

유색미 품종별 항산화, 항염 및 항당뇨 효과 비교

정지은¹ · 김지수¹ · 이성현^{2*} · 정운율¹ · 박신영³ · 장환희¹ · 이보희² · 함준상⁴ · 이종희⁵ · 정수현⁶

¹국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 연구원, ²국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 농업연구관, ³국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 농업연구사, ⁴국립축산과학원 축산생명환경부 축산물이용과 농업연구관, ⁵국립식량과학원 남부작물부 논이용작물과 농업연구관, ⁶한국농업기술진흥원 농업환경분석본부 농생명분석팀 연구원

Comparison of the Antioxidant, Anti-inflammatory, and Anti-diabetic Effects of Colored Rice Cultivars (*Oryza sativa* L.)

Jieun Jung¹, Ji Su Kim¹, Sung Hyen Lee^{2*}, Un Yul Jeong¹, Shin-Young Park³, Hwan-Hee Jang¹, Bo-Hee Lee², Jun-Sang Ham⁴, Jong-Hee Lee⁵ and Su-Hyeon Jeong⁶

¹Researcher, Functional Food Division, Department of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

²Senior Scientist, Functional Food Division, Department of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

³Researcher, Fermented and Preprocessed Food Science Division, Department of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

⁴Senior Scientist, Animal Products Research and Development Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea

⁵Senior Scientist, Paddy Crop Research Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Milyang 50424, Republic of Korea

⁶Researcher, Agro-bioproduct Analysis Team, Agro-environmental Analysis Department, Korea Agriculture Technology Promotion Agency, Iksan 54667, Republic of Korea

ABSTRACT

This study evaluated the antioxidant, anti-inflammatory, and anti-diabetic activities of normal (Saeilmi) and colored rice cultivars (Boseogheugchal, Hongjinju, Heugjinmi-crossbreed of Boseogheugchal and Hongjinju). Nutritional and functional components of four rice cultivars were analyzed. Extracts were prepared using 50% ethanol and then freeze-dried for functional analyses. Antioxidant effects were determined by evaluating total polyphenolic contents and DPPH- and ABTS radical scavenging activities. Anti-inflammatory activities were assessed by measuring the concentration of nitric oxide (NO) produced by RAW 264.7 cells, and anti-diabetic activities were investigated by determining α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities. Crude protein, Ca, anthocyanin, total flavonoid, and total polyphenolic contents were higher in colored rice cultivars than in normal rice, and 'Heugjinmi' had the highest values among the colored varieties. Colored rice cultivars exhibited better DPPH- and ABTS radical scavenging activities than normal rice. All rice extracts were nontoxic and dose-dependently inhibited NO production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. 'Boseogheugchal' and 'Heugjinmi' cultivars showed more inhibitory activity against α -amylase. In addition, colored rice varieties more effectively inhibited α -glucosidase activity than normal rice. Consequently, our results suggest that colored rice, especially the 'Heugjinmi' cultivar, could be used for health foods due to their higher phytochemical concentrations and functional activities.

Key words: normal rice, colored rice, extract, functionality

서론

몸에 좋은 먹거리에 국민들의 관심이 많아지고 쌀 소비시장의 안정적 확보에 대한 농민들의 요구가 증가함에 따라 건

강 기능성 유색미가 그 대안으로 대두되었다(Bae HK 등 2017). 유색미는 품종에 따라 과피의 색이 다르며 담적색, 농적색, 농자갈색, 흑색 등 다양한 천연색소를 함유하고 있다(Kim HW 등 2013; Oh YG 등 2023). 다양한 색의 유색미 중 흑미와 적미가 가장 일반적으로 소비되는 유색미이다(Song S 등 2022).

유색미는 일반미 품종보다 단백질, 비타민, 미네랄 등 영

* Corresponding author : Sung Hyen Lee, Tel: +82-63-238-3681, E-mail: lshin@korea.kr

양적 가치가 높은 편이며(Park JY 등 2016), 과피에 안토시아닌, 탄닌과 같은 다양한 천연색소를 함유한다(Kim MY 등 2020). 유색미 중에서 흑미는 페놀화합물을 비롯하여 peonidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-O-glucoside 종류의 안토시아닌과 같은 플라보노이드의 기능성분을 함유하고, 적미는 탄닌계 색소뿐만 아니라 카테킨 및 카테콜 등의 다양한 기능성분을 함유하고 있다(Kim MY 등 2020). 유색미는 항산화 활성 및 지방축적 억제, 항노화 및 항암 효과, 면역활성 등 다양한 생리활성이 보고되었다(Choi EY & Lee JT 2018; Kim MY 등 2020; Park YM 등 2020).

본 연구의 시료로 사용된 유색미는 보석흑찰과 홍진주, 흑진미 등 3가지 품종이다. 보석흑찰(수원512호)은 영색이 진한 암갈색이고 종피색은 흑자색을 띠며 안토시아닌 함량이 풍부하다(Lee JH 등 2011). 적갈색 홍진주(수원501호)는 카테킨 등의 화합물로 구성된 페놀릭산과 플라보노이드의 함량이 높게 함유되어 있고(Yang CI 등 2011), 흑진미(밀양290호)는 보석흑찰과 홍진주의 교배로 육성되었으며 안토시아닌과 폴리페놀 함량이 높은 편이다(National Institute of Crop Science 2023).

현재까지 유색미의 영양성분과 기능성분에 대한 연구는 있었지만, 유색미 품종별 기능성분과 생리활성을 비교한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 일반미인 새일미와 유색미인 보석흑찰, 홍진주, 흑진미의 영양 및 기능성분을 분석하고, 추출물의 총 폴리페놀 함량, 항산화 활성, nitric oxide(NO) 생성 및 당화효소 억제 효과를 측정하였으며 품종에 의한 차이를 비교하였다. 국내 육성 유색미의 기능성분과 항산화, 항염 및 항당뇨 관련 정보는 앞으로 소비자 맞춤형 기능성식품 개발을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

재료 및 방법

1. 시료의 특성

본 연구에서는 2022년도에 수확한 일반미(새일미)와 유색미(보석흑찰, 홍진주, 흑진미)를 국립식량과학원에서 현미로 분양받아 실험에 사용하였다.

2. 영양 및 기능성 성분 분석

식품공전과 건강기능식품공전에서 고시한 시험법에 따라 한국농업기술진흥원에서 일반성분으로 조회분, 조단백질, 조지방, 총 식이섬유 및 8종의 무기질 함량, 기능성분인 안토시아닌과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다(Ministry of Food and Drug Safety 2021a, 2021b).

3. 추출물 제조

시료는 분쇄(FM909T, Hanil, Wonju, Korea)한 후에 50% 발효주정으로 2회 추출, 감압농축(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan) 및 동결건조(IlshinBio-Base, Dongducheon, Korea)하여 사용하였다. 시료의 증거 표본은 국립농업과학원 농식품 자원부에 보관(RDA-22-SI, RDA-22-BS, RDA-22-JJ, RDA-22-JM)하였다.

4. 총 폴리페놀 함량 분석

추출물 20 μ L를 96 well plate에 넣고 증류수 80 μ L를 가한 후, 40 μ L의 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 3분간 실온에서 반응시켰다. 10% Na_2CO_3 용액을 60 μ L 첨가하고 실온에서 2시간 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 표준 곡선을 구해 정량하였고, 총 폴리페놀 함량은 mg GAE/g로 제시하였다(Kim JH 등 2022).

5. DPPH 라디칼 소거능 평가

추출물 50 μ L에 0.2 mM 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl(DPPH, Sigma-Aldrich Co.) 용액 200 μ L를 넣고 혼합한 뒤 상온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Kim JH 등 2022).

6. ABTS 라디칼 소거능 평가

7.4 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTS, Sigma-Aldrich Co.)와 2.6 mM potassium persulfate를 1:1로 혼합하고 24시간 실온 보관하여 라디칼을 형성한 후, 실험 직전 용액을 760 nm에서 흡광도가 0.70~0.75가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석된 용액 200 μ L에 추출물 50 μ L를 96 well plate에 넣고 암소에서 10분간 반응시켰고 760 nm에서 흡광도를 측정하였다(Kim JH 등 2022).

7. 세포 생존율 측정

본 연구에 사용된 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 구입하였고, 세포는 10% heat inactivated fetal bovine serum(FBS, Gibco, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)과 1% penicillin-streptomycin solution(GenDEPOT, Katy, TX, USA)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Gibco)을 사용하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 생존율 측정을 위해, RAW 264.7 세포를 2×10^5 cells/mL 농도로 96 well plate에 100 μ L씩 분주하여 37°C, 5% CO_2 incubator

에서 4시간 배양하였으며, lipopolysaccharide(LPS, 최종 1 µg/mL)를 50 µL씩 넣고 같은 조건의 incubator에서 2시간 배양하였다. 추출물은 phosphate buffered saline(Caisson Labs, Inc., Smithfield, UT, USA)을 이용하여 10 mg/mL 농도로 제조하고, 0.2 µm 필터(Syringe filter, PVDF filter media, Whatman, Cytiva, Utah, USA)로 여과시켜 사용하였다. 추출물은 최종 농도가 125, 250, 500 µg/mL가 되도록 50 µL를 세포에 처리하였고, 24시간 배양한 세포 현탁액 100 µL에 Quanti-Max™(WST-8 cell viability assay kit, BIOMAX, Guri, Korea) 10 µL를 분주한 후, 같은 조건에서 1시간 동안 배양하여 세포 생존율을 측정하였다. Microplate reader(molecular devices, San Jose, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였고 배지만 처리한 대조군과 추출물 처리군의 비율을 계산하여 시료에서의 세포 생존율을 제시하였다(Kim JH 등 2022).

8. Nitric Oxide(NO) 함량

RAW 264.7 세포에서 생성되는 NO의 함량은 Griess Reagent System(Promega Co., Madison, WI, USA)을 이용하여 측정하였다. 세포를 2×10^5 cells/mL 농도로 96 well plate에 100 µL씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 4시간 배양하고 LPS(최종 1 µL/mL)를 50 µL씩 분주하였으며 2시간 추가로 배양하였다. 세포에 추출물의 최종 농도가 125, 250, 500 µg/mL가 되도록 50 µL씩 분주하고 같은 조건의 incubator에서 24시간 배양하였다. 세포를 배양한 상등액 100 µL와 sulfanilamide solution 100 µL를 상온에서 10분간 반응시킨 후 N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride solution 100 µL를 가하고 상온에서 10분 동안 반응시켰다. Microplate reader(molecular devices)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, nitrite standard(Promega Co.)로 작성한 표준 곡선을 이용하여 NO 함량을 산출하였다(Kim JH 등 2022).

9. α-Amylase 효소 억제 활성 측정

일반미 및 유색미 추출물의 α-amylase 활성 저해 효과는 α-amylase inhibitor screening kit(ab283391, Abcam, Cambridge, UK)를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 50 µL와 α-amylase solution을 50 µL 분주하고 빛을 차단한 상태로 10분간 상온에서 반응시켰다. α-Amylase substrate를 50 µL씩 각 well에 분주하고 kinetic 모드로 25분 동안 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\alpha\text{-Amylase inhibition (\%)} = \frac{\text{Slope of EC} - \text{Slope of sample}}{\text{Slope of EC}} \times 100$$

10. α-Glucosidase 효소 억제 활성 측정

일반미 및 유색미 추출물의 α-glucosidase 활성 저해 효과는 α-glucosidase inhibitor screening kit(ab284520, Abcam)를 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 시료 10 µL와 α-glucosidase enzyme solution 10 µL, assay buffer 60 µL를 분주하고 빛을 차단한 상태로 20분간 상온에서 반응시켰다. Assay buffer와 α-glucosidase substrate mix를 혼합한 reaction mix를 각 well에 20 µL씩 분주하고 kinetic 모드로 60분 동안 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\alpha\text{-Glucosidase inhibition (\%)} = \frac{\text{Slope of EC} - \text{Slope of sample}}{\text{Slope of EC}} \times 100$$

11. 통계 분석

모든 데이터는 SPSS 프로그램(Statistical Analysis Program ver. 24, IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 이용하여 분석하였으며, 평균과 표준오차(mean±S.E.M)로 제시하였다. 각 시료 간의 차이는 one-way ANOVA(one-way analysis of variance)를 실시한 후, Duncan's multiple range test에서 $p < 0.05$ 수준인 경우에 유의성을 표시하였다.

결과 및 고찰

1. 영양성분 및 기능성 성분 함량

일반미(새일미)와 유색미(보석흑찰, 흥진주, 흑진미)의 영양성분과 기능성분을 분석하였고 Table 1과 같다. 조희분과 조단백질, 조지방, 총 식이섬유는 일반미와 유색미를 포함한 4종의 현미에서 각각 1.11~1.32, 6.62~8.43, 1.42~2.07, 1.42~2.07 g/100 g 이었고, 조단백질 함량은 유색미에서 일반미보다 25% 이상 많은 것으로 나타났다. 8종의 무기물을 분석한 결과, 일반미와 유색미를 포함한 4종 현미의 Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, S의 함량은 14.18~19.75, 0.02~0.07, 1.16~3.02, 331.56~380.32, 114.46~131.18, 9.72~17.66, 479.16~527.74, 17.79~94.07 mg/100 g 이었고, 미량이지만 칼슘도 유색미에서 일반미보다 함량이 높게 분석되었다. 기능성 성분인 안토시아닌과 총 플라보노이드 함량은 일반미보다 유색미에 많이 함유되어 있었고, 흑진미에서 가장 많은 것으로 나타났다.

페놀화합물은 천연 향산화 물질로서 식물성 식품을 포함한 대부분의 식품 재료에 존재하며 향산화 및 항염, 항암, 항균 등 다양한 효능이 보고되었다(Gulcin I 2020). 본 연구에서 일반미와 유색미 추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량(Fig. 1)은 새일미 30.40 mg GAE/g, 보석흑찰 75.77 mg GAE/g, 흥

Table 1. Nutritional and functional components of normal and colored rice cultivars

Composition		Unit	Saeilmi	Boseogheugchal	Hongjinju	Heugjinmi
General components	Crude ash		1.31	1.32	1.26	1.11
	Crude protein	g/100 g	6.62	8.43	8.28	8.42
	Crude lipid		2.07	1.42	1.96	1.97
Total dietary fiber		g/100 g	2.07	1.42	1.96	1.97
Minerals	Ca		14.18	19.75	16.16	17.94
	Cu		0.05	0.02	0.07	0.04
	Fe		1.66	1.31	3.02	1.16
	K	mg/100 g	379.67	380.32	353.42	331.56
	Mg		122.48	129.22	131.18	114.46
	Na		9.72	12.51	17.66	16.09
	P		482.36	522.61	527.74	479.16
	S		94.07	17.79	20.63	27.37
Functional components	Anthocyanin	mg/100 g	0.24	28.72	1.89	51.26
	Total flavonoid		90.54	216.10	255.83	550.45

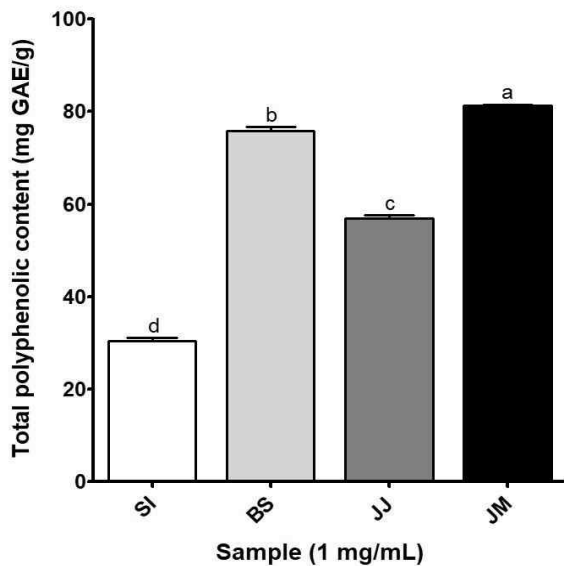


Fig. 1. Total polyphenolic content of normal and colored rice extracts. SI, Saeilmi; BS, Boseogheugchal; JJ, Hongjinju; JM, Heugjinmi.

The data was analyzed by Duncan's multiple range test after One-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean±S.E.M. ^{a-d} Mean values with different letters are significantly different ($p<0.05$) among all samples.

진주 56.97 mg GAE/g, 흑진미 81.27 mg GAE/g로, 유색미에서 일반미보다 유의적으로 많이 함유하고 있는 것으로 나타

났다($p<0.05$). Kim MY 등(2020)의 연구에 의하면 유색미(조생흑찰, 흑진미, 홍진주, 건강홍미) 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 19.03, 314.08, 178.05, 123.05 mg GAE/g이었고, 일반미(설개, 밀양320호, 신동진, 백진주) 에탄올 추출물의 함량은 8.58, 6.86, 10.49, 7.67 mg GAE/g이었다. 또한 Kim DJ 등(2010)이 보고한 연구에 의하면 홍진주, 흑광 등 유색미의 70% 에탄올 추출물은 일반미보다 총 폴리페놀 함량이 높았다. 흑미와 적미, 녹미의 80% 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 0.81~9.55 mg GAE/g으로 보고되었다(Park JY 등 2016). 따라서 총 폴리페놀 함량은 일반미보다 유색미에 많이 함유되어 있지만 품종 및 추출방법에 따라 많은 차이가 있는 것으로 나타났다.

2. 추출물의 라디칼 소거 활성

일반미 및 유색미 추출물의 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과는 Table 2와 같다. DPPH 라디칼 소거능은 보라색에서 노란색으로 탈색되는 원리를 이용하며 항산화 활성을 평가하기 위해 사용하며 빠르고 효율적인 분석 방법이다(Boligon AA 등 2014; Gulcin I 2020). ABTS 라디칼 소거능은 ABTS⁺가 청록에서 무색으로 변하는 반응을 측정하며 친수성과 친유성 화합물 또는 시료의 항산화 활성의 측정에서 사용되는 방법이다(Boligon AA 등 2014). DPPH는 음이온 라디칼, ABTS는 양이온 라디칼을 생성하는 차이가 있고 이 두 방법은 기질과 반응물질의 결합 정도가 달라 측정 결

Table 2. DPPH and ABTS radical scavenging activities of normal and colored rice extracts

	µg/mL	Saeilmi	Boseogheugchal	Hongjinju	Heuginmi
DPPH radical scavenging activity (%)	125	16.3±0.4 ^{dC}	29.6±1.1 ^{dB}	49.3±0.2 ^{dA}	17.3±1.1 ^{dC}
	250	18.3±0.3 ^{dC}	35.6±0.1 ^{cB}	63.3±1.5 ^{cA}	35.1±1.8 ^{cB}
	500	25.1±0.2 ^{cC}	45.0±0.4 ^{bB}	70.7±0.0 ^{bA}	70.7±0.1 ^{bA}
	1,000	34.7±0.4 ^{bD}	82.7±0.1 ^{aA}	76.6±0.2 ^{aB}	73.5±0.5 ^{bC}
	2,000	70.3±1.5 ^{aC}	83.1±0.4 ^{aA}	76.4±0.3 ^{aB}	80.7±0.4 ^{aA}
ABTS radical scavenging activity (%)	125	50.6±0.3 ^{dD}	95.7±0.2 ^{cB}	86.6±1.0 ^{bC}	99.4±0.0 ^{nsA}
	250	83.5±0.1 ^{bC}	99.3±0.0 ^{bA}	98.9±0.1 ^{aB}	99.4±0.0 ^A
	500	99.3±0.0 ^{aC}	99.6±0.1 ^{aB}	99.9±0.1 ^{aA}	99.4±0.1 ^C
	1,000	99.4±0.1 ^{aB}	99.7±0.1 ^{aA}	99.6±0.0 ^{aAB}	99.4±0.1 ^B
	2,000	99.6±0.2 ^{aNS}	99.6±0.1 ^{ab}	99.6±0.1 ^a	99.5±0.4

The data was analyzed by Duncan's multiple range test after One-way ANOVA using SPSS software and results were expressed as the mean±S.E.M. ^{a-d} Means with different letters within the column are significantly different ($p<0.05$). ^{A-D} Means with different letters within the row are significantly different ($p<0.05$) among all samples. ^{ns} Not significantly different within the column. ^{NS} Not significantly different within the row.

과가 다르게 나타날 수 있다(Kwak CS & Choi HI 2015).

DPPH 라디칼 소거 활성은 새일미 16.3~70.3%, 보석흑찰 29.6~83.1%, 홍진주 49.3~76.6%, 흑진미 17.3~80.7%이었고, 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거 활성이 유의적으로 증가하였다($p<0.05$). Kim MY 등(2020)의 보고에 의하면 일반미(설갱, 밀양320호, 신동진, 백진주)의 DPPH 라디칼 소거 활성은 4.74, 3.88, 5.95, 4.79 mg TE/g이었고, 유색미(조생흑찰, 흑진미, 홍진주, 건강홍미)의 DPPH 라디칼 소거 활성은 9.31, 24.42, 24.83, 24.81 mg TE/g이었다. 또한 흑미 메탄올 추출물 100 µg/mL 농도에서 84.03% DPPH 라디칼 소거 활성을 보였다(Cho EJ 등 2012). 본 연구에서 새일미와 보석흑찰, 홍진주, 흑진미 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성 IC_{50} 값은 1,250, 401.7, 101.3, 370.1 µg/mL이었고, 일반미보다 유색미(보석흑찰, 홍진주, 흑진미)에서 높은 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 밀양에서 재배한 흑진주 80% 메탄올 추출물의 IC_{50} 수치는 30.68 µg/mL, 건강홍미와 신토흑미 80% 메탄올 추출물은 41.11와 45.17 µg/mL(Park JY 등 2016)로, 품종 및 추출방법에 따라 IC_{50} 값에 차이가 있었다.

ABTS 라디칼 소거 활성은 새일미 50.6~99.6%, 보석흑찰 95.7~99.7%, 홍진주 86.6~99.9%, 흑진미 99.4~99.5%로 농도가 증가함에 따라 증가하였다. 일반미(새일미)보다 유색미(보석흑찰, 홍진주, 흑진미)에서 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였다. 선행연구에 의하면 유색미(조생흑찰, 흑진미, 홍진주, 건강홍미)의 ABTS 라디칼 소거 활성은 20.24,

128.20, 109.47, 92.99 mg TE/g이었고, 일반미(설갱, 밀양320호, 신동진, 백진주)는 8.21, 6.36, 10.56, 8.61 mg TE/g이었다(Kim MY 등 2020). 일반미인 일품의 ABTS 라디칼 소거능은 36.97 mM/ascorbic acid eq., 적미(적진주, 홍진주) 126.69~134.47 mM/ascorbic acid eq., 흑미(흑광, 흑설) 156.97~163.64 mM/ascorbic acid eq.이었다(Kim HW 등 2013). 선행 연구에서 유색미 중의 흑미가 가장 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였고, 적미와 녹미 순으로 낮은 ABTS 라디칼 소거 활성을 나타내었다(Oh YG 등 2023). 본 연구에서도 일반미인 새일미보다 유색미인 보석흑찰, 홍진주, 흑진미에서 높은 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였는데, 보석흑찰과 흑진미는 적미보다 낮은 농도에서도 95% 이상의 항산화 활성을 보였고, 흑진미는 125 µg/mL 농도에서 99% 이상의 ABTS 라디칼 소거 활성을 보였다. 따라서 높은 페놀화합물을 함유한 유색미에서 항산화 활성이 우수하게 나타난 것으로 판단되며, 이러한 특성은 다양한 생리활성에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 생각된다.

3. 추출물의 안전성 및 NO 생성 억제 효과

일반미와 유색미 추출물의 안전성을 확인하기 위해 시료를 처리한 RAW 264.7 세포의 cell viability를 확인하였다. 4종 현미의 50% 주정 추출물을 처리한 RAW 264.7 세포 생존율은 80% 이상을 나타냈으며(data not shown), 세포에 독성을 미치지 않는 것으로 파악되어 같은 농도에서 NO 생성 억제 활성을 측정하였다.

NO는 세포 종류와 생성되는 NO 농도에 따라 세포 생존을 촉진하거나 세포 자연사를 유도하고(Boscá L 등 2005), 고농도의 NO 생성은 nitrogen dioxide, peroxinitrite와 같은 유해물질을 생성하여 DNA 손상 및 세포 내 유해한 산화물질의 축적을 일으킨다(Kim CH 등 2012). LPS를 처리한 RAW 264.7 세포에 일반미와 유색미 추출물을 처리한 결과 (Fig. 2), NO 억제능은 새일미 26.0~84.6%, 보석흑찰 11.0~68.2%, 홍진주 1.2~68.1%, 흑진미 28.4~73.4%이었으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 NO 농도가 감소되었다($p < 0.05$). Choi EY 등(2018)의 연구에서 흑미인 조생흑찰과 신토흑미 70% 에탄올 추출물 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서

51%와 44%의 NO 저해 효과를 보였고, 흑미 50% 에탄올 추출물 또한 농도 의존적으로 NO 생성을 억제하였다 (Limtrakul P 등 2015). 따라서 본 실험에 사용된 모든 일반미와 유색미의 현미 추출물은 NO 생성 억제를 통해 항염 효과가 있으며, 향후 추출물의 항염 기작에 관한 연구가 필요한 것으로 보인다.

4. 추출물의 당화효소 억제 활성 효과

α -Amylase는 타액 및 췌장 기원에 따라 두 종류로 나뉘며 탄수화물 가수분해에 가장 먼저 작용하는 소화효소로서, 이 효소의 활성을 저해시켜 탄수화물의 소화 속도를 낮추고 식

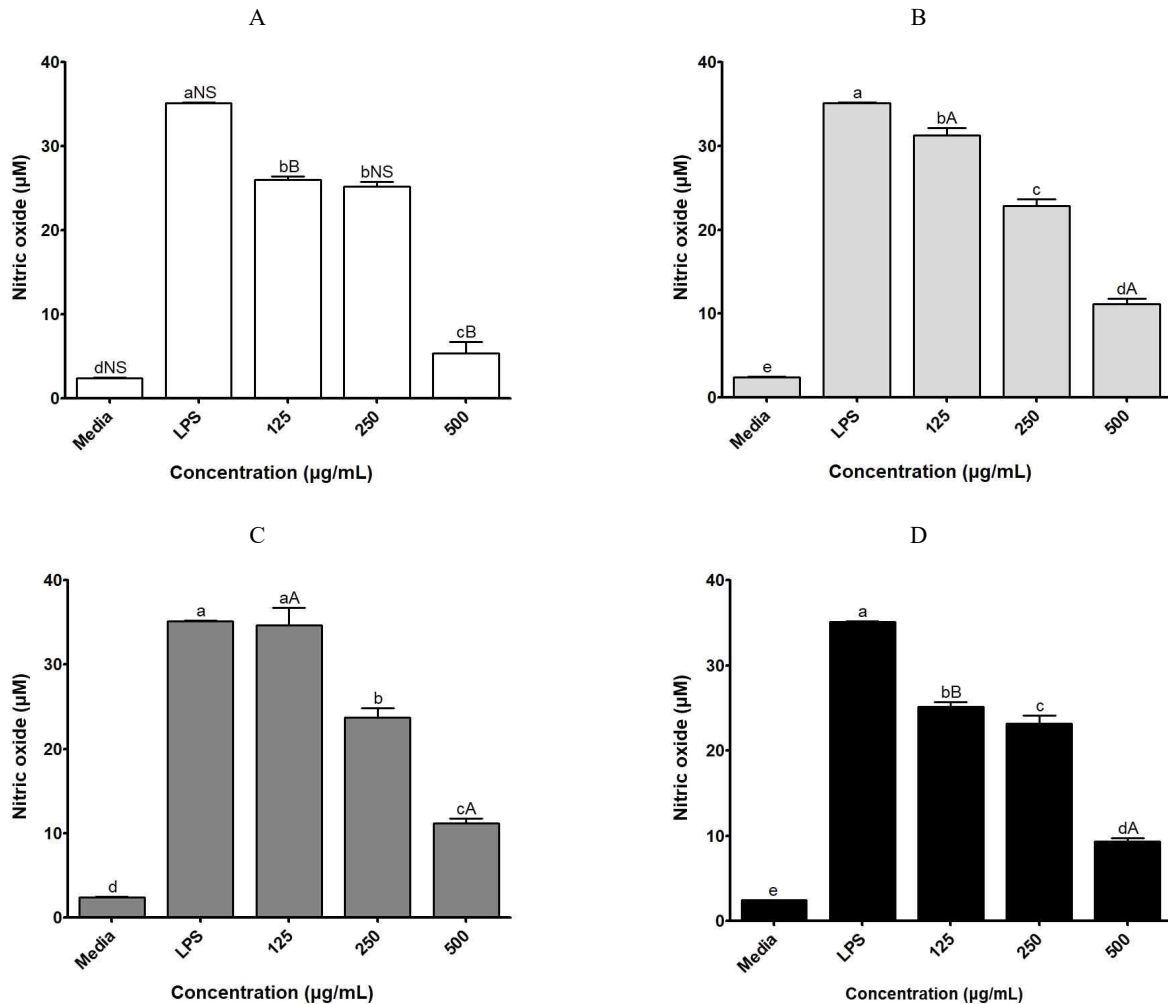


Fig. 2. Inhibition effects of normal and colored rice extracts on the nitric oxide (NO) production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. A: Saeilmi, B: Boseogheugchal, C: Hongjinju, D: Heugjinmi.

The data was analyzed by Duncan's multiple range test after One-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean \pm S.E.M. ^{a-c} Means with different letters at the same sample are significantly different ($p < 0.05$). ^{A,B} Means with different letters at the same concentration are significantly different ($p < 0.05$) among all samples. ^{NS} Not significantly different at the same concentration among all samples.

후 혈당 상승을 억제할 수 있다(Xu ML 등 2011). 일반미와 유색미 추출물의 α -amylase 저해 활성을 측정한 결과(Fig. 3A), 새일미와 보석흑찰, 홍진주, 흑진미 추출물에서 농도의존적으로 26.4~31.4, 23.6~72.1, 19.4~34.3, 35.1~85.3%의 저해 활성을 보였다($p<0.05$). 10 mg/mL 농도에서 보석흑찰과 흑진미는 일반미보다 α -amylase 저해 활성이 높았고, 모든 농도에서 흑진미는 다른 시료보다 α -amylase 억제 활성이 유의적으로 높게 나타났다. 스리랑카 적미와 백미 쌀겨 70% 에탄올 추출물(2 mg/mL)은 46.6~92.3%와 14.2~32.0%, 개량한 적미와 백미 쌀겨는 68.9~80.6%와 6.6~39.7%의 α -amylase 저해 활성이 보고되었다(Premakumara GAS 등 2013).

α -Glucosidase는 이당류나 다당류 형태의 탄수화물을 단당류로 가수분해하는 소장에 존재하는 효소(Kim JE 등 2009)로, 이 효소 활성을 저해시킴으로써 체내 포도당 흡수를 억제하여 식후 혈당상승을 조절할 수 있다(Lee SY 등 2014). 일반미와 유색미 추출물의 α -glucosidase 저해 활성을 측정한 결과(Fig. 3B), 새일미와 보석흑찰, 홍진주, 흑진미 추출물에서 15.4~17.4, 32.4~37.9, 32.9~38.3, 27.0~30.3%의 α -glucosidase 저해 활성을 보였고, 유색미에서 일반미보다 그리고 추출물의 농도가 증가함에 따라 α -glucosidase 저해 활성이 증가하였다. Lee HN 등(2020)은 10 mg/mL 농도의 조와 기장, 팥에서 26.1, 29.1, 27.5% α -glucosidase 억제 활성, 수수는 90% 이상의 α -glucosidase 저해 효과를 보고하였다. 따라서 본 연구에 사용된 유색미는 일반미보다 α -glucosidase 저해 활성이 높을 뿐만 아니라, 선행연구상의 조, 기장 및 팥보다도 우수한 것으로 판단되어 앞으로 항당뇨 소재로서의

활용성이 기대된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 일반미(새일미)와 유색미(보석흑찰, 홍진주, 흑진미)의 영양 및 기능성분을 분석하고, 이들 현미 4종 50% 주정 추출물의 항산화, 항염 및 항당뇨 효과에 대해 평가하였다. 영양성분 중에서 단백질과 칼슘 함량이 일반미보다 유색미에 많이 함유되어 있었고, 안토시아닌, 총 플라보노이드 및 총 폴리페놀 함량도 일반미보다 유색미에서 많이 함유된 것으로 나타났다. 항산화 활성을 비교한 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능도 일반미보다 유색미에서 높게 나타났고, 농도 의존적 차이를 보였으며, 낮은 농도에서 유색미에 의한 효과가 더욱 크게 나타났다. 또한, 일반미와 유색미는 RAW 264.7 세포에 대해 독성을 보이지 않았으며, 농도 의존적으로 우수한 NO 생성 억제 활성이 확인되었다. 항당뇨 효과를 평가하기 위해 두 종류의 효소 활성을 비교한 결과, 유색미 중에서 보석흑찰과 흑진미가 높은 α -amylase 활성 저해 효과를 보였고, 모든 유색미가 α -glucosidase에 대해 활성 억제 효과가 높은 것으로 나타났다. 연구 결과, 유색미에 영양 및 기능성분이 많고, 항산화, 항염 및 항당뇨 효과가 높은 것으로 나타났으며, 특히, 보석흑찰과 홍진주의 교배종인 흑진미는 많은 안토시아닌, 총 플라보노이드 및 총 폴리페놀 함량을 통해 높은 항산화, 항염 및 항당뇨 효과가 있는 것으로 보인다. 따라서 흑진미를 이용하여 다양한 소비자 맞춤형 복합기능성 소재화가 가능할 것으로 기대된다.

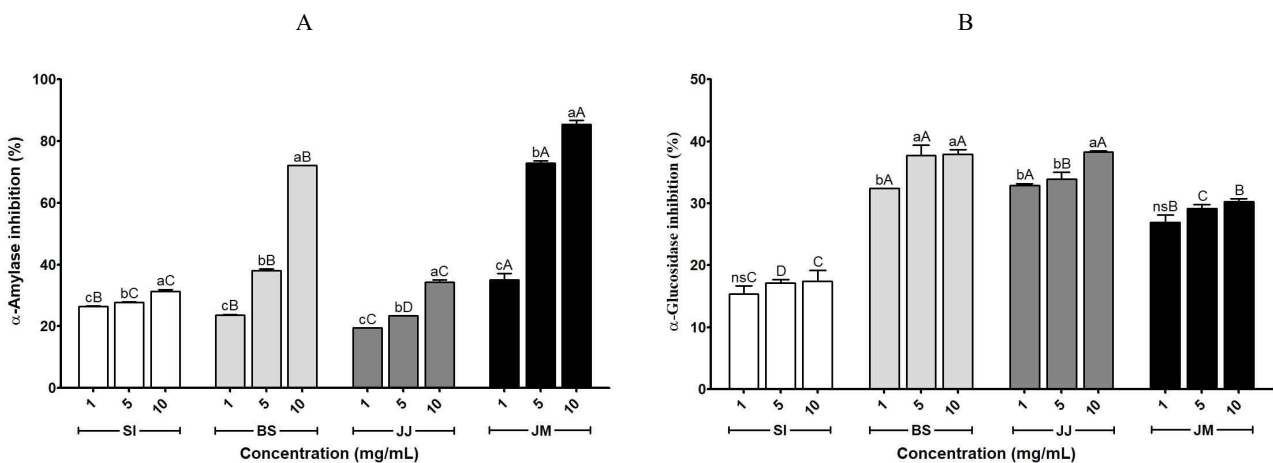


Fig. 3. Anti-diabetic effects of normal and colored rice extracts. A: α -Amylase inhibitory activity, B: α -glucosidase inhibitory activity, SI: Saeilmi, BS: Boseogheugchal, JJ: Hongjinju, JM: Heuginmi.

The data was analyzed by Duncan's multiple range test after One-way ANOVA using SPSS software and each bar presents the mean \pm S.E.M. ^{a-c} Means with different letters at the same sample are significantly different ($p<0.05$). ^{A-D} Means with different letters at the same concentration are significantly different ($p<0.05$) among all samples. ^{ns} Not significantly different at the same sample.

감사의 글

본 연구는 2023년도 농촌진흥청 시험연구사업(과제번호: PJ01586301)의 연구비 지원으로 수행되었다.

REFERENCES

- Bae HK, Oh SH, Hwang JD, Seo JH, Kim SY, Oh MK (2017) Polyphenol content and yield variation of red-colored cultivars depends on transplanting date in southern plain region of Korea. *Korean J Crop Sci* 62(3): 166-171.
- Boligon AA, Machado MM, Athayde ML (2014) Technical evaluation of antioxidant activity. *Med Chem* 4(7): 517-522.
- Boscá L, Zeini M, Través PG, Hortelano S (2005) Nitric oxide and cell viability in inflammatory cells: A role for NO in macrophage function and fate. *Toxicology* 208(2): 249-258.
- Cho EJ, Choi MJ, Shin SH, Kim HY (2012) Antioxidant activity of black rice and grains. *Korean Journal of Agricultural Science* 39(4): 511-514.
- Choi EY, Jang YA, Lee JT (2018) The anti-inflammatory effect of ethanol extracts of colored rice varieties against lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47(9): 870-875.
- Choi EY, Lee JT (2018) The effects of antioxidant and anti-aging treatment of UVB-irradiated human HaCaT keratinocytes with ethanol extracts of colored rice varieties. *Korean J Food Sci Technol* 50(6): 653-659.
- Gulcin I (2020) Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Arch Toxicol* 94(3): 651-715.
- Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ (2012) Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41(11): 1645-1648.
- 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(3): 467-473.
- Kim HW, Oh SK, Lee JH, Yoon MR, Kim DJ, Choi IS, Kim JG, Lee JS (2013) Evaluation of antioxidant and cancer cell growth inhibition activities of red rice and black rice. *Korean J Food Preserv* 20(6): 834-839.
- Kim JE, Joo SI, Seo JH, Lee SP (2009) Antioxidant and α -glucosidase inhibitory effect of tartary buckwheat extract obtained by the treatment of different solvents and enzymes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38(8): 989-995.
- Kim JH, Im JY, Choi H, Jeong UY, Kim JS, Jung J, Choe JS, Lee SH (2022) Antioxidant and NO generating effects of local agricultural products. *Korean J Community Living Sci* 33(2): 337-349.
- Kim JH, Kim JS, Kim SH, Jeong SH, Jeong UY, Jung JE, Lee SK, Lee SH (2022) Antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extract from whole onion (*Allium cepa* L.) with leaves. *Agriculture* 12(7): 963.
- Kim MY, Park HY, Lee YY, Lee BW, Kim MH, Lee JY, Lee JH, Kang MS, Koo BC, Kim HJ (2020) Antioxidant and anti-adipogenic effects of colored and brown rice extracts depending on cultivars. *Korean J Food Nutr* 33(2): 149-158.
- Kwak CS, Choi HI (2015) *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract and sequential fractions of flowers of *Prunus persica* in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44(10): 1439-1449.
- Lee HN, Yu MN, Kim HJ, Sung JH, Jeong HS, Lee JS (2020) Antioxidant and anti-diabetic activities of ethanol extracts of cereal grains and legumes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 49(4): 323-328.
- Lee JH, Lee SB, Kim HY, Yang CI, Kim MK, Jeon YH, Lee KS, Kim YG, Jeong OY, Hwang HG, Choi YH, Yang SJ, Cho YC, Oh SK, Yea JD, Lee JH, Won YJ, Lee JI, Chung KH, Hwang KH (2011) A new black pericarp, medium-ripening glutinous rice cultivar 'Boseogheugchal'. *Korean J Breed Sci* 43(6): 600-605.
- Lee SY, Kim JH, Park JM, Lee IC, Lee JY (2014) Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Smilax china* L. *Korean J Food Preserv* 21(2): 254-263.
- Limtrakul P, Yodkeeree S, Pitchakarn P, Punfa W (2015) Suppression of inflammatory responses by black rice extract in RAW 264.7 macrophage cells via downregulation of NF- κ B and AP-1 signaling pathways. *Asian Pac J Cancer Prev* 16(10): 4277-4283.
- Ministry of Food and Drug Safety (2021a) Food Code. <https://various.foodsafetykorea.go.kr> (accessed on 21. 11. 2023).

- Ministry of Food and Drug Safety (2021b) Health Functional Food Code. <https://various.foodsafetykorea.go.kr> (accessed on 22. 11. 2023).
- National Institute of Crop Science (2023) Heugjinmi. <https://www.nics.go.kr> (accessed on 10. 11. 2023).
- Oh YG, Kang JW, Lee JH, Lee JS, Kwak JE, Park HJ, Choi YC (2023) Comparison of antioxidant components and activities of Korean colored rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. J Korean Soc Food Sci Nutr 52(7): 701-707.
- Park JY, Ham H, Han SI, Oh SH, Song YC, Cho JH, Hur YJ, Lee YY, Lee BW, Choi YH (2016) Comparison of antioxidant components and antioxidant activities of colored rice varieties (*Oryza sativa* L.) cultivated in southern plain. J Korean Soc Food Sci Nutr 45(8): 1214-1220.
- Park YM, Lee HY, Shin DY, Lee YH, Yang YJ, Lee HS, Lee JO, Choi KS, Kang JH, Cho YH, Kim MG, Yun CY, Kim MJ, Jang DJ, Yang HJ, Lee YR (2020) Immunostimulatory activity of black rice bran in cyclophosphamide-induced immunosuppressed rats. Nat Prod Commun 15(7): 1-11.
- Premakumara GAS, Abeysekera WKSM, Ratnasooriya WD, Chandrasekharan NV, Bentota AP (2013) Antioxidant, anti-amylase and anti-glycation potential of brans of some Sri Lankan traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties. J Cereal Sci 58(3): 451-456.
- Song S, He A, Zhao T, Yin Q, Mu Y, Wang Y, Liu H, Nie L, Peng S (2022) Effects of shading at different growth stages with various shading intensities on the grain yield and anthocyanin content of colored rice (*Oryza sativa* L.). Field Crops Res 283: 108555.
- Xu ML, Wang L, Xu GF, Wang MH (2011) Antidiabetes and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Sonchus asper* (L) hill extract. Kor J Pharmacogn 42(1): 61-67.
- Yang CI, Lee KS, Choi YH, Jung KH, Jung OY, Hwang HG, Lee JH, Kim HY, Hong HC, Lee SB, Lee YT, Yang SJ, Kang KH, Cho YC, Kim SL (2011) A new reddish brown color rice cultivar 'Hongjinju'. Korean J Breed Sci 43(6): 513-518.

Date Received Nov. 27, 2023
 Date Revised Dec. 11, 2023
 Date Accepted Dec. 19, 2023