

## 흑미 색소물질에 함유된 페놀화합물의 항산화 특성

- 연구노트 -

정영아 · 이재권<sup>†</sup>

경기대학교 식품생물공학과

### Antioxidative Properties of Phenolic Compounds Extracted from Black Rice

Young-A Chung and Jae-Kwon Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

#### Abstract

The composition and antioxidative effects of phenolic compounds in black rice were studied. The contents of free and bound phenolic compounds extracted from black rice were 845.4 and 401.6 mg respectively per 100 g sample weight. Free phenolic compounds had higher antioxidation ability than those of bound phenolic compounds. Solvent fractionation of free phenolic compounds revealed that butanol fraction had the highest phenolic compounds contents and antioxidative activity among other solvent fractions. Although butanol fraction showed lower lipid peroxidation inhibition (LPI) ability than that of  $\alpha$ -tocopherol and BHT, free radical scavenging ability was much higher than that of  $\alpha$ -tocopherol and BHT, as evidenced by electron donating ability (EDA) and benzoic acid hydroxylation inhibition (BAHI) assays.

**Key words:** black rice, antioxidative activity, phenolic compound

#### 서 론

유색미의 일종인 흑미는 특유의 색과 향으로 인하여 다양한 형태의 식품으로 가공되며 그 소비가 점차 증가하고 있다. 흑미의 향은 ethanediol, guaiacol과 같은 alcohol성분과 hexadecanoic acid, hexanal, acetic acid와 같은 ketone, aldehyde 및 유기산에 기인하며(1), 색소성분은 cyanidin-3-glucoside와 malvidin-3-glucoside와 같은 배당체가 주된 성분이라고 보고되고 있다(2,3). 특히 흑미의 색소성분은 다양한 구조와 분자량의 폴리페놀화합물을 함유하고 있으며, 이러한 폴리페놀화합물은 항산화성, 항균성, 항암성 등의 생리활성을 갖는 것으로 확인되고 있다. 식물계의 폴리페놀화합물은 곡류 뿐만 아니라 과일, 야채와 같은 모든 식물계에 2차 대사산물로서 널리 존재하며 최근에는 다양한 식물을 대상으로 폴리페놀화합물의 항산화 활성과 항산화 기능성 소재로서의 활용에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(4-8).

식물계의 페놀화합물은 benzoic acid와 cinnamic acid의 유도체인 페놀산, flavonoid 및 탄닌의 형태로 분류되며, 이러한 페놀화합물의 항산화 활성은 구조에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다(9,10). 예로서, 탄닌의 경우 monomer보다는 중합도가 큰 형태에서 항산화 활성이 더 높았으며(11), 유사한 분자량의 페놀화합물에서는 분자내 수산기의 수와

위치에 따라 항산화 효과가 영향을 받는 것으로 보고되고 있으며(11), 이는 페놀화합물의 구조에 따라 radical 소거반응 시 전자의 이동이 영향을 받기 때문인 것으로 알려져 있다(4).

흑미는 그 색소성분으로 인하여 다른 곡류에 비하여 페놀화합물의 함량이 매우 높으며 항산화 기능성 소재물질로서의 활용이 예상되나 이와 관련된 흑미 페놀화합물의 구조특성과 항산화 효과에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서, 본 실험에서는 흑미의 색소성분에 존재하는 항산화 활성이 우수한 페놀화합물의 분리 및 구조 동정을 위한 기초자료로서 색소성분을 계통분류하고 각 분획별 페놀화합물의 함량과 항산화효과에 대하여 검토하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료

흑미(*Oryza sativa* var.)는 2001년에 수확된 조생종(수원 415)으로 농촌진흥청으로부터 제공받아 사용하였다. 흑미는 탈겨 처리 후 Udy cyclone mill(Cyclotec 1093 sample mill, Foss, Sweden)로 분쇄하여 1×1 mm 체로 거른 것을 petroleum ether로 10시간 탈지 후 50°C에서 건조하여 사용하였다.

##### 페놀화합물의 추출 및 계통분류

흑미의 페놀화합물은 유리형(free form)과 결합형(bound

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: jglee@kyonggi.ac.kr  
Phone: 82-31-249-9654. Fax: 82-31-249-9650

form) 페놀화합물의 형태로 분리하여 추출하였다(12). 유리형 페놀화합물은 시료 5 g에 methanol(95%, v/v) 200 mL을 가하여 상온에서 1시간 동안 진탕한 다음, 원심분리하여 상등액을 취하는 과정을 3회 반복하고 40°C에서 감압 농축하여 시료로 하였다. 결합형은 유리형 페놀화합물의 추출 후 잔료에 2 N HCl 200 mL을 가하여 100°C에서 1시간 동안 가수분해한 후, 상등액을 ethyl acetate로 추출하는 과정을 2회 반복한 것을 감압 농축하여 시료로 하였다.

추출한 유리형과 결합형 페놀화합물은 10% methanol에 용해시킨 후 diethyl ether, ethyl acetate, butanol 및 물의 순서로 계통 분획하였으며, 각 분획본은 감압 농축 후 methanol에 재용해하여 실험에 사용하였다.

**페놀화합물의 정량**

총 페놀화합물의 함량은 Folin-Ciocalteu 용액을 사용하여 구하였으며(13), 탄닌 함량은 시료 0.5 mL에 0.1 M FeCl<sub>3</sub>/0.1 N HCl용액 3 mL와 0.008 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>용액 3 mL를 가하여 10분간 반응 후, 720 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다(14). Flavanol 함량은 Troitin 등(15)의 방법에 따라 측정하였으며, flavonoid 함량은 시료에 2% AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O(w/v)용액을 첨가하여 10분간 반응시킨 후 430 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다(15).

**항산화력 측정**

전자공여능(electron donating ability, EDA)에 의한 항산화력은 α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH)의 유리 radical을 소거하는 능력을 측정하는 Seo 등(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 과산화물 생성 저해능(lipid peroxidation inhibition, LPI)은 시료 0.12 mL에 2.5% linoleic acid 2.88 mL와 40 mM phosphate buffer(pH 7.0)용액 9 mL을 혼합한 후, 37°C에서 incubation하여 과산화물 형성을 유도하는 Chung 등(17)의 방법으로 측정하였다. Hydroxyl radical 저해능(benzoic acid hydroxylation inhibition, BAH)은 hydroxy radical에 의해 sodium benzoic acid가 수산화되는 것을 저해하는 효과로서 구하였다. 즉, 시료 0.2 mL에 10 mM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/10 mM EDTA용액 0.2 mL와 10 mM sodium benzoic acid 0.2 mL를 혼합한 다음, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)용액 1.2 mL와 10 mM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 0.2 mL를 가하여 반응시킨 후 305 nm 들뜸파장과 405 nm의 형광파장에서 형광도를 측정하여 구하였다(17).

**결과 및 고찰**

**페놀화합물의 함량과 항산화성**

흑미의 유리형과 결합형 페놀화합물의 함량은 시료 100 g당 각각 845.4 및 401.6 mg으로 유리형이 결합형보다 2배 이상 높았으며(Table 1), 이러한 결과로 흑미의 페놀화합물은 배유부분이나 세포벽에 결합된 형태보다 외피, 과피 및

**Table 1. Contents of phenolic compounds and antioxidant capacity of free and bound phenolic form in black rice (µg/mg)**

	Free form <sup>1)</sup>	Bound form
Total phenol	845.4±5.8	401.6± 0.9
Tannin	495.0±6.9	230.1±14.3
Flavonoid	116.1±1.5	26.5± 1.5
Flavanol	99.8±2.3	11.7± 0.0
EDA <sup>2)</sup> (%)	13.9±1.2	5.2± 0.2

<sup>1)</sup>Values are means±standard deviation and measured at the concentration of 1 mg/mL sample.

<sup>2)</sup>Electron donating ability per 1 mg of sample.

호분층에 유리형의 형태로 대부분 존재하는 것으로 예상된다. 또한 유리형과 결합형 페놀화합물 모두에서 tannin의 함량이 총 페놀화합물의 50% 이상인 반면, 분자량이 큰 flavanol 및 flavonoid의 함량은 비교적 낮은 것으로 조사되었다(Table 1). 이와 같은 사실로 흑미에 함유된 tannin성분은 flavan-3-ols의 중합체 형태인 condensed tannin(9)보다는 당과 페놀산이 에스터 결합을 통하여 구성된 가수분해성 tannin인 것으로 사료된다.

흑미의 유리형과 결합형 페놀화합물의 항산화력을 전자공여능(EDA)으로 측정한 결과, 유리형 페놀화합물이 결합형보다 3배정도의 높은 항산화력을 나타내었으며(Table 1), 이러한 유리형 페놀화합물의 높은 항산화력은 페놀화합물의 함량과 항산화력의 상관관계를 고려할 때(5,18), 페놀화합물의 함량 뿐만 아니라 유리형에 존재하는 페놀성분물질에 의해 기인하는 것으로 사료된다. 따라서 페놀화합물의 계통분획 및 항산화 특성에 대한 이후 실험은 항산화력이 높은 유리형 페놀화합물을 대상으로 하여 진행하였다.

**페놀화합물의 계통분획 및 항산화성**

유리형 페놀화합물을 계통 분획하여, 이들 분획의 페놀화합물의 함량과 항산화력을 측정한 결과, 페놀화합물의 함량은 butanol 분획에서 0.6 mg/mg solid로서 가장 높았으며, 물, diethyl ether, ethyl acetate의 순으로 페놀화합물이 분포하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 전자공여능으로 측정한 항산화활성 또한 butanol 분획에서 가장 큰 것으로 조사되어(Fig. 1), 항산화활성이 페놀함량과 상관관계가 있는 것으로 사료되나, 다른 분획의 경우 이러한 상관성은 명확하지 않았다. Butanol 분획의 항산화활성은 대조군의 BHT보다는 다소 낮은 전자공여능을 나타내었으나 α-tocopherol보다는 2배 이상의 높은 전자공여능을 갖는 것으로 조사되어(Fig. 1), 천연 항산화 소재로서의 가능성이 예상되었다.

Butanol 분획의 항산화 기작을 조사하기 위하여 EDA, LPI, 및 BAH의 방법으로 항산화활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Butanol 분획의 항산화활성은 대조군으로 사용한 BHT와 α-tocopherol의 항산화활성과 비교할 때 측정방법에 따라 상이한 결과가 관찰되었다. Butanol 분획의 hydroxy 라디칼 소거능력은 대조군보다 우수하였으나, linoleic acid를 기

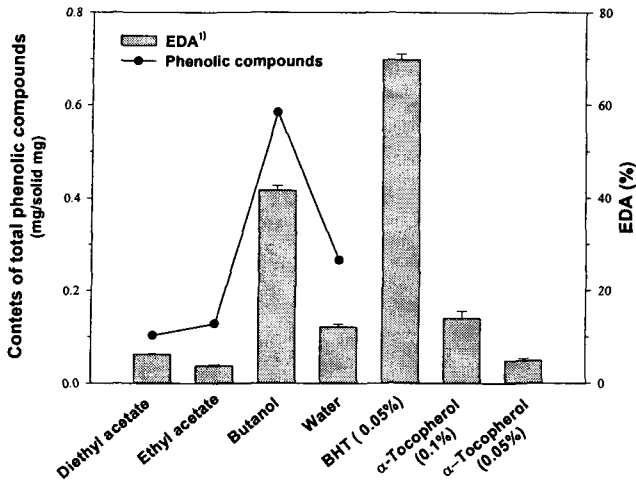


Fig. 1. Electron donating ability of solvent fractions extracted from free phenolic compounds.  
<sup>1)</sup>EDA: Electron donating ability.

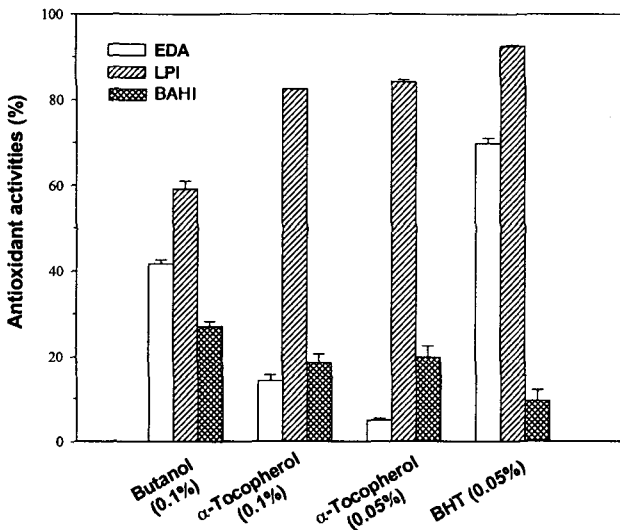


Fig. 2. Comparative antioxidant activities of butanol fraction extracted from free phenolic compounds.  
 EDA: Electron donating ability. LPI: Lipid peroxidation inhibition. BAHI: Benzoic acid hydroxylation inhibition.

질로 한 과산화물 생성억제능은 낮은 것으로 조사되었다. 또한 DPPH 라디칼 소거능의 경우, butanol 분획은 α-tocopherol보다 2배 이상 높았으나 BHT보다 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과로서 butanol 분획 중 흑미 페놀화합물의 항산화 기작은 라디칼 소거작용에 기인하는 것이며 산화의 중간 단계의 과산화물 생성억제력은 낮은 것으로 사료된다. 특히 활성산소종 중에서 가장 반응성이 크며 생체내의 산화 원인이 되는 hydroxy 라디칼의 소거능은 기존의 항산화제보다 월등히 우수하여 생체 산화와 관련된 질병 및 노화의 예방과 억제효과가 있을 것으로 사료된다.

요 약

흑미(수원 415호)의 페놀화합물을 유리형과 결합형으로

분리하여 추출한 결과, 시료 100 g당 각각 845.4 및 401.6 mg 으로서 유리형 페놀화합물이 결합형보다 2배 이상 함량이 높았으며 항산화활성도 우수하였다. 유리형 페놀화합물을 용매 분획하여 각 분획의 페놀화합물 함량과 항산화활성을 측정된 결과, butanol 분획에서 가장 높은 페놀화합물 함량과 항산화활성이 관찰되었다. EDA, LPI 및 BAHI방법으로 butanol 분획의 항산화활성을 측정된 결과, butanol 분획의 hydroxy 라디칼 소거능력은 대조군으로 사용한 BHT와 α-tocopherol보다는 우수하였으나, linoleic acid를 기질로 한 과산화물 생성억제능은 낮은 것으로 조사되었다. 또한 DPPH 라디칼 소거능의 경우, butanol 분획은 α-tocopherol보다는 2배 이상 높았으나 BHT보다는 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 따라서 흑미 페놀화합물의 항산화기작은 라디칼 소거 작용에 기인하는 것이며 산화의 중간 단계의 과산화물 생성 억제력은 낮은 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 경기대학교 학술연구비 지원으로 이뤄졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Rhee CO, Song SJ, Lee YS. 2000. Volatile flavor components in cooking black rice. *Korea J Food Sci Technol* 32: 1015-1021.
- Hahn TR, Yoon HH, Paik YS, Kim JB. 1995. Identification of anthocyanidins from Korea pigmented rice. *Agric Chem Biotechnol* 38: 581-583.
- Yoon HY, Yoon JM, Cho MH, Hahn TR, Paik YS. 1997. Physicochemical stability of anthocyanins from Korean pigmented rice. *Korea J Food Sci Technol* 29: 211-217.
- Kim ES, Kim MK. 1999. Effect of dried leaf powder and ethanol extracts of persimmon, green tea and pine needle on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *The Korean Nutrition Society* 32: 337-352.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomh BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J Agric Food Chem* 46: 4113-4117.
- Koh KH, Lee JH, Yoon KR, Seo KL. 1998. Phenolic compounds of Korea red wine and their superoxide radical scavenging activity. *Food Sci Biotechnol* 7: 131-136.
- Eleftherios PD, George JS, Linda GP, David J, David MG. 2002. A comparison of the anticarcinogenic properties of for red wine polyphenols. *Clinical Biochemistry* 35: 119-124.
- Chou CC, Lin LL, Chung KT. 1999. Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season. *International Journal of Food Microbiology* 48: 125-130.
- Hahn DH, Rooney LW, Earp CF. 1984. Tannin and phenols of sorghum. *Cereal Food World* 28: 776-779.
- Nunez MJ, Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez M, Sineirio J, Dominguez H, Parajo JC. 2001. Natural antioxidants from residual source. *Food Chem* 72: 145-171.
- Yang X, Chen L, Park J, Shen S, Wang Y. 2001. Mechanism of scavenging reactive oxygen species of tea catechins. The 6th International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea.

- p 111-120.
12. Richard H, Bocco A, Berset C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *J Agric Food Chem* 46: 2123-2129.
  13. Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.
  14. Butler LG. 1982. Relative degree of polymerization of sorghum tannin during seed development and maturation. *J Agric Food Chem* 30: 1090-1094.
  15. Trotin F, Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Bailleul F. 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J Ethnopharmacology* 72: 35-42.
  16. Seo KI, Oh IS, Oh DH, Choi SH, Shon MY, Moon JS. 2000. Quality characteristic and functional properties of ethanol extracts of propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 969-972.
  17. Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci Biotech Biochem* 61: 118-123.
  18. Poter LJ. 1989. Methods in plant biochemistry. In *Tannins*. Dey PM, Harbone JB, eds. Academic press, London. p 389-419.

(2003년 5월 3일 접수; 2003년 8월 9일 채택)