

흑미강으로부터 유용 폴리페놀 및 플라보노이드의 추출효율 증진을 위한 아임계수의 효과

최찬익 · 정은영 · 고민정 · 조상우¹ · 장판식² · 박영서³ · 이경아⁴ · 백현동⁴ · 김기태⁴ · 홍석인⁵ · 정명수*

이화여자대학교 식품공학과, ¹(주)서울향료 바이오사업부, ²서울대학교 식품생명공학전공
³경원대학교 식품생물공학과, ⁴건국대학교 축산식품생물공학전공, ⁵한국식품개발연구원

Effect of Subcritical Water for the Enhanced Extraction Efficiency of Polyphenols and Flavonoids from Black Rice Bran

Chan-Ick Cheigh, Eun-Young Chung, Min-Jung Ko, Sang-Woo Cho¹, Pahn-Shick Chang²,
Young-Seo Park³, Kyoung-Ah Lee⁴, Hyun-Dong Paik⁴, Kee-Tae Kim⁴,
Seok-In Hong⁵, and Myong-Soo Chung*

Department of Food Science and Engineering, Ewha Womans University

¹Bio Business Division, Seoul Perfumery Co.

²Program in Food Science and Biotechnology, Seoul National University

³Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University

⁴Food Science and Biotechnology of Animal Resources, Konkuk University

⁵Korea Food Research Institute

Abstract

The extraction of polyphenol and flavonoid from black rice bran was performed by diverse extraction methods using the sugar solution, ethanol, hot water (80°C), and by subcritical water extraction (SWE) method. By SWE under operating conditions of 190°C, 1,300 psi, and 10 min, the maximum yields of total polyphenolic compounds (35.06±1.28 mg quercetin equivalent (QE)/g dried material and flavonoids (7.08±0.31 mg QE/g dried material) could be obtained. These results were over 11.77- and 12.21-fold higher than those of the ethanol extraction, which showed the highest extraction efficiency among tested conventional methods in total polyphenols (2.98±0.74 mg QE/g dried material) and flavonoids (0.58±0.21 mg QE/g dried material), respectively. Though the highest antioxidant activity (87.14±1.14%) was observed at the dried extract obtained from ethanol method, the relative antioxidant activity per 1 g dried black rice bran by SWE (190°C, 10 min) was over 11.53-fold higher than that by the ethanol extraction.

Key words: subcritical water extraction, black rice bran, flavonoid, polyphenol

서 론

최근 합성물질의 부작용 등으로 인하여 천연에서 유래되는 물질들이 주목을 받고 있으며, 그 중 사람이 섭취하는 음식에 매우 다양하게 존재하는 식물성분(phytochemicals)인 플라보노이드류(flavonoids)의 기능성 및 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 매우 강력한 항산화 및 항균효과를 보유하고 있는 것으로 알려진 플라보노이드류는

특히 심혈관계 질환, 뇌혈관계 질환, 암, 그리고 천식, 백내장, 당뇨, 관절염 등 다양한 만성질환에 효과를 보이고 있으므로 인구고령화에 따른 만성질환의 예방식품소재로서 매우 높은 가능성과 산업적 가치를 지니고 있다(Kuhnan, 1976; Pierpoint, 1986).

식품에서 가장 중요한 산물 중 하나인 쌀은 세계적으로 주요한 당질 공급원으로, 그것의 1차 기능인 에너지 공급원으로서 뿐만 아니라 생리적 기능에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 이와 같은 기능적 요구에 따라 유색미, 거대배아미, 고아미 등 다양한 종류의 특수미가 개발되었으며, 이 중 유색미는 DNA 손상억제, 발암억제 및 높은 항산화 활성을 나타내는 탄닌계 및 안토시아닌계 색소를 상당량 함유하는 것으로 보고되고 있다(Seo et al., 2008; Rhee et

Corresponding author: Myong-Soo Chung, Department of Food Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea
Tel: +82-2-3277-4508; Fax: +82-2-3277-4508

E-mail: mschung@ewha.ac.kr

Received October 22, 2010; revised November 22, 2010; accepted November 25, 2010

al., 2000; Hu et al., 2003; Morimitsu et al., 2002). 특히 그 특유의 색과 향으로 인하여 다양한 형태의 식품으로 가공되어 소비되고 있는 흑미는 비교적 강한 free radical 제거능 및 항산화 효과가 있는 것으로 보고되고 있어 천연 항산화제의 중요한 자원으로 각광받고 있다(Rhee et al., 2000; Ling et al., 2002). 또한 도정 후 남겨진 흑미의 겨층(black rice bran, 흑미강)은 다른 곡류에 비하여 플라보노이드류를 포함하는 다양한 폴리페놀 화합물을 함유하고 있으며, 특히 안토시아닌계 색소성분이 풍부하여 항염증, 항산화성, 항균성, 항암성 등의 다양한 생리활성이 보고되어 있다(Hahn et al., 1995; Chung & Lee, 2003; Chen et al., 2006).

흑미의 가공공정에서 발생하는 부산물인 흑미강으로부터 폴리페놀계 화합물 및 플라보노이드류를 얻기 위한 방법으로는 에탄올과 메탄올 등의 유기용매 추출법을 주로 사용하는데, 이러한 방법은 식품제조 및 산업화에 있어 여러 가지 적용 한계를 보이고 있는 실정이다(Pawliszyn, 2002; Kong et al., 2008; Lee et al., 2009). 이러한 한계를 극복할 수 있는 대안으로서 제시된 방법이 아임계 상태의 물(subcritical water)을 추출용매로 사용하는 아임계 추출법(subcritical water extraction, SWE)이다.

추출 매체로써 물의 사용은 오랜 역사를 가지고 있지만 대기압 하에서의 100°C 이하의 물을 사용하는데 국한되어 왔고 이러한 조건에서의 물을 이용한 추출방법은 물질의 전기적인 특성을 나타내는 상대 유전율(relative permittivity, ϵ)이 매우 높기 때문에($\epsilon > 80$) 오로지 극성 화합물(polar compound)의 추출에만 이용되어 왔다. 그러나 아임계 추출은 상온, 상압의 물을 압력 및 온도의 조절을 통하여 아임계 상태로 만듦으로써 낮은 상대 유전율($1 < \epsilon < 25$)을 부여하므로 플라보노이드와 같은 비극성 화합물(non-polar compound)을 추출하는데 매우 효과적인 것으로 알려지고 있다(Ramos, 2002). 아임계 추출은 일반적인 추출방법보다 매우 짧은 시간 안에 유용물질을 선택적으로 얻을 수 있는 환경 친화적 공정으로서 현재 매우 활발하게 연구되고 있다(Ra et al., 2001; Smith, 2002; Ramos, 2002).

본 연구는 흑미의 도정 공정에서 발생하는 흑미 가공부산물의 효과적인 이용 방안을 제시하기 위하여, 흑미강에 에탄올, 열수, 설탕용액, 그리고 조건별 아임계 추출법을 적용하여 각 추출방법에 따른 흑미강 유래 기능성 polyphenolic compounds와 flavonoids의 추출 효율을 비교 분석하고, 이들 추출물의 항산화 효과 및 항산화 성분에 대한 상대 수율을 비교 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 흑미강 시료는 2009년에 충청북도 진

천군에서 재배 및 수확되어 도정공정을 거치면서 회수된 흑미 가공부산물로, 선별 세척과정을 통해 불순물로부터 분리하여 사용하였다. 분리된 흑미의 겨층은 60 cmHg, 70°C에서 3시간 동안 진공 건조한 후 고속믹서(Blender 7012S, Waring Co., Torrington, CT, USA)로 분말화시켜 흑미강 시료로 사용하였다.

Polyphenol 및 flavonoid의 추출

흑미강으로부터의 polyphenolic compounds 및 flavonoids 추출은 열수, 에탄올, 설탕용액을 이용한 기존 추출법과 다양한 조건에서의 아임계 추출법을 통해 수행되었다. 열수 추출은 분쇄된 흑미강 시료 20 g에 증류수 200 mL을 첨가하고 80°C에서 3시간 동안 반응시켜 수행한 다음, 이를 여과지(Whatman NO.2, Whatman Co., Maidstone, UK)로 여과한 후, 동결건조(Model FD-5505P, Ilshinlab, Seoul, Korea)하여 추출물을 회수하였다. 에탄올 추출의 경우, 분쇄한 흑미강 시료 20 g에 70% 에탄올 200 mL를 첨가하고 60°C에서 3시간 동안 추출을 수행하였고, 설탕용액을 이용한 추출법은 10%(w/v) 설탕용액 60 mL에 분쇄한 흑미강 시료 3 g을 첨가하여 3일 동안 실온에 방치하였다. 각 추출법에 의해 추출된 추출액은 앞서 기술한 여과 및 동결건조 방법을 통해 그 추출물을 회수하였다. 아임계 추출은 아임계 추출장치(Accelerated Solvent Extractor; ASE 100, DIONEX Co., Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 수행하였으며, 사용된 아임계 추출장치의 전반적인 모식도는 Fig. 1과 같다. 건조한 흑미강 시료 1 g과 규조토(ASE Prep DE, DIONEX Co.) 2 g를 혼합한 후 추출기 내부에 충전하고

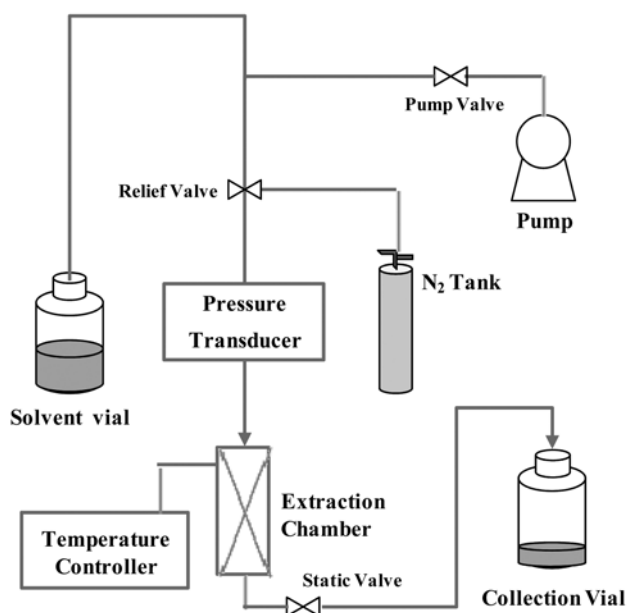


Fig. 1. Schematic diagram of subcritical water extraction (SWE) system.

추출기 하부에 filter(ASE Filter, DIONEX Co., CA, USA)를 부착하였다. 아임계 추출장치의 압력(1300 psi)과 추출 시간(10분)은 일정하게 조절하였으며, oven의 온도를 105, 110, 130, 150, 170 및 190°C로 달리한 각각의 조건에서 추출을 수행하였다. 얻어진 추출물은 24시간 동안 동결건조 후 분석시료로 사용하였다.

총 polyphenol 함량 측정

총 polyphenols 함량은 Folin-Ciocalteu(Gutfinger, 1981)법을 이용하여 비색 정량하였다. 동결 건조된 시료 추출물 2 mg에 2 mL의 메탄올용액을 넣고 균질화한 후, 0.45 µm PVDF membrane filter(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 기질로 사용하였다. 기질용액 0.1 mL에 2%(w/v) Na₂CO₃용액 2 mL를 첨가하고 3분간 vortex mixer로 진탕한 후, 50% Ciocalteu 시약 0.1 mL를 첨가하고 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 혼합물은 UV-Spectrophotometer (OPTIZEN 2120 UV plus, Mechasy Co., Daejeon, Korea)를 사용하여 700 nm에서 흡광도 측정을 통해 분석되었으며, 총 polyphenols 함량은 Quercetin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 하여 작성한 표준검량곡선을 통해 시료 추출물의 총 polyphenols 함량을 환산하여 나타내었다.

총 flavonoid 함량 측정

총 flavonoids 함량은 Moreno 등(Moreno et al., 2000)의 방법을 이용하여 비색 정량하였다. 동결 건조된 시료 추출물 2 mg에 2 mL의 메탄올용액을 넣고 균질화한 후, 0.45 µm PVDF membrane filter(Millipore)로 여과하여 기질로 사용하였다. 기질용액 0.5 mL에 95% 에탄올 1.5 mL, 10% aluminum chloride 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 증류수 2.8 mL를 차례로 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 30분간 정치하여 반응시킨 다음 UV-Spectrophotometer(OPTIZEN 2120 UV plus)를 이용하여 415 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 총 flavonoids 함량은 Quercetin(Sigma-Aldrich)을 표준물질로 하여 작성한 표준검량곡선을 통해 시료 추출물의 총 flavonoids 함량을 환산하여 나타내었다.

항산화 활성의 검정

항산화 활성은 변형된 Blois 등의 방법(Blois, 1958)을 이용하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical에 대한 전자공여능(Electron donating ability, EDA) 측정을 통해 검정되었다. 추출물의 전자공여능 검정을 위해, 동결 건조된 시료 2 mg에 2 mL의 메탄올용액을 넣고 균질화한 후, 0.45 µm PVDF membrane filter(Millipore)로 여과하여 기질용액으로 사용하였다. 기질용액 0.2 mL에 100 µM DPPH 용액 1 mL를 넣고 vortex mixer로 30초간 진탕하고 실온에서 15분간 방치한 후, 517 nm에서의 흡광도로 잔존

하는 DPPH free radical을 측정하였다. 침출액 무첨가구인 경우는 침출액 대신 0.2 mL 메탄올을 첨가하여 대조구로 사용하였으며 517 nm에서 DPPH용액의 흡광도를 약 1.0으로 조정 한 후 시료용액의 흡광도를 측정하였다. 항산화 효과는 침출액 무첨가구에 대한 침출액 첨가구의 흡광도 차이를 백분율로 하여 나타내었으며 동결 건조한 흑미강 추출물 대신 합성 항산화제인 BHT를 넣어 같은 방법으로 실험을 수행함으로써 기존의 항산화제의 효과와 비교 검증하였다. 또한, 각 동결 건조 추출물의 항산화 활성 평가 결과 및 각각의 추출방법에 따른 건조 시료 1 g 당 획득된 추출물의 건조중량 차이 비교를 통해서 건조된 흑미강 1 g 당 함유된 항산화 성분의 상대 수율(relative activity, %)이 계산되었다.

결과 및 고찰

추출방법에 따른 총 polyphenol의 함량 분석

건조 흑미강의 시료로부터 총 polyphenol이 새로운 추출방법인 아임계 추출법(SWE)을 통해 추출되었고, 열수, 설탕용액, 그리고 에탄올을 이용한 기존 추출법과의 추출 효율이 비교 분석되었다. 아임계 추출법을 이용한 총 polyphenol의 추출은 추출장치의 압력(1300 psi)과 추출 시간(10분)을 일정하게 조절하고 추출 온도를 105, 110, 130, 150, 170 및 190°C로 달리한 조건에서 수행되었다. Fig. 2

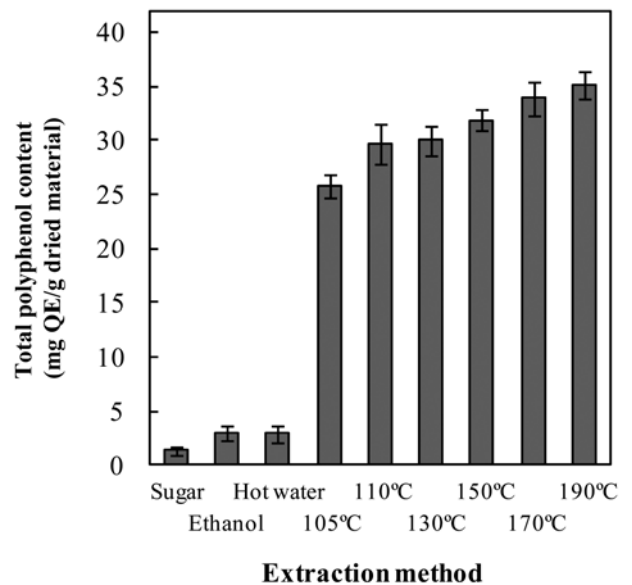


Fig. 2. Contents of total polyphenols extracted from black rice bran using different extraction methods. Extraction method; sugar, ethanol, hot water, SWE 105°C, SWE 110°C, SWE 130°C, SWE 150°C, SWE 170°C, SWE 190°C. Each bar represents means±standard deviation of three measurements. ¹QE indicates quercetin equivalent.

에서와 같이, 추출 온도 105°C에서는 건조된 흑미강 1g 당 추출된 polyphenol의 함량이 25.76 ± 1.12 mg QE/g dried material로 관찰되었으나, 105°C를 기준으로 추출 온도를 110부터 190°C까지 높임에 따라, 그 함량 역시 29.59 ± 1.83 에서 35.06 ± 1.28 mg QE/g dried material까지 대략 1.15에서 1.36배 정도 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 고온의 추출조건에서 수행되는 고압용매 추출법 등과는 달리, 추출용매로서 순수한 물을 사용하는 아임계수 추출 방식에 대한 polyphenolic compounds의 높은 열 안정성으로 설명할 수 있으며(Smith, 2002; Andersson, 2007), 건조된 흑미강 시료로부터 polyphenol의 파괴나 손실 없이 최대로 추출할 수 있는 최적 추출 온도가 190°C임을 제시하고 있다.

건조 흑미강으로부터 polyphenol을 추출하기 위한 아임계 추출법의 추출효율을 열수, 설탕용액, 그리고 에탄올이 용한 기존 추출법을 통해 획득된 추출물의 함량과 비교 분석하여 평가하였다(Fig. 2). 각각의 추출법에 따라 획득된 추출물로부터 검출된 건조 흑미강 시료 1g 당 polyphenol의 함량은 에탄올 추출법(2.98 ± 0.74 mg QE/g dried material)이 설탕용액 추출(1.35 ± 0.32 mg QE/g dried material)이나 열수 추출(2.91 ± 0.81 mg QE/g dried material)보다 다소 높은 것으로 관찰되었다. 그러나 이와 같은 에탄올 추출물의 polyphenol함량은 최적 추출조건(190°C, 10분)에서 획득된 아임계 추출물(35.06 ± 1.28 mg QE/g dried material)의 함량에 비해 약 11.77배 낮은 것으로, 아임계 추출법의 polyphenol 추출효율이 에탄올 추출법을 포함한 기존의 전통적 추출법에 비하여 매우 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

곡류의 항산화 활성을 연구한 다수의 연구결과들에 의하면, 도정 후 남겨진 흑미강은 다양한 polyphenolic compounds를 함유하고 있으며, 특히 우수한 생리활성을 나타내는 안토시아닌계 색소성분이 매우 풍부하기 때문에 좋은 기능성원료로 이용될 수 있다(Hahn et al., 1995; Chung & Lee, 2003; Chen et al., 2006). 그러나 에탄올 및 메탄올 등의 유기용매를 사용하는 기존의 추출법으로는 식품제조에 적용한계를 나타낼 뿐만 아니라 추출효율 및 경제성 측면에서 그리고 추출용매의 잔류 및 그 부산물의 재활용이나 재처리 비용의 추가 발생 등으로 산업화에도 한계를 나타내고 있다(Pawliszyn, 2002; Kong et al., 2008; Lee et al., 2009). 이와 같은 실정에서 Fig. 2의 결과는 추출 매체로서 물을 이용하는 아임계 추출법이 흑미강으로부터 기능성 polyphenol을 추출하는데 매우 적합한 방법이며 기존의 전통적 추출법에 대한 효과적인 대안임을 제시하고 있다.

추출방법에 따른 총 flavonoid의 함량 분석

건조 흑미강 시료로부터 아임계 추출법(SWE) 및 열수, 에탄올, 그리고 설탕용액 추출법을 통해 획득된 추출시료의 총 flavonoid 함량을 비교 분석하였고 이를 바탕으로

서로 다른 추출법에 따른 flavonoid의 추출효율을 평가하였다. 서로 다른 추출 온도에서 획득된 아임계 추출물의 경우, Fig. 3(A)에서 보여지는 것과 같이 최적의 polyphenol 추출효율을 나타내었던 190°C (10분)에서 건조 흑미강 1g 당 최대의 flavonoid 함량(7.08 ± 0.31 mg QE/g dried material)이 관찰되었으며, 105부터 190°C까지 추출 온도가 높아짐에 따라 그 함량 역시 각각 4.82 ± 0.22 부터 7.08 ± 0.31 mg QE/g dried material로 polyphenol의 함량 변화와 유사하게 증가하는 경향을 나타내었다.

Fig. 3(A)에서 보여지는 것과 같이, 열수, 에탄올 및 설

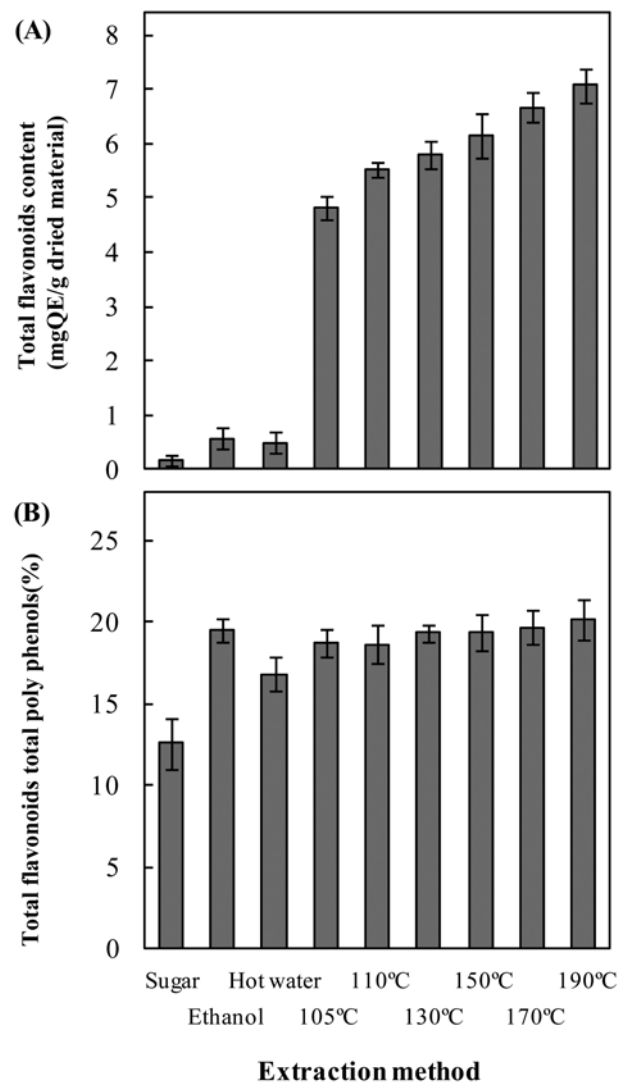


Fig. 3. Contents of total flavonoids extracted from black rice bran using different extraction methods (A) and ratio of total flavonoids to total polyphenols content in the extracts (B). Extraction method; sugar, ethanol, hot water, SWE 105°C, SWE 110°C, SWE 130°C, SWE 150°C, SWE 170°C, SWE 190°C. Each bar represents means \pm standard deviation of three measurements. ¹QE indicates quercetin equivalent.

탕용액을 이용한 기존 추출법을 통해 획득된 추출시료의 flavonoid 함량 분석 또한 앞선 polyphenol의 함량 변화를 평가한 연구 결과와 매우 유사한 경향을 보여주었다. 각각의 추출물에 함유된 건조 흑미강 1g 당 flavonoid의 함량은 설탕용액 추출물(0.17±0.09 mg QE/g dried material) 및 열수 추출물(0.49±0.19 mg QE/g dried material)에 비해 에탄올 추출물(0.58±0.21 mg QE/g dried material)에서 다소 높게 나타났으나, 최적 추출조건(190°C, 10분)에서 획득된 아임계 추출물(7.08±0.31 mg QE/g dried material)에 비해서는 flavonoid의 추출효율이 매우 낮았다. 결과적으로 건조 흑미강 시료로부터 획득된 아임계 추출물은 에탄올 추출물에 비해 약 12.21배, 열수 추출물 대비 약 14.45배 그리고 설탕용액 추출물 대비 약 41.65배 이상의 높은 flavonoid를 함유하는 것으로, 아임계 추출법이 기존의 전통적 추출법에 비하여 흑미강의 polyphenol은 물론 flavonoid를 추출함에 있어서도 매우 유용한 방법임을 제시하고 있다. 또한 Fig. 3(B)에서와 같이, 추출물의 총 polyphenol 함량에 대한 총 flavonoid의 함량 비율은 수행된 아임계 추출조건의 전구간에서 고른 함량 비율이 관찰되었다.

유색미의 일종인 흑미는 특유의 색과 향으로 인하여 다양한 형태의 식품으로 가공되며 그 소비가 점차 증가하고 있으며, 이와 함께 가공과정에서 발생하여 버려지는 흑미강의 양도 해마다 증가하는 실정이다. 최근 연구에 의하면 흑미강은 다른 곡류에 비하여 매우 다양한 flavonoids를 함유하고 있으며, 특히 항염증, 항전이작용 등에서 많은 연구가 진행되고 있는 peonidin 3-glucoside와 cyanidin 3-glucose를 포함하는 anthocyanin계 색소성분이 매우 풍부한 것으로 보고되었다(Hahn et al., 1995; Chung & Lee, 2003; Chen et al., 2006; Abdel-Aal et al., 2006). 그러나 앞서 언급한 바와 같이, 이들 흑미강으로부터 유용 생리활

성 성분인 anthocyanin계 색소성분을 포함한 flavonoids를 추출하기 위해서는 에탄올 및 메탄올 등의 유기용매를 사용하는 추출법이 주를 이루고 있으며, 이와 관련하여 몇몇 연구 결과에 의하면 추출에 사용된 용매의 극성이 증가할수록 유용 성분의 추출률이 높아지며 물 추출물보다는 aqueous methanol과 ethanol을 사용하였을 경우 추출물의 활성이 더욱 증가한다는 것이 보고되었다(Duh et al., 1992; Balasinska & Troszynska, 1998). 이들 연구의 결과는 대기압 하에서의 100°C 이하의 물과 달리 낮은 상대 유전율(1 < ε < 25)을 가진 아임계 상태의 물이 흑미강으로부터 anthocyanin계 색소성분을 포함한 flavonoids의 추출에 매우 효과적인 이유를 설명하고 있다.

추출방법에 따른 항산화 활성의 검정

건조 흑미강 시료로부터 아임계 추출법(SWE) 및 열수, 설탕용액, 에탄올 추출법을 통해 획득된 추출시료의 항산화 활성이 비교 검정되었다. 항산화 활성 분석의 대조군으로 합성 항산화제인 BHT가 이용되었으며 각 추출방법에 따라 획득된 동결 건조 추출물 및 BHT의 전자공여능(electron donating ability, EDA)에 의한 항산화 활성이 Table 1과 같이 관찰되었다. 서로 다른 추출 온도에서 획득된 아임계 추출물의 경우, Table 1에서 보여지는 것과 같이 추출온도 190°C (10분)에서 가장 높은 활성(56.02±3.05%)이 관찰되었으며, 105에서 190°C까지 추출 온도가 높아짐에 따라 그 활성이 각각 39.46±1.83에서 56.02±3.05%로 조금씩 증가하는 경향을 나타내었으나 110°C 이상의 온도에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 또한, 흑미강으로부터 열수, 설탕용액 및 에탄올 추출법을 통해 획득된 추출시료의 항산화 활성 분석 결과, 열수(20.08±1.05%) 및 설탕용액(17.81±0.87%) 추출물에 비하여 에탄올 추출물(87.14±1.14%)에서 매

Table 1. DPPH free radical scavenging activity and relative antioxidant activity of the extracts obtained from black rice bran using different extraction methods

Extraction method	DPPH radical scavenging activity (%) ¹ (of the dried extracts)	Relative antioxidant activity (% / g dried material) ²
BHT (0.2 mg/mL)	89.72±2.03 ³	
Sugar	17.81±0.87	152
Ethanol	87.14±1.14	806
Hot water	20.08±1.05	1,190
SWE 105°C	39.46±1.83	4,891
SWE 110°C	53.21±2.39	6,917
SWE 130°C	54.15±1.97	7,080
SWE 150°C	54.86±2.54	7,450
SWE 170°C	55.77±2.91	8,798
SWE 190°C	56.02±3.05	9,297

¹ DPPH radical scavenging activity (%) = [(ODc-OCs) / ODc] × 100 (ODc; optical density of control, ODs; optical density of sample)

² Relative antioxidant yield (% / g dried material) = DPPH radical scavenging activity of the dried extracts ÷ Solid content of the extracts obtained from 1 g dried black rice bran.

³ Each value is represented as means ± standard deviation. Data are the means of three determinations.

우 높은 활성이 측정되었다. 이러한 결과는 최적 추출조건(190°C, 10분)에서 획득된 아임계 추출물의 항산화 활성(56.02±3.05%)보다 높은 결과로, 대조군으로 사용된 합성 항산화제인 BHT의 높은 항산화 활성(89.72±2.03%)과 거의 유사한 결과였다. 아임계 추출물의 항산화 활성이 대조군인 BHT의 활성에 비해서 상대적으로 낮은 값을 나타낸 것은 흑미강으로부터 획득된 추출물이 정제의 과정을 거치지 않은 1차 추출물로서 항산화 성분의 순도가 BHT에 비해 상대적으로 낮음에 기인한다고 판단된다. 또한 Table 1의 결과와 같이, 각 추출방법 가운데 에탄올 추출물에서 가장 높은 항산화 활성이 검출되었으나, 사용된 흑미강 시료 1g 당 획득된 건조 추출물의 함량이 크게 다르다는 점을 고려한다면 이들로부터 항산화 성분의 추출효율은 큰 차이를 나타내게 된다.

따라서, 각 동결 건조 추출물의 항산화 활성 평가 결과 및 각각의 추출방법에 따른 건조 흑미강 시료 1g 당 획득된 추출물의 건조중량 차이 비교를 통해서 건조 흑미강 1g 당 함유된 항산화 성분의 상대수율(relative yield, %)을 계산하였다. Table 1에서 나타난 것과 같이, 건조 흑미강 1g으로부터 아임계 추출법(SWE) 및 열수, 설탕용액, 에탄올 추출법을 통해 획득된 항산화물의 상대수율(relative yield, %)은 최적 추출조건(190°C, 10분)의 아임계 추출물(9297%/g dried material)에서 가장 높은 것으로 확인되었으며, 이것은 열수(1190%/g dried material) 및 에탄올(806%/g dried material) 추출물의 수율에 비해 대략 7.81배와 11.53배 이상 높은 항산화 성분의 상대 수율을 나타내는 것이다.

요 약

본 연구에서는 흑미의 가공부산물인 흑미강으로부터 기능성 polyphenol 및 flavonoid가 새로운 추출방법인 아임계 추출법을 통해 추출되었고, 열수(80°C), 에탄올, 설탕용액을 이용한 기존 추출법과의 추출효율이 비교 분석되었다. 건조된 흑미강 시료로부터 polyphenols(35.06±1.28 mg QE/g dried material) 및 flavonoids(7.08±0.31 mg QE/g dried material)에 대한 최대 수율이 아임계 추출법(190°C, 1300 psi, 10 min)을 통해 획득되었으며, 이것은 기존 추출법 가운데 가장 높은 수율을 보인 에탄올 추출법을 통한 polyphenols(2.98±0.74 mg QE/g dried material) 및 flavonoids(0.58±0.21 mg QE/g dried material) 수율 대비 11.77배와 12.21배 이상 더 높은 것이었다. 추출방법에 따른 흑미강 추출물의 항산화 활성은 에탄올 추출물에서 가장 높게 관찰되었다. 그러나 흑미강 시료 1g 당 획득된 추출물의 건조중량 차이 비교를 통해서 얻어진 건조 흑미강 1g 당 함유된 항산화 성분의 상대수율(relative yield, %)은 최적조건(190°C, 1,300 psi, 10 min)의 아임계 추출법을 통해 획득된 추출물

에서 가장 높았으며, 이것은 에탄올 추출물의 항산화 성분 상대수율에 비해 대략 11.53배 이상 더 높은 것이다. 이상의 결과들은 아임계 추출법이 흑미강으로부터 기능성 polyphenols 및 flavonoids를 추출하는데 매우 적합한 방법임을 설명하고 있으며, 유기용매 추출법을 포함한 기존의 전통적 추출법에 대한 매우 효과적인 대안임을 제시하고 있다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Abdel-Aal ESM, Young JC, Rabalski I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, purple, and red cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4696-4704.
- Andersson T. 2007. Parameters affecting the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons with pressurised hot water. Academic dissertation, University of Helsinki, Finland.
- Balasincka B, Troszynska A. 1998. Total antioxidative activity of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) cake extract measured in vitro by liposome model and murine L1210 cells. *J. Agric. Food Chem.* 46: 3558-3563.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
- Chen PN, Kuo WH, Chiang CL, Chiou HL, Hsieh YS, Chu SC. 2006. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. *Chem. Biol. Interact.* 163: 218-229.
- Chung YA, Lee JK. 2003. Antioxidative properties of phenolic compounds extracted from black rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 948-951.
- Duh PD, Yeh DB, Yen GC. 1992. Extraction and identification of an antioxidant component from peanut hull. *JAOCS* 69: 818-819.
- Hahn TR, Yoon HH, Paik YS, Kim JB. 1995. Identification of anthocyanidins from Korea pigmented rice. *J. Agric. Chem. Biotechnol.* 38: 581-583
- Hu C, Zawistowski J, Ling W, Kitts DD. 2003. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5271-5277.
- Kong S, Choi Y, Lee SM., Lee J. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 815-819.
- Kuhn J. 1976. In the flavonoids: A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 24: 117-191.
- Lee HJ, Chol EY, Sim YJ, Kim OS, Yoo HJ, Do WN, Kim YH. 2009. Anthocyanin-contents and pigment stability of black soybean by different extract condition and stabilizer. *Korean J.*

- Food Nutr. 22: 150-157.
- Ling WH, Wang LL, Ma J. 2002. Supplementation of the black rice outer fraction to rabbits decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status. *J. Nutr.* 132: 20-26.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114.
- Morimitsu Y, Kubota K, Tashiro T, Kamiya T, Osawa T. 2002. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. *Int. Cong. Ser.* 1245: 503-508.
- Pawliszyn J. 2002. Unified Theory of Extraction. In: *Comprehensive Analytical Chemistry, Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory.* Barcelo D (ed). Elsevier Science BV, Amsterdam, Netherlands, pp. 255-257.
- Pierpoint WS. 1986. Flavonoids in the human diet. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine, Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship.* Alan R. Liss, Inc., New York, USA, pp. 125-140.
- Ra YJ, Lee YW, Kim JD, Row KH. 2001. Supercritical fluid extraction of catechin compounds from green tea. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 16: 327-331.
- Ramos L, Kristenson EM, Brinkman UA. 2002. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *J. Chromatogr. A.* 975: 3-29.
- Rhee CO, Song SJ, Lee YS. 2000. Volatile flavor components in cooking black rice. *Korea J. Food Sci. Technol.* 32: 1015-1021.
- Seo SJ, Choi Y, Lee SM, Kong S, Lee J. 2008. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 129-135.
- Smith RM. 2002. Extractions with superheated water. *J. Chromatogr. A.* 975: 31-46.