0.09±0.01 ^c
	RG30	0.28±0.04 ^b	0.07±0.03 ^a
	RG70	0.26±0.03 ^a	0.08±0.01 ^b
After fermentation	CF	0.73±0.02 ^f	0.10±0.01 ^d
	RG30-F	0.52±0.02 ^c	0.07±0.03 ^a
	RG70-F	0.70±0.04 ^e	0.18±0.01 ^e

¹⁾ Abbreviations: C (control), RG30 (rice germ 30%), RG70 (rice germ 70%)

²⁾ Each values are mean±standard deviation (n=3).

³⁾ The different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

발효에 의해 수용성 폴리페놀 화합물들이 생성되는 것으로 추측된다. 플라보노이드류 화합물은 2개의 방향족 고리를 포함한 3개의 고리가 결합한 구조로 각 고리구조 내부의 작용기에 의해 항산화, 항균, 항염, 항알레르기 및 항혈전 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Velioglu 등 1998). 폴리페놀 화합물과 함께 항산화 활성에 기여할 수 있는 쌀 배아의 플라보노이드 함량은 시료별 및 발효 전·후의 차이가 미미한 것으로 나타났다.

4. 발효 쌀 배아의 생리활성 분석

쌀 배아 발효 전·후의 항산화 효과는 DPPH 법에 의한 전자공여능(Electron Donating Ability, EDA%)을 측정된 후, DPPH 자유라디칼을 50% 억제하는데 요구되는 농도인 IC₅₀으로 비교하여, Table 4에 나타내었다. 대조군의 IC₅₀은 가장 낮았으며 발효 전 3.77 mg/mL에서 발효 후 3.36 mg/mL로 유의적으로 감소하였다. RG30은 발효 전·후 각각 6.05 및 3.90 mg/mL로 나타났고, RG70은 각각 10.52 및 6.58 mg/mL와 같이 발효 후 유의적으로 감소하였다. 이와 같이 발효 후의 항산화 활성이 증가하는 것은 폴리페놀 함량이 발효 후 증가한 결과와도 일치한다. Kim 등(2010)은 현미와 백미 에탄올 추출물의 항산화 활성을 비교한 결과, DPPH 자유라디칼 소거 활성이 백미보다 현미 추출물에서 현저하게 높게 나타났으며, 이는 현미 추출물의 높은 페놀 화합물 함량과 관련이 있다고 보고한 바 있다. 또한 *Bacillus subtilis*로 발효한 미강도 발효 전보다 자유라디칼 소거활성이 증가되는 것으로 보고되어 본 연구와 유사한 것으로 나타났다(Chae 등 2011).

쌀 배아 발효 전·후의 xanthine oxidase(XO) 저해활성 측정결과를 Table 5에 나타내었다. Xanthine oxidase는 생체내 퓨린 대사에 관여하는 효소로 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 요산(urate)을 형성한다. 혈장내 증가된 요산은 용해도가 낮기 때문에 관절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍을

일으키며, 따라서 xanthine oxidase를 저해하는지의 여부는 통풍의 예방과 치료 예측에 중요한 지표가 된다(Cho 등 1993). 대조군의 xanthine oxidase 저해활성은 발효 전 59.65%에서 발효 후 63.69%로 증가하였으며, 모든 시료 중 가장 높았다. RG30 및 RG70 또한 발효 전 각각 43.12% 및 49.81%에서 발효 후 51.32% 및 59.32%로 유의적으로 활성이 증가하였다. Yeo 등(1995)은 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 XO 저해활성 연구결과, polyphenol 화합물인 catechin 분획의 효소저해력이 가장 높았으며, 농도가 증가할수록 저해력도 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 폴리페놀 함량이 가장 높은 대조군의 효소저해 활성이 가장 높게 나타났고, 발효 후 폴리페놀 함량이 증가함에 따라 효소저해 활성도 증가한 결과로 미루어 폴리페놀 함량과 XO 저해활성은 매우 밀접한 상관관계가 있는 것으로 사료된다.

Table 4. DPPH radical scavenging effect of rice germ before and after fermentation¹⁾

Samples		IC ₅₀ (mg/mL) ²⁾
Before fermentation	C	3.77±0.01 ^{3)bd4)}
	RG30	6.05±0.03 ^d
	RG70	10.52±0.14 ^e
After fermentation	CF	3.36±0.01 ^a
	RG30-F	3.90±0.07 ^c
	RG70-F	6.58±0.07 ^d

¹⁾ Abbreviations: C (control), RG30 (rice germ 30%), RG70 (rice germ 70%)

²⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determinations, obtained by interpolation of concentration-activity curve.

³⁾ Each values are mean±standard deviation (n=3).

⁴⁾ The different letters in the same column indicate significant differences ($p<0.05$).

Table 5. Xanthine oxidase (XO) and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibition activity of rice germ before and after fermentation¹⁾

Samples	XO inhibition activity (%) ²⁾	ACE inhibition activity (%) ²⁾	
Before fermentation	C	59.65±0.31 ³⁾⁴⁾	36.11±0.03 ^e
	RG30	43.12±0.21 ^a	14.79±0.17 ^a
	RG70	49.81±0.08 ^b	28.54±0.61 ^c
After fermentation	CF	63.69±0.14 ^e	40.51±0.51 ^f
	RG30-F	51.32±0.77 ^c	22.69±0.70 ^b
	RG70-F	59.32±0.84 ^d	33.91±0.29 ^d

¹⁾ Abbreviations: C (control), RG30 (rice germ 30%), RG70 (rice germ 70%)

²⁾ The enzyme activity was determined at 5 mg/mL of each samples.

³⁾ Each values are mean±standard deviation (n=3).

⁴⁾ The different letters in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

쌀 배아 발효 전·후 angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성을 측정한 결과를 Table 5에 나타내었다. 고혈압 발병기작에 있어 renin-angiotensin system은 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. 즉, 혈류장애가 생기면 신장에서 renin이라는 효소가 생성되어 angiotensinogen에 작용함으로써 angiotensin I을 생성하는데, 이는 다시 ACE에 의해 angiotensin II로 전환된다. Angiotensin II는 직접 혈관 수축을 일으키는 인자일 뿐만 아니라, aldosterone의 분비를 증가시켜 Na^+ 을 보존하고, K^+ 을 배출시킴으로써 수분이 저류되고 체액이 증가하여 혈압 상승을 유발한다. 또한 이 효소는 혈관 이완작용을 지닌 bradyxin을 억제함으로써 결과적으로 혈압을 상승시킨다. 따라서 고혈압을 예방 또는 치료하는 방법으로 ACE 저해제가 널리 사용되고 있으나, 높은 활성과 특이성을 지닌 합성약물로 제조되어 많은 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Ma SJ 2000; Vermeirssena 등 2002; Erdos & Skidgel 1987). 이러한 부작용을 해결하기 위한 천연물의 ACE 저해효과는 매우 중요한 의미가 있어 고혈압 치료제로서의 개발 가능성이 제시된 후, 각종 식물 및 생약재에서 분리한 물질들에 대한 연구가 많이 이루어져 왔다(Messerli FH 1999). 쌀 배아의 ACE 저해활성은 대조군이 발효 전·후에 가장 높아 36.11%에서 40.51%로 증가한 것으로 나타났다. RG30은 발효 전 14.79%에서 발효 후 22.69%로 활성이 증가하였고, RG70은 각각 28.54%에서 33.91%로 유의적으로 증가하였다. 일반적으로 녹차의 catechin, 메밀의 rutin과 같은 polyphenol 성분들이 주요 ACE의 활성 저해인자로 알려져 있으며(Maruyama 등 1985), 일부 팔 유래 peptide 등도 ACE 저해효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Kwon 등 2000). 본 연구에서 쌀 배아의 발효 후 ACE 저해력 증가는 폴리페놀 성분의 증가에 의한 것으로 사료된다.

요 약

쌀 배아의 활용가능성을 높이기 위한 기초연구로서 미생물을 이용하여 발효 쌀 배아를 제조한 후 품질특성과 생리활성을 분석하였다. 대조군인 왕겨와 쌀 배아 30% 및 70% 함유 시료를 *Bacillus* 속의 발효균으로 발효시켰다. 일반성분 분석 결과, 쌀 배아 함량이 증가할수록 조단백질 함량이 유의적으로 증가하였고, 발효 전에 비해 발효 후에 유의적으로 높았다. 수분함량은 발효 후 현저히 감소하였다. 발효 후 pH는 5.83~6.26에서 4.77~4.93으로 급격히 감소하였고, 총산도는 증가하였다. 총고형분 함량은 0.40~0.87 Bx에서 발효 후 1.63~2.20 Bx로 증가하였고, 총당 함량은 377.56~450.64 mg/mL에서 136.81~151.53 mg/mL로 감소하였다. 발효 전·후 폴리페놀 함량은 대조군이 0.59 및 0.73 mg GAE/g으로 가장 높았고 쌀 배아 30% 및 70% 함유시료는 발효 전 각각 0.26 및 0.28 mg GAE/g에서 발효 후 0.52 및 0.70 mg GAE/g과 같이 유의적으로 증가하였다. 플라보노이드 함량은 시료별 및 발효 전·후의 차이가 미미한 것으로 나타났다. DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능을 분석한 결과, 대조군의 IC_{50} 은 가장 낮았으며, 발효 전 3.77 mg/mL에서 발효 후 3.36 mg/mL로 유의적으로 감소하였다. 쌀 배아 30% 함유시료는 발효 전·후 각각 6.05 및 3.90 mg/mL로 나타났고, 70% 함유시료는 각각 10.52 및 6.58 mg/mL와 같이 발효 후 유의적으로 감소하였다. 대조군의 xanthine oxidase 저해활성은 발효 전 59.65%에서 발효 후 63.69%로 증가하였으며, 모든 시료 중 가장 높았다. 쌀 배아 30% 및 70% 함유시료는 발효 전 각각 43.12% 및 49.81%에서 발효 후 51.32% 및 59.32%로 유의적으로 활성이 증가하였다. ACE 저해활성은 대조군이 발효 전·후에 가장 높아 36.11%에서 40.51%로 증가하였다. 쌀 배아 30% 함유시료는 14.79%

에서 22.69%로 활성이 증가하였고, 70% 함유시료는 28.54%에서 33.91%로 유의적으로 증가하였다. 종합적으로 쌀 배아의 함량이 증가할수록 단백질 함량은 증가하고, DPPH 라디칼 소거능, XO 및 ACE 저해활성은 낮아지나, 미생물 발효에 의해 이와 같은 생리활성이 증진되는 것으로 나타났다. 따라서 미생물 발효는 향후 쌀 배아의 이용가능성 증진에 효과적인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2014년 세명대학교 교내학술연구비의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- AOAC. 1996. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, pp. 210-219, USA
- Chae GY, Kwon RH, Jang MW, Kim MJ, Ja BJ. 2011. Whitening and antioxidative effect of rice bran fermented by *Bacillus subtilis*. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 37:153-159
- Cho MK, Nam SH, Kang MY. 2011. Manufacturing method of rice cake with rice embryo. Korea Patent No. 10-1024828
- 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
- Choi OK, Yun SK, Hwang SY. 2000. The chemical components of Korean rice germ. *Korean J Dietary Culture* 15:253-258
- Choi WK, Hwang SY, Yun SK, Lee GD. 2001. Rice germ beverage and method for making the same. Korea Patent No. 10-2001-0013737
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20:1637-1648
- Erdos EG, Skidgel RA. 1987. The angiotensin I converting enzyme. *Lab Invest* 56:345-348
- Hong ES, Ahn KW, Cho BK. 2009. A cosmetic composition containing rice germ and *Coptis chinensis* extracts for absorbing ultraviolet. Korea Patent No. 10-1083029
- Jung SM, Song HN. 2009. Biological activities of fermented mugworts and their effects on lipid metabolism in rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 19:356-362
- 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 rice and milled rice by cultivar. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:467-473
- Kim HY, Hwang IG, Kim TM, Woo KS, Park DS, Kim JH, Kim DJ, Lee JS, Lee YR, Jeong HS. 2012. Chemical and functional components in different parts of rough rice (*Oryza sativa* L.) before and after germination. *Food Chem* 134:288-293
- Kim NM, Lee JS. 2003. Effect of fermentation periods on the qualities and physiological functionalities of the mushroom fermentation broth. *Korean J Mycol* 31:28-33
- Kim YC, Park SH, Lee MG. 1993. Effect of glutamate on the blood concentration of ethanol in healthy adults. *Yakhak Hoeji* 37:549-553
- Ko SN, Kim CJ, Kim IH. 2003. Effects of roasting condition on the quality characteristics and oxidative stabilities of rice germ. *Korean J Food Sci Technol* 35:347-352
- Kwon YS, Lee HG, Shin HK, Yang CH. 2000. Purification and identification of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from small red bean protein hydrolyzate. *Food Sci Biotechnol* 6:292-296
- Lee GD, Yoon SR, Kim JO, Hur SS, Seo KI. 2004. Monitoring on the tea with steaming and drying process of germinated buckwheat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:212-217
- Lee SH, Park HJ, Chun HK, Rhie SG, Lee YS. 2003. Supplementary effect of the rice germ oil on blood glucose in diabetic KK mice. *Korean J Community Living Sci* 14:47-57
- Ma SJ. 2000. Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29:395-400
- Mabunga DFN, Gonzales ELT, Kim HJ, Choung SY. 2015. Treatment of GABA from fermented rice germ ameliorates caffeine-induced sleep disturbance in mice. *Biomol Ther* 23:268-274
- Maruyama SK, Nakagomi N, Tomizuka N, Suzuki H. 1985. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin-potentiating activity on the uterus and the ileum of rats. *Agric Biol Chem* 49:1405-1410
- Masuko T, Minami A, Iwasaki A, Majima T, Nishimura SI, Lee YC. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Anal Biochem* 339:69-72
- Messerli FH. 1999. Combination in the treatment of hypertension: ACE inhibitors and calcium antagonists. *Am J Hypertens* 12:86S-90S
- Oh SH, Choi KJ, Song YC, Kim SY, Seo WD. 2012. Development of improvement technology for the remain rate. RnD Report.

- National Institute of Crop Science
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In Post Harvest Biochemistry of Plant-Food Materials in the Tropics. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan. pp. 241-251
- Ryu KC, Chung HW, Kim KT, Kwon JH. 1997. Optimization of roasting conditions for high-quality *Polygonatum odoratum* tea. *Korean J Food Sci Technol* 29:776-783
- Sahgal G, Ramanathan S, Sasidharan S, Mordi MN, Ismail S, Mansor SM. 2009. *In vitro* antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules* 14:4476-4485
- Samatha T, Shyamsundarachary R, Srinivas P, Swamy NR. 2012. Quantification of total phenolic and total flavonoid contents in extracts of *Oroxylum indicum* L. Kurz. *Asian J Pharm Clin Res* 5:177-179
- Shin DH, Chung CK. 1998. Chemical composition of the rice germ from rice milling and its oil stability during storage. *Korean J Food Sci Technol* 30:241-243
- Song HN, Gil B. 2002. Analysis of nutritional composition and phenolic compound in propolis collected from *Falsea cacia* and chestnut tree in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 34:546-551
- Song HN, Park MS, Youn HS, Park SJ, Hogstrand C. 2014. Nutritional compositions and antioxidative activities of two blueberry varieties cultivated in South Korea. *Korean J Food Preserv* 21:790-798
- Song HN. 2007. Development of functional drink using fermented rice germ. RnD Report. Small and Middle Business Administration
- Song HN. 2013a. Quality properties of fermented mugworts and the rapid pattern analysis of their volatile flavor components via surface acoustic wave(SAW) based electronic nose sensor in the GC system. *Korean J Food Preserv* 20:554-563
- Song HN. 2013b. Quality analysis for recycle of the drained soybean boiling water discarded in the mass production of fermented soy foods. *Korean J Food Cookery Sci* 29:525-531
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46:4113-4117
- Vermeirssena V, Van Camph J, Verstraetea W. 2002. Optimization and validation of angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *J Biochem Biophys Methods* 51:75-87
- Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. 1995. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolongtea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24:154-159

Received 30 November, 2016

Revised 06 January, 2017

Accepted 12 January, 2017