



발효시간에 따른 미강의 기능성 성분 및 항산화 효과 - 락토바실러스 브레비스를 이용 -

윤복근¹ · 손은심^{2,*}

¹(주)마이크로바이옴, ²(주)요헤벳

Functional Components and Antioxidant Effects of Rice Bran by Fermentation Time - Using *Lactobacillus brevis* -

Bokkun Yoon¹, Eunshim Son^{2,*}

¹Microbiome Co., Ltd.

²Jochebed Co., Ltd.

Abstract

The purpose of this study was to investigate nutritional and functional ingredients and antioxidant activity after fermenting rice bran using *Lactobacillus brevis* for 24, 36, and 48 hours. The results of the analysis of the nutritional ingredients revealed that there was no significant difference in the carbohydrate, crude protein, crude fat and ash content regardless of the fermentation process and fermentation time. The amount of dietary fiber was significantly different between the unfermented and fermented rice bran and was observed to be the highest after a 48-hour fermentation. The γ -oryzanol, gamma-aminobutyric acid (GABA) and total phenolic contents were significantly higher in the fermented rice bran compared to the unfermented rice bran ($p < 0.05$) and the GABA and total phenolic contents increased significantly as the fermentation time increased ($p < 0.05$). The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), superoxide and hydroxyl radical scavenging activities used to measure antioxidant effects significantly increased as the fermentation time increased ($p < 0.05$). From these results, it was confirmed that the antioxidant effect and functional components, namely γ -oryzanol, GABA, and the total phenolic content of rice bran improved with fermentation. Based on these results, fermented rice bran could be presented as a functional material for use in high value-added industries.

Key Words : Antioxidant effects, fermentation, gaba, rice bran, total phenolic contents

1. 서 론

식품 가공 시 완성된 제품 이외에 중간산물이 생성되는데 이 중간산물을 부산물이라고 하며, 이는 보통 수거, 분리, 처리 시 소각하거나, 매립 등 대부분 활용되지 못하고 버리는 경우가 많다. 하지만 이를 활용 시 부가가치가 매우 높은 바이오매스 자원으로 활용할 수 있기 때문에 환경적인 문제뿐만 아니라 경제적인 측면 즉 가격경쟁력을 향상시켜 국내 식품산업에 미치는 영향이 긍정적일 수 있다는 점에서 주목받고 있다(MinAlexander et al. 2023). 천연물질 중 미강은 한국인의 밥상에서 빠질 수 없는 쌀 도정 시 발생하는 부산물로, 미국 생산량의 6-8%에 해당된다. 하지만 저장기간 동안 미강 내에 존재하는 리피아제의 작용으로 산패가 일어나 식

품원료로써 사용하는데 제약이 있으며, 이로 인해 사료, 비료, 유지원료, 미용 제품에 국한되어 사용되고 있다(Kim & Son 2012). 도정부산물이지만 성분으로는 40여 종의 단백질, 지질, 비타민 B군, 비타민 E, 칼슘, 인, 마그네슘, 철과 같은 미네랄, 항산화 물질인 γ -oryzanol, GABA, tocotrienol 등이 들어 있어 인체 내에서 여러 가지 생리작용을 하는 것으로 알려져 있으며(Park et al. 2021a; Talib et al. 2022), 미강에 함유된 섬유소는 혈중 콜레스테롤을 낮추고 장내 비피더스균을 증가시켜 장내 세균의 균형을 유지하는 기능이 있다(Jolfaie et al. 2016; Shibayama et al. 2019). 미강에 대한 최근 연구는 쌀겨 추출물의 변이원성 억제 효과(Saez-Lara & Gomez-Lorent 2015; Talib et al. 2022), 간암 세포주 및 자궁경부암 세포주에 대한 항암 활성(Nemoto et al. 2022;

*Corresponding author: Eunshim Son, Jochebed Co., Ltd., #901-2, Anyang IT Valley, 1027, Hogue-dong, Dongan-gu, Anyang city, Republic of Korea
Tel: +82-31-384-2023 Fax: +82-31-386-2023 E-mail: es.son@jochebedkorea.com

Talib et al. 2022), 혈중 콜레스테롤 저하 효과(Jolfaie et al. 2016), 혈압 상승 억제 효과(Suwannapan et al. 2019) 및 염증 반응 억제 활성화(Saez-Lara & Gomez-Lorent 2015) 등 다양한 생리적 기능에 대한 연구가 보고되어 왔다(Muniroh et al. 2019). 미강 추출물에는 피트산, 페룰산, 오리자놀과 같은 항산화제 공급원으로 여러 유형의 폴리페놀 화합물이 포함되어 있는 것으로 알려져 있다(Nisa et al. 2020; Nisa et al. 2021). 이러한 생리활성 효과에 대한 인식이 높아짐에 따라 미강이 첨가된 가공식품, 건강보조식품 등의 제품이 만들어지기도 하였으며(Wanyo et al. 2016), 소화력을 높이기 위해 미생물 이용 미강 발효식품에 관한 연구도 진행되고 있다(Yao et al. 2022). 하지만 다양한 종류의 유산균을 통한 발효에 대한 연구는 매우 미비하다.

발효는 가장 오래 역사를 가진 생물학의 기술로, 특히 식품 분야를 중심으로 산업 전반에 걸친 기술개발이 현재에도 이루어지고 있다(Li et al. 2023). 의약품의 경우 발효를 이용 시 미생물이 생산하는 약물 흡수촉진 성분인 지질당체, 인지질, 지질 단백질 복합체 등의 미생물 유래 성분이 약물의 생물학적 흡수를 향상시키고, 생체약리학적 효과를 더욱 강화시킬 수 있다고 보고 되었다(Park 2012). 발효에 관여하는 주된 미생물로는 유산균, 고초균, 황국균 등이 있으며(Park 2012), 이들 중에는 프로바이오틱스 기능을 지닌 것들도 있어 설사, 고지혈증, 염증성 장 질환, 면역기능과 관련된 다양한 질병을 예방하는데 사용될 수도 있다(Saez-Lara & Gomez-Lorent 2015; Kwon et al. 2023). 프로바이오틱스 중 가장 대표적인 미생물로는 유산균으로 탄수화물을 발효시켜 젖산을 생성하는 균류를 말하며, 이들은 유제품, 전통 발효식품 등에 다양하게 존재한다(Yoon & Shin 2017). 유산균에 의한 발효는 식품에 다양한 맛과 조직감을 부여하고, 풍부한 영양 및 정장작용, 항콜레스테롤, 면역증강 효과, 유당불내증 완화 등의 기능성으로 식품의 가치를 증가시킬 뿐 아니라(Ko et al. 2013; Kim et al. 2016), 항균성 물질의 생합성으로 저장성 또한 향상시킨다(Kim & Hong 2023). 미강을 이용한 발효 연구를 통하여 지질, 단백질, 비타민 B 및 필수 아미노산, 페룰산, 페룰산, 바닐산, γ -oryzanol, 피트산(피트산, phytic acid) 및 이노시톨과 같은 생물학적으로 활성화된 대사산물이 생성(Jung et al. 2017)되는 것이 밝혀졌다. 건강 증진을 위해 생체 활성을 유익하게 변화시키는 몇 가지 특징은 이전의 연구를 통해 세균 또는 곰팡이 약제를 사용한 발효 미강에서 발견되었는데, 특히 락토바실러스 람노시스(*Lactobacillus rhamnosus*)와 사카로마이세스 세레비제(*Saccharomyces cerevisiae*)를 혼합하여 미강을 발효시키면 생성된 추출물이 B16F1 흑색종의 멜라닌 합성을 억제하는 것으로 보고되었으며(Kim et al. 2007; Shibayama et al. 2019), 페룰산과 같은 수많은 식물 페놀은 발효를 통해 항산화 효능을 개선할 수 있다고 하였다(Jung et al. 2017). 발효 공정은 고부가가치 제품 생산에 일반적으로 사용되며 식품,

건강 및 화장품 산업에 적용될 수 있다고 보여진다(Pérez-Rivero & López-Gómez 2023).

따라서 본 연구에서는 쌀 도정 부산물인 미강이 식생활의 다양화와 고급화, 식품의 기호성 증진을 위해 과거보다 더욱 정교해지는 곡류의 도정 과정으로 인해 계속 증가(Kim et al. 2019)할 것으로 예측되어 산업적 활용 측면을 살펴보기 위해 발효시간에 따른 항산화능과 페놀함량, 기능성 성분의 변화를 비교하여 식품소재로 가치를 제시하고자 한다.

II. 연구 내용 및 방법

1. 미강의 발효

연구를 위해 미강은 논산에 위치한 (주)평화영농조합법인으로부터 공급받아, 발효과정에 사용될때까지 실리카겔로 실온에서 포장하여 보관하면서 사용하였다. 발효에 이용된 유산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*)로, 발효 미강은 다음과 같은 방법으로 준비하였다. 미강 30 g을 Erlenmeyer 플라스크에 증류수 250 mL로 현탁시키고 121°C에서 15분간 멸균하였다. 플라스크를 상온에서 냉각시킨 후 Nisa et al. (2021)의 연구를 참고하여 10%의 유산균을 첨가하였으며, 발효시간을 24시간, 36시간, 48시간으로 35°C에서 발효했다(Nisa et al. 2021). 항산화 분석을 위한 시료는 Yuhasliza et al. (2015)과 Kim & Son (2012)의 연구를 토대로 미강 발효시료에 80% ethanol을 4 h 동안 침지 후 상등액을 채취, 여과 후 40°C에서 농축시켜 획득한 미강 추출물을 사용하였다. 분석에 이용하기 전 100 mL의 삼각플라스크에 추출물 1과 40 mL의 에탄올을 첨가하여 균일하게 용해시킨 후 membrane filter를 사용하여 여과 후 분석 시료로 이용하였다. 비교군으로 천연 항산화제인 비타민 C (Sigma, USA)를 사용하여 추출물과 동일한 농도로 항산화 활성을 비교하였다(Kim & Son 2012).

2. 영양성분 분석

영양성분에 대한 분석은 Association of Official Analytical Chemists (AOAC 1984) 방법에 준하여 실시하였다(MinAlexander et al. 2023). 수분은 상압가열건조법으로 105°C에 2시간 이상 건조하였고, 조단백질은 micro-kjeldahl법을 통해 분석하고, 조지방은 Soxhlet 추출법, 마지막으로 조회분은 회화법으로 분석하였다(MinAlexander et al. 2023). 탄수화물은 각각의 시료별 100 g에 대하여 수분, 조단백질, 조지방, 조회분 함량을 제외한 값으로 표시하였다(Kim & Son 2012).

총 식이섬유(Total dietary fiber: TDF)함량은 효소중량법(enzymatic-bravimetric method)인 AOAC (1984)법으로 분석하였다(Park et al. 2021b; MinAlexander et al. 2023). 즉 시료를 termamyl (heat stable α -amylase)로 액화시킨 후, protease와 amyloglucosidase를 순차적으로 반응시켜 단백질과 전분을 가수분해하고 용액 중의 가용성 식이섬유를 에탄

올로 침전시켰다(MinAlexander et al. 2023). 이 용액을 미리 항량을 구해 놓은 crucible를 통하여 감압 여과하고 잔류 물을 에탄올과 아세톤으로 세척, 건조시킨 후 건조 잔사 중의 단백질과 회분의 양을 제외한 건조 전, 후의 무게 차로 총 식이섬유의 함량을 구하였다(MinAlexander et al. 2023).

3. γ -Oryzanol 분석

시료의 γ -oryzanol 함량은 Lilitchan et al. (2008)에 따라 측정하였다. 시료 1 g을 칭량하여 헥산 4 mL와 8 mL를 각각 넣은 후 vortexing하여 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다(Lilitchan et al. 2008; Kim et al. 2021). 상층액의 흡광도 값을 분광광도계(Thermo Scientific Ltd., Lafayette, CO., USA)를 이용하여 314 nm에서 측정하였다(Kim et al. 2021). 표준물질로는 Wako Pure Chemical Industries의 γ -oryzanol을 사용하였으며, 표준 검량선은 3-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 사이의 값을 사용하였다(Lilitchan et al. 2008; Kim et al. 2021).

4. γ -Aminobutyric Acid (GABA) 분석

시료의 GABA 함량은 Zhang & Bown (1997)의 방법을 일부 수정하여 실험하였다. 시료 0.1 g에 메탄올 400 μL 를 넣고 잘 섞은 뒤 water bath에서 약 1시간 동안 건조시켰다(Kim et al. 2021). 여기에 70 mM lanthanum chloride 1 mL를 가하여 혼합한 후 원심분리하였다(Zhang & Bown 1997; Kim et al. 2021). 원심분리한 상등액 700 μL 를 취하여 1 M KOH 160 μL 를 첨가한 후 원심분리하여 GABA 측정에 이용하였다(Kim et al. 2021). GABA 함량 측정은 GABAse를 이용한 효소 측정 방법으로 진행하였고 생성되는 NADPH의 양을 ELISA reader기(Thermo Scientific Ltd., Lafayette, CO, USA)를 이용하여 340 nm에서 측정하였다(Zhang & Bown 1997; Kim et al. 2021).

5. 총 페놀 함량

총 폴리페놀 함량을 평가하기 위해 Folin-Ciocalteu법을 이용하였다(Florence et al. 1992). 시료 0.5 mL, 증류수 7.5 mL, Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL을 혼합하여 8분간 보관한 후 20% Na_2CO_3 용액 1.5 mL을 넣어 2시간 동안 배양하였다. 분광광도계(UV-1800 Shimadzu, Japan)를 이용하여 765 nm에서 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 표준 검량선을 작성하여 시료 g 당 gallic acid mg로 계산하였다. Gallic acid의 농도는 10-500 mg/mL 가 되도록 하여 위와 같은 방법으로 765 nm에서 흡광도를 평가하여 작성하였다(Kim et al. 2015).

6. DPPH 및 ABTS radical 소거능

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능은 Blois (1958)의 방법을 이용하여 실험에 적용하여 시료 추출물 25 μL 에 DPPH 용액 500 μL 를 첨가한 뒤 30분간 암소

에 반응시켜 ELISA reader기로 520 nm에서 측정하였다(Kim et al. 2021).

ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼 소거능은 Re et al. (1999)의 방법을 참고하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate를 혼합 후 상온의 암소에서 12시간 이상 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시킨 뒤 735 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되게 증류수로 희석하여 사용하였다(Kim et al. 2021). 25 μL 의 시료 추출물에 희석된 ABTS 용액을 500 μL 첨가하고 약 30 분간 암소에서 방치하였다. 그 후 96-well에 200 μL 씩 옮기고 ELISA reader기를 이용하여 735 nm에서 흡광도를 측정하였다(MinAlexander et al. 2023). ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능의 표준물질로 gallic acid를 사용하였으며, mg gallic acid equivalent (GAE)/g residue로 나타내었다(Li et al. 2023).

7. Superoxide Radical 소거능

2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) 1 mM 50 μL 와 esterase (600 unit/mL) 50 μL 를 혼합한 뒤 37°C에서 20 min간 반응시켜 2',7'-Dichlorodihydro-fluorescein (DCFH) solution을 만든 후 DCF 측정법을 사용하여서 평가하였다(Joseph et al. 2016). 96-well plate에 농도별 각 시료 10 μL 를 넣고 50 mM 칼륨인산완충용액 130 μL 를 넣은 뒤 20 mM menadion 10 μL 와 칼륨인산완충용액으로 100배 희석한 DCFH solution 50 μL 를 넣고 5 min간 섞어준다(Son & Ha 2013). Synergy HT로 485/530 nm에서 fluorescence를 5 min 간격으로 30 min간 측정하였다.

8. Hydroxyl Radical 소거능

DCFDA (1 mM) 50 μL 와 esterase (600 unit/mL) 50 μL 를 혼합한 뒤 37°C에서 20 min간 반응시켜 DCFH solution을 만들어 DCF 측정법을 이용하여 실시하였다(Son & Ha 2013). 96-well plate에 농도별 각 시료 10 μL 를 넣고 10 mM FeSO_4 540 μL 와 1.35 mM H_2O_2 20 mL를 섞은 혼합액을 190 μL 씩 넣어준다(Son & Ha 2013). 100배 희석한 DCFH solution 50 μL 를 넣고 5 min간 섞어준다. Synergy HT로 485/530 nm에서 fluorescence를 10 min 간격으로 40 min간 측정하였다(Chae et al. 2011).

9. 통계분석

본 연구의 결과 값은 3회 반복하여 실시한 결과이며, 평균 \pm 표준편차로 표시하였다(Kim et al. 2021). 연구 결과의 통계적인 유의성 검증은 Statistics Package for the Social Science (SPSS, ver. 22.0 for window, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 실시하였고, Duncan's multiple range test를 통해 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다(MinAlexander et al. 2023).

III. 결과 및 고찰

1. 영양성분 비교

미강의 24, 36, 48시간 발효 시간 차이에 따른 영양성분과 식이섬유소량 분석 결과는 <Table 1>과 같다. 탄수화물과 조단백, 조지방 함량은 발효 시간 차이에 따라 서로 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 조회분의 양은 48시간 발효 시 가장 적은 양을 나타냈으며(p<0.05), 식이섬유소의 경우 48시간 발효 시 가장 높은 함량을 보였다. 식이섬유소는 24, 36, 48시간 발효 시간의 차이에도 유의적인 차이가 없었으며, 발효하지 않은 미강과는 유의적인 차이가 나타났다(p<0.05).

2. γ -Oryzanol 함량 비교

본 실험에서 발효한 미강의 감마 오리지놀 함량이 발효하지 않은 미강의 감마 오리지놀 함량(32.3 mg/100 g)보다 10 배 정도 높게 나타났으며(p<0.05), 24, 36, 48시간의 발효 시간 차이에는 감마 오리지놀 함량에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(p<0.05). Jung et al. (2017)과 Massarilo et al. (2017)의 연구에서도 미강을 발효시 발효하지 않은 미강의 감마 오리지놀보다 증가한다고 보고하였다.

감마 오리지놀(γ -oryzanol)은 미강이나 미강 기름으로부터 만들어지는 지방물이다(MinAlexander et al. 2023). 이는 지방산이나 오일에 대한 항암작용이 우수하여 과산화 지질의 생성을 억제시켜주며 자외선에 의한 홍반이나 염증 치유에 효과가 우수한 물질이다(Xu et al. 2001). 또한 혈관운동을 증가시키고 혈압 저하작용과 신장기능활성화 작용, 간 기능 증대작용, 비만 방지작용, 에너지대사 촉진작용 등이 보고되고 있다(Soi-Ampornkul et al. 2012; Jung et al. 2017). 특히 화장품에 만들었을 경우 과산화지질층을 파괴하는 강력한 효능으로 기미, 잡티 등이 제거되는 미백효과와 노화방지 효과를 동시에 느낄 수 있으며 건조하고 주름진 부위에 집중적으로 공급하므로 기능이 저하되어 가는 지방층에 활력을 주어 보습 작용, 촉촉한 피부로 바뀌게 된다(Li et al. 2023). 그 밖에 아토피성 피부염, 노인성 소양증에도 좋은 효과를 보여주고 있다(Saez-Lara & Gomez-Lorent 2015). 감마 오리지놀은 노인들의 치매예방을 위한 건강식품, 다이어

트 식품, 수험생의 기억력 향상, 불면증 완화 등의 효능을 지닌 건강보조식품으로 개발될 수 있으며, 피부연고제, 향암제, 미백화장품 등에도 활용이 가능하며, 염증치료제, 아토피성 피부치료제로 사용된다(Massarolo et al. 2017). 또한 민감한 피부를 가진 어린이를 위한 유아용 스킨케어, 숙취해소 음료 등에 활용 및 사용이 가능하다.

MinAlexander et al. (2023)의 연구에 의하면 감마 오리지놀(γ -Oryzanol)은 steryl과 ferulic acid의 triterpenyl ester 화합물로 강력한 항산화제이며, 산화적 스트레스로 인한 퇴행성 질환을 줄이는 데 효과적이고 하였으며, 뿐만 아니라 이는 혈장 콜레스테롤과 중성지방의 수준을 감소시키고 콜레스테롤의 생합성 감소를 통해 동맥 경화증을 예방하는 것으로도 알려져 있다(Massarolo et al. 2017).

3. GABA 함량 비교

발효한 미강의 GABA 함량 측정 결과는 <Table 2>와 같다. 발효하지 않은 미강에는 820.2 mg/100 g, 24시간 발효 미강에는 1,548.7 mg/100 g, 36시간 발효 미강 1,588.9 mg/100 g, 48시간 발효 미강은 1,864.2 mg/100 g으로 증가하였다(p<0.05).

감마아미노낙산(γ -aminobutyric acid, GABA)는 비단백계 구성 아미노산으로 뇌에서 억제성 신경전달물질(inhibitory neurotransmitter)로 알려져 있으며 녹차, 생강, 배추, 보리 등에 많은 양이 존재한다(MinAlexander et al. 2023). GABA는 혈중 콜레스테롤, 중성지방의 증가억제, 혈당 상승 억제, 항비만 작용, 알콜대사촉진 작용, 감정 및 불안 장애 해소, 뇌졸중 후유증 개선 작용, 성장호르몬 분비 촉진 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Choe et al. 2019; Ahn et al. 2021). GABA는 중추신경계의 신경전달물질로서 뇌의 혈류를 활발하게 하고 산소 공급량을 증가시켜 뇌세포의 대사기능을 촉진시키기도 하며 혈압강하와 알콜을 대사를 증진시킨다(Lee et al. 2018; Kwon et al. 2022).

발효 후 GABA 함량의 증가는 다양한 미생물에 의해 일어나며, GABA함량을 높이기 위해 최적의 고상 발효 조건을 락토바실러스 균주, 발효온도, 발효 조건을 변화시켜 조사한 결과 쌀 및 콩 발효 식품 등에서 분리한 다양한 유산균들이

<Table 1> General Nutritional composition and Dietary Fiber content (%) according to rice bran fermentation time

Composition	Control ³⁾	24 h	36 h	48 h
Carbohydrate ¹⁾	2)49.7±5.31 ^{ns4)}	49.1±9.76	49.7±5.19	49.5±2.17
Crude protein	13.3±3.06 ^{ns}	13.4±1.77	13.3±2.99	13.5±2.51
Crude Fat	20.8±5.12 ^{ns}	19.9±0.61	20.2±3.12	20.0±0.09
Crude Ash	7.9±1.49 ^{b3)}	9.7±0.38 ^a	7.9±1.49 ^b	6.6±0.09 ^b
Total Fiber	21.0±4.52 ^b	29.9±4.32 ^a	29.8±4.02 ^a	32.5±0.07 ^a

¹⁾Carbohydrate=100-(moisture+crude protein+crude fat+crude ash)

²⁾Mean±SD; ³⁾Values with different superscripts within the row are significantly different at a=0.05 by Duncan's multiple range test; ⁴⁾ns:not significant (p<0.05); ⁵⁾Control: not fermented rice bran

<Table 2> γ -Oryzanol, GABA and Total phenolic contents according to rice bran fermentation time

Fermented time (hour)	γ -Oryzanol (mg/100 g)	GABA (mg/100 g)	Total phenolic contents (mg GAE ⁴⁾ /g dw)
control	¹⁾ 32.3±9.61 ^b	820.2±92.01 ⁽²⁾	45.3±5.87 ^b
24	309.5±12.61 ^a	1548.7±119.02 ^b	51.9±3.14 ^b
36	310.1±36.30 ^a	1588.9±268.07 ^b	56.4±2.56 ^a
48	309.3±10.62 ^a	1864.2±100.01 ^a	61.2±1.64 ^a

¹⁾Mean±SD; ²⁾Values with different superscripts within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test; ³⁾n.s.:not significant ($p<0.05$); ⁴⁾GAE: Gallic acid equivalent

48시간, 발효온도는 36°C에서 GABA를 고농도로 생산하였다는 Kwon et al. (2022) 보고와 본 실험의 48시간에서 GABA함량이 가장 높게 나타난 것과 유사한 경향을 나타내어, 이는 유산균 발효에 의해 발효 미강의 GABA 함량이 증가한 것으로 사료된다.

4. 총 페놀 함량

발효한 미강의 총 페놀 함량은 <Table 2>에 나타내었다. 발효하지 않은 미강에는 45.3 mg GAE/g dw을 포함하고 있으며, 24, 36, 48시간 발효시킨 미강은 각각 51.9, 56.4, 61.2 mg GAE/g dw으로 발효 후 총 페놀 함량이 증가하였다($p<0.05$).

페놀성 물질은 phenolics hydroxyl그룹으로 단백질 또는 효소, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화효과, 2가 금속이온과의 결합하는 성질이 있다(Nisa et al. 2020). 페놀성 물질의 단백질과 결합하는 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항미생물 효과를 보여주고 항산화 작용에 의한 항암효과가 제안되고 있으며 Pb, Cd과 같은 유해 중금속을 제거시키는 효과를 기대할 수 있다(Acosta-Estrada et al. 2014). 그 외에도 어떤 페놀성 물질은 특정한 호르몬과 모세혈관의 유연성에 관여하는 등 다양한 약리효과가 제시되고 있다(Cocme et al. 2020). Nisa et al. (2020)의 연구에서는 *L. lactica*와 *L. plantarum*을 이용하여 총 페놀함량을 구했는데 미강의 발효 시간이 증가함에 따라 페놀 함량이 더 높게 나타났다. 특히 24, 36, 48시간의 발효 시 48시간 동안 발효하였을 때 총 페놀 함량이 가장 높게 나타났다. 이러한 이유는 발효하는 동안 미생물이 에스테르 연결을 파괴하고 결합되어 있는 페놀산을 방출하는 효소를 합성하며, 결과적으로, 곡물의 영양학적 가치를 향상시키고 유리 페놀산의 개선으로 생물학적 가용성을 증가시킬 수 있기 때문이라고 하였다(Acosta-Estrada et al. 2014). 식물에서 페놀 함량의 개선은 일반적으로 다른 효소들과 함께 β -글루코시데이스, α -아밀레이스 및 락테이즈와 같은 미생물에 의해 생성되는 효소의 작용과 관련이 있다.

본 실험의 결과, 미강의 총 페놀 함량은 발효 후 증가하였고, 이는 발효 과정 중 생성된 발효산물에 의해 총 페놀 함량이 증가하여 항산화 활성에 영향을 미친 것으로 판단된다.

5. DPPH 및 ABTS radical 소거능

<Table 3>은 발효 시간에 따른 항산화 활성을 비교한 결과이다. DPPH의 경우 발효하지 않은 미강은 항산화 활성이 82.2%, 24, 36, 48시간 발효 미강은 92.3, 94.8, 96.6%로 증가하였으며, 발효 후 항산화 활성이 17% 이상 증가하였다. 생체 내에서 스트레스에 의한 free radical 생성은 생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 산화시키고, 이로 인한 과산화 지질의 증가는 여러 조직을 손상시켜 대사 장애를 초래함으로써 생체기능의 저하나 노화를 비롯한 암 및 각종 퇴행성 질환들의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 사람을 비롯한 생물은 항산화 메커니즘을 가지고 있어 산화적 손상으로부터 스스로를 보호할 수 있으나 완전하지 못하여 항산화제의 보충이 필수적이다. 유산균 역시 활성산소의 피해로부터 스스로를 보호하기 위한 항산화 메커니즘을 가지고 있으며, 이들 유산균의 *in vivo* 및 *in vitro* 항산화 효과에 대하여 보고되기 시작하였다(Cho et al. 2013). Joo et al. (2006)은 열수추출물 항산화 활성 시험결과, 꿀풀 추출물 자체의 전자공여능은 낮았으나 꿀풀 추출물에 유산균을 첨가하여 실험한 결과에서는 높은 전자공여능을 나타내었다는 보고와 유사한 경향을 보였다. 발효 미강은 라디칼을 소거시키는 즉 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 증가하여 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 의한 노화를 억제하는 등 생리활성이 있고(Andriani et al. 2022), 또한 발효에 의해 천연물질이라는 점에서 기능성 식품으로서의 개발 가치가 높다고 판단된다. DPPH는 짙은 자주색을 나타내며 그 자체가 질소 중심의 라디칼로서 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질이며 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화 억제 작용을 척도로 이용되고 있다(Kim & Son 2012; Muniroh et al. 2019). DPPH는 517 nm의 파장에서 흡광도를 나타내며 산화억제제를 첨가하면 환원력으로 인해 흡광도가 감소한다(Kim & Son 2012). 발효 시간이 경과함에 따라 DPPH radical 소거능은 증가하였다($p<0.05$). 지금까지 알려진 항산화제가 약한 활성과 독성으로 인하여 사용에 문제점을 내포하고 있으나(Halliwell & Gutteridge 2015), 항산화 활성이 있는 유산균은 인간의 활성산소 축적 위험으로

<Table 3> Effects of DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity and total polyphenol contents of Samples

Fermented time (hour)	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	Superoxide Radical scavenging activity (%)	Hydroxyl Radical scavenging activity (%)
control ³⁾	¹⁾ 82.2±10.12 ^b	38.2±5.87 ^{c2)}	24.3±0.94 ^{c2)}	13.3±0.87 ^{c2)}
24	92.3±10.31 ^{ab}	69.8±3.14 ^{ab}	29.3±2.06 ^c	42.3±0.66 ^a
36	94.8±9.01 ^a	72.3±2.56 ^a	40.3±0.92 ^b	43.5±1.56 ^a
48	96.6±3.89 ^a	79.8±8.64 ^a	40.8±1.27 ^b	46.1±0.64 ^a
Vitamin C ⁴⁾	94.6±8.43 ^a	51.5±2.38 ^b	59.3±3.38 ^a	35.9±1.09 ^b

¹⁾Mean±SD; ²⁾Values with different superscripts within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Duncan's multiple range test ;

³⁾Control: not fermented rice bran ; ⁴⁾Vitamin C : 50 μ M

부터 보호해 줄 수 있을 것으로 여겨지며 또한 식품 및 의약품 분야에서 산업적 이용이 유효하다고 사료된다. ABTS radical 소거 활성은 ABTS와 potassium persulfate를 암소에서 반응하면 ABTS 양이온을 생성하고, 항산화 시료와 접촉하면 청록색이 투명하게 변한다(MinAlexander et al. 2023). ABTS는 지용성, 수용성 항산화 활성 물질을 모두 사용 가능한 항산화 측정 방법으로 잘 알려져 있다(Halliwell & Gutteridge 2015). 발효하지 않은 미강의 ABTS 소거능은 38.2%로 나타났으며, 24, 36, 48시간 발효한 미강의 ABTS 소거능은 각각, 69.8, 72.3, 79.8%로 증가하였다($p<0.05$). 발효 미강의 경우 ABTS 소거능이 표준물질로 사용된 비타민 C (51.5%)보다 다소 높은 경향을 보였으며, 이는 유산균 발효를 통해 radical 소거활성 물질이 다량 함유되어 있음을 알 수 있으며, 이런 항산화 특성을 지닌 식품은 질병 예방 또는 회복, 면역력 강화, 노화억제 등의 신체조절 기능을 갖는 기능성 식품으로 활용될 수 있는 것으로 알려져 있다(MinAlexander et al. 2023). 따라서 이러한 소거능을 갖는 발효 미강을 이용한 기능성 식품의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

6. Superoxide Radical 소거능

Superoxide radical 소거 실험 결과는 <Table 3>과 같다. 발효하지 않은 미강은 24.3%의 superoxide radical 소거 활성을 보였는데 발효한 미강의 경우 발효하지 않은 미강에 비해서 높은 소거 활성을 보이고 있다($p<0.05$). 활성산소는 세포내 효소나 대부분의 전자 전달과정을 통한 생물학적 반응에서 생성되며, 안정적이지 않아 강한 활성을 가지고 있다(Jun et al. 2014). 활성산소는 분자나 이온과 다르게 1개 이상의 짝 없는 전자를 갖는 화학물질로서 여러 가지 물질대사를 영위하는데 이용되지만 자외선, 생화학적 반응 등으로 O_2 , $\cdot O_2^-$, OH^- , hydrogen peroxide 등 free radical의 생산이 과잉되면 생체에 대하여 독성을 나타내어 여러 가지 질환의 발생기전에 관여한다고 한다(Halliwell & Gutteridge 2015). 본 연구 결과 발효 시간이 증가할수록 높은 소거능을 보였으며($p<0.05$), 이는 Hyon et al. (2009)이 보고한 발효에 의해 superoxide radical 소거 활성이 증가한다는 연구결

과와 유사하였다.

7. Hydroxyl Radical 소거능

Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중에서 화학적으로 가장 반응성이 크며 지질 산화를 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고, 생체의 대사 과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소가 Fe^{2+} 나 Cu^{2+} 이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 free radical이다(Halliwell & Gutteridge 2015). Hydroxyl radical 소거 실험 결과는 <Table 3>과 같다. 발효시간이 증가할수록 Hydroxyl radical 소거능이 증가하였으며, 표준물질 Vitamin C에 비하여 높은 항산화 능을 보였다. 특히 48시간의 발효를 거친 발효미강의 경우 표준물질 Vitamin C의 35.9%의 소거능에 비해서 46.1%의 강한 hydroxyl radical 소거 효과를 보였다(Chae et al. 2011).

IV. 요약 및 결론

본 연구는 쌀의 도정부산물인 미강을 24, 36, 48시간 발효 후 영양성분, 항산화활성, 기능성 성분에 대해서 조사하였다. 영양성분을 분석한 결과 탄수화물과 조단백, 조지방, 조회분 함량은 발효와 상관없이 서로 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 식이섬유의 양은 발효하지 않은 미강과 발효한 미강에서 유의적인 차이가 났으며 48시간 발효 후 식이섬유의 함량이 가장 높게 나타났다. γ -Oryzanol, GABA, 총 페놀 함량은 발효하지 않은 미강에 비해서 발효한 미강이 상당히 높게 나타났으며, GABA, 총 페놀 함량은 24, 36, 48시간 간에 유의적인 차이가 나타났으며, 48시간의 발효 후 가장 높게 나타났다. 항산화 측정을 위한 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, Superoxide Radical 소거능, Hydroxyl Radical 소거능은 발효 시간이 증가함에 따라 증가하였으며, 특히 표준물질인 비타민 C보다 ABTS 소거능과 Hydroxyl Radical 소거능은 더 높게 나타났음을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터 발효 미강을 기능성 식품 소재로서 개발하는데 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

저자정보

윤복근(주식회사 마이크로바이옴, 전문위원, 0009-0003-2511-192X)

손은심(주식회사 요헤벳, 대표, 0009-0007-2418-224X)

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

Acosta-Estrada BA, Gutierrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.*, 152(1):46-55

Ahn EK, Hyun UJ, Jung KH, Won YJ, Hong HC, Park HM, Chang JK, Lee JH, Lee JH, Sung NS. 2021. A Mid-Late Maturing, High Yielding, Giant Embryo Rice Cultivar with Resistance to Multiple Diseases and Used as Germinated Brown Rice. *Korean J. Breed. Sci.*, 53(4): 515-525

Andriani R, Subroto T, Ishmayana S, Kurnia D. 2022. Enhancement Methods of Antioxidant Capacity in Rice Bran: *Rev. Foods*, 11(19):2994-3018

AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA, pp. 878

Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nat.*, 181(4617):1199-1200

Chae GY, Kwon RH, Jang MW, Kim MJ, Ha BJ. 2011. Whitening and Antioxidative Effect of Rice Bran Fermented by *Bacillus subtilis*. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, 37(2):153-159

Cho ML, Yoon SJ, Kim YB. 2013. The nutritional composition and antioxidant activity from *Undariopsis peterseniana*. *Ocean Polar Res.*, 35(4):273-280

Choe JY, Lim JS, Lee SP. 2019. Increased production of GABA in non-alcoholic Makgeolli by optimization of lactic acid fermentation using *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Food Preserv.*, 26(2):157-164

Cocme P, Rodrigues B, Espino J, Garrido M. 2020. Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 9(12):1263-1282

Florence CRF, Pascale MG, Jacques JN. 1992. Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning. 2 Kinetic studies. *J. Agric. Food Chem.*, 40(11): 2108-2113

Halliwell B, Gutteridge JMC. 2015. Free radicals in biology and medicine (5th). *J. Free Radic. Biol. Med.*, 1(1):331-334

Hyon JS, Kang SM, Han SW, Kang MC, Oh MC, Oh CK, Kim DW, Jeon YJ, Kim SH. 2009. Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented citrus grandis osbeck peel. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 38(10): 1310-1316

Jolfaie NR, Rouhani MH, Surkan PJ, Siassi F, Azadbakht L. 2016. Rice Bran Oil Decreases Total and LDL Cholesterol in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. *Horm. Metab. Res.*, 48(7):417-426

Joo JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. 2006. Antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(1):7-14

Joseph G, Devi R, Marley EC, Leeman D. 2016. “Determination of biotin by liquid chromatography coupled with immuno affinity column cleanup extraction: Single laboratory validation”, *J. AOAC Int.*, 99(1):1110-1112

Jun DH, Cho WA, Lee JB, Jang MJ, You MS, Park JY. 2014. Antioxidant Activity of Chestnut (*Castanea crenata* S.et Z.) bur Fermented by *Lactobacillus casei*. *Korean J. Life Sci.*, 24(11):1193-1199

Jung TD, Shin GH, Kim JM, Choi SI, Lee JH, Lee SJ, Park SJ, Woo KS, Oh SK, Lee OH. 2017. Comparative Analysis of γ -Oryzanol, β -Glucan, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Fermented Rice Bran of Different Varieties. *Nutr.*, 9(6):571-582

Kim AJ, Son ES. 2012. Manufacturing and Evaluation of Inner Beauty Food (Mosidae Yanggaeng) Using *Adenophora Remotiflora* Powder. *Asian J. Beauty Cosmetol.*, 10(3): 717-724

Kim BK, Ha JY, Lee JK, Oh DY, Jung DJ. 2016. Effect of Herbal Probiotic Supplementation on Weight, Blood Composition, Meat Quality and Immunity in Beef. *Korean Soc. Food Nutr.*, 29(6):860-869

Kim DK, Lee SH, Choi YM, Kim YH. 2021. Changes in Content of Functional Components and Antioxidant Activity in Cooked Rice and Porridge of Selected Grains. *Korean J. Food Cult.*, 36(2):226-234

Kim HY, Kim JH, Yang SB, Hong SG, Lee SA, Hwang SJ, Shin KS, Suh HJ, Park MH. 2007. A polysaccharide extracted from rice bran fermented with *Lentinus edodes* enhances natural killer cell activity and exhibits anticancer effects. *J. Med. Food*, 10(1):25-31

Kim JM, Gu YR, Park BY, Hong JH, Youn KS. 2019. Variation in the quality characteristics of different rice bran cultivar extracts upon hexane or supercritical fluid extraction. *Korean J. Food Preserv.*, 26(6):673-680

Kim JW, Hong JH. 2023. Physicochemical properties and physiological activities of acai berry extract fermented by lactic acid bacteria. *Korean J. Food Preserv.*, 27(3):363-373

Kim YS, Suh HJ, Park S. 2015. Antioxidant activity of hot-water extracts and floral waters from natural plant pigments. *Korean J. Food Preserv.*, 22(1):129-133

Ko KH, Liu W, Lee HH, Yin J, Kim IC. 2013. Biological and Functional Characteristics of Lactic Acid Bacteria in Different Kimchi. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 42(1):

89-95

- Kwon HY, Choi JS, Kim SJ, Kim EM, Uhm JH, Kim BK, Lee JY, Kim YD, Hwang KT. 2022. Optimization of Solid-Phase Lactobacillus Fermentation Conditions to Increase γ -Aminobutyric Acid (GABA) Content in Selected Substrates. *Fermentation*, 9(1):22-36
- Kwon KS, Hwang WS, Lee KH, Kim KJ, Lee WY. 2023. Protection of Allergic Asthma in Mice by Black Rice Bran Bioprocessed with Shiitake Mushroom Mycelia. *Food Nutr.*, 14(4):341-368
- Lee MJ, Kim SH, Kim HS, Kim HY, Seo WD, Choi SW, Lee KS, Jang KC. 2018. Production of γ -aminobutyric Acid Using the Korean Hull-less Barley Bran with Glutamate. *Korean J. Crop Sci.*, 63(1):35-40
- Li JJ, Kim KH, Yook HS. 2023. Evaluation of the Fermented Products of Fructus Ligustri Lucidi for Use as Raw Materials in Functional Health Foods and Cosmetics. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 52(7):691-700
- Lilitchan S, Tangprawat C, Aryusuk K, Krisnangkura S, Chokmoh S, Krisnangkura K. 2008. Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ -oryzanol contents in rice bran. *Food Chem.*, 106(2):752-759
- Massarolo KC, Souza TD, Collazzo CC, Furlong EB, Souza Soares LA. 2017. The impact of *Rhizopus oryzae* cultivation on rice bran: Gamma-Oryzanol recovery and its antioxidant properties. *Food Chem.*, 228(1):43-49
- MinAlexander MJ, Nam KB, Lim SH, Son ES. 2023. Exploration of Nutritional Components, Functional Components and Antioxidant Activities of Brewer's Spent Grain Powder, Red Ginseng By-Products and Rice Bran Powder. *J. Korea Acad.-Ind. Cooperation Soc.*, 24(2):208-219
- Muniroh A, Budijanto1 S, Priosoeryanto BP. 2019. Antioxidant activity and phytochemical analysis from black rice bran. *Earth Environ. Sci.*, 335(1):1-6
- Nemoto H, Otake M, Matsumoto T, Izutsu R. 2022. Prevention of tumor progression in inflammation-related carcinogenesis by anti-inflammatory and anti-mutagenic effects brought about by ingesting fermented brown rice and rice bran with *Aspergillus oryzae* (FBRA). *J. Funct. Foods*, 88(0): 104907-104915
- Nisa K, Handayani S, Rosyida VT, Nurhayati S. 2021. Physicochemical properties of fermented rice bran in optimal lactic acid bacteria growth. *Mater. Sci. Eng.*, 980(1):12043-12048
- Nisa K, Rosyida VT, Nurhayati S, Indrianingsih AW, Darsih C, Apriyana W. 2020. Total phenolic contents and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. *Earth Environ. Sci.*, 251(1):1-8
- Park KY. 2012. Increased health functionality of fermented foods. *Food Ind. Nutr.*, 17(1):1-8
- Park SH, Chang HC, Lee JJ. 2021a. Rice bran fermented with kimchi-derived lactic acid bacteria prevents metabolic complications in mice on a high-fat and-cholesterol diet. *Foods*, 10(7):1501-1520
- Park YJ, Park SB, Lee JJ. 2021b. Antioxidant Activity and Quality Characteristics of Rice Cookies Added with *Hericium erinaceus* Powder. *Korean J. Community Living Sci.*, 32(2):215-230
- Pérez-Rivero C, López-Gómez JP. 2023. Unlocking the Potential of Fermentation in Cosmetics: A Review. *Ferment.*, 9(5): 463-496
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 26(9):1231-1237
- Saez-Lara MJ, Gomez-Lorent C. 2015. The Role of Probiotic Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases: A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials. *BioMed Res. Int.*, 2015(1):1-15
- Shibayama J, Goto M, Kuda T, Fukunaga M, Takahashi H, Kimura B. 2019. Effect of rice bran fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* on gut microbiome of mice fed high-sucrose diet. *Benef. Microbes*, 10(7):811-821
- Soi-Ampornkul R, Junnu S, Kanyok S, Liammongkolkul S, Katanyoo W. 2012. Antioxidative and neuroprotective activities of the pre-germinated brown rice extract. *Food Nutr. Sci.*, 53(1):20-25
- Son JH, Ha BJ. 2013. Antioxidative and Antiaging Effects of Fermented Soybean, Rice Bran, and Red Ginseng by Mixed Ratios. *Korean Soc. Food Hyg. Saf.*, 28(4):354-359
- Suwannapan O, Wachirattanapongmetee K, Thawornchinsombut S, Katekaew S. 2019. Angiotensin-I-converting enzyme (A, CE)-inhibitory peptides from Thai jasmine rice bran protein hydrolysates. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 556(3): 2441-2450
- Talib WH, Mahmod AI, Hamed RA, Al-Yasari IH. 2022. Immunomodulatory, Anticancer, and Antimicrobial Effects of Rice Bran Grown in Iraq: An In Vitro and In Vivo Study. *Pharm.*, 15(12):1502-1512
- Wanyo P, Kaewseejan N, Meeso N, Siriamornpun S. 2016. Bioactive compounds and antioxidant properties of different solvent extracts derived from Thai rice by-products. *Appl. Biol. Chem.*, 59(4):373-384
- Xu Z, Hua N, Godber JS. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *J. Agric. Food Chem.*, 49(4):2077-2081
- Yao W, Gong Y, Li L, Hu X, You L. 2022. The effects of dietary fibers from rice bran and wheat bran on gut microbiota: An overview. *Food Chem.*, 13(30):10252-10260
- Yoon JA, Shin KO. 2017. Studies on the Function of Lactic Acid

- Bacteria and Related Yeasts in Probiotics: A Review. Korean Soc. Food Nutr., 30(3):395-404
- Yuhasliza N, Lelamurni D, Jamaluddin A, Sharifuddin SA. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. Malays. J. Microbiol., 11(2):156-162
- Zhang D, Bown AW. 1997. The rapid determination of γ -aminobutyric acid. Phytochem., 44(6):1007-1009
-
- Received November 7, 2023; revised December 26, 2023; accepted December 27, 2023