

유색미 품종별 유기용매 추출물의 항산화성 및 항변이원성 검정

강미영 · 신수영 · 남석현^{1,*}경북대학교 식품영양학과, ¹아주대학교 생명과학과

Antioxidant and Antimutagenic Activity of Solvent-Fractionated Layers of Colored Rice Bran

Mi Young Kang, Soo Young Shin and Seok Hyun Nam^{1,*}

Department of Food Science and Nutrition, Kyungpook National University

¹Department of Biological Science, Ajou University

Twenty-four cultivars of colored rice seeds were collected inside and outside Korea, and the antioxidant and antimutagenic activity was determined for the solvent-fractionated layers of their bran parts: lipid soluble fraction, pigment containing fraction, and pigment component *per se*. As the serial organic solvent extraction proceeded, the overall tendency of antioxidant activities declined with increased chemical homogeneity of each fraction. This markedly showed the low antioxidant activities of the pigment components from LK 1-3-6-12-1-1 and Gillimhukmi. Even all the colored rice cultivars, with considerable antimutagenic activity in 70% ethanolic extract, exhibited mutagenicity when measured with its pigment containing fraction (wx 124-163-45-7-1-1-1 and LK1B-2-1-1 being the strongest). The pigment content in each colored rice seeds decreased in the order of IR 17491-5-4-3-3 > LK 1-3-6-12-1-1 > LK 1D-2-12-1 > RGS No.336, Elwee. In addition, a substantial difference in both chemical composition of the constituents and its amount could be found between the colored rice and cooking rice cultivars. This revealed that, compared to cooking rice, major components of organic solvent fractions from colored rice probably have long hydrocarbon chain moieties.

Key words: colored rice, organic solvent extraction fraction, pigment fraction, antioxidant activity, antimutagenicity

서 론

국내에서 유통되고 있는 유색미는 흑미, 적미, 흑향미 등이 있으며, 주로 취반 시 혼용하는 잡곡의 형태로 소비되고 있다. 유색미를 이용한 쌀가공 식품 제조에 대한 시도는 있었으나 기대한 만큼의 기호성이 확보되지 않아서^(1,2) 가공식품으로의 개발은 주류를 제외하고는 거의 이루어지고 있지 않은 실정이다. 그러나 유색미는 일반미 품종에 비해서 cyanidin 3-O-β-D-glucoside 및 peonidine 3-O-β-D-glucoside 등^(4,5)의 항산화 성분이 보고된 바와 같이 미강층 추출물의 항산화 활성이 우수하며⁽³⁾, 수원 415 및 상해향혈라 품종에서 유색미 에탄올추출물^(6,7) 및 색소성분⁽⁸⁾의 항산화활성 및 항암활성이 보고되는 등 건강 기능성 쌀 가공 식품소재로서의 가능성이 있는 쌀 품종이다. 본 연구는 생리활성 효과가

보다 강한 유색미 품종을 선별 육종해 내기 위한 기본적인 연구의 일환으로서 국내·외에서 수집·재배한 24종류 유색미를 시료를 대상으로 순차적인 유기용매 추출과정으로 제조한 분획들의 회수율을 비교하고, GC-MS를 이용한 해당성분의 분석과 함께 각 분획의 DPPH radical에 대한 전자공여 능력과 SOS chromotest에 의한 항변이원성의 검정을 각각 수행하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

24종류(Fig. 1)의 유색미를 서울대학교 농학과로부터 제공 받았으며, 대조군으로서 일반미를 시중에서 구입하여 사용하였다. DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ONPG(*o*-nitrophenyl β-D-galactosidase), PNPP(*p*-nitrophenyl phosphate), mitomycin C 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, ampicilline은 영진약품의 주사용 펜브라스를 멸균수로 희석하여 사용하였으며, bactotrypton, yeast extract 등과 같은 세균 배양을 위한 배지용 시약은 Difco-BRL사(Bethesda, MD, USA)의 제품을 사용하였다. SOS chromotest의 지시균

*Corresponding author : Seok Hyun Nam, Department of Biological Science, Ajou University, 5 Wonchon-dong, Paldal-ku, Suwon 442-749, Korea

Tel: 82-31-219-2619

Fax: 82-31-219-1615

E-mail: shnam@ajou.ac.kr

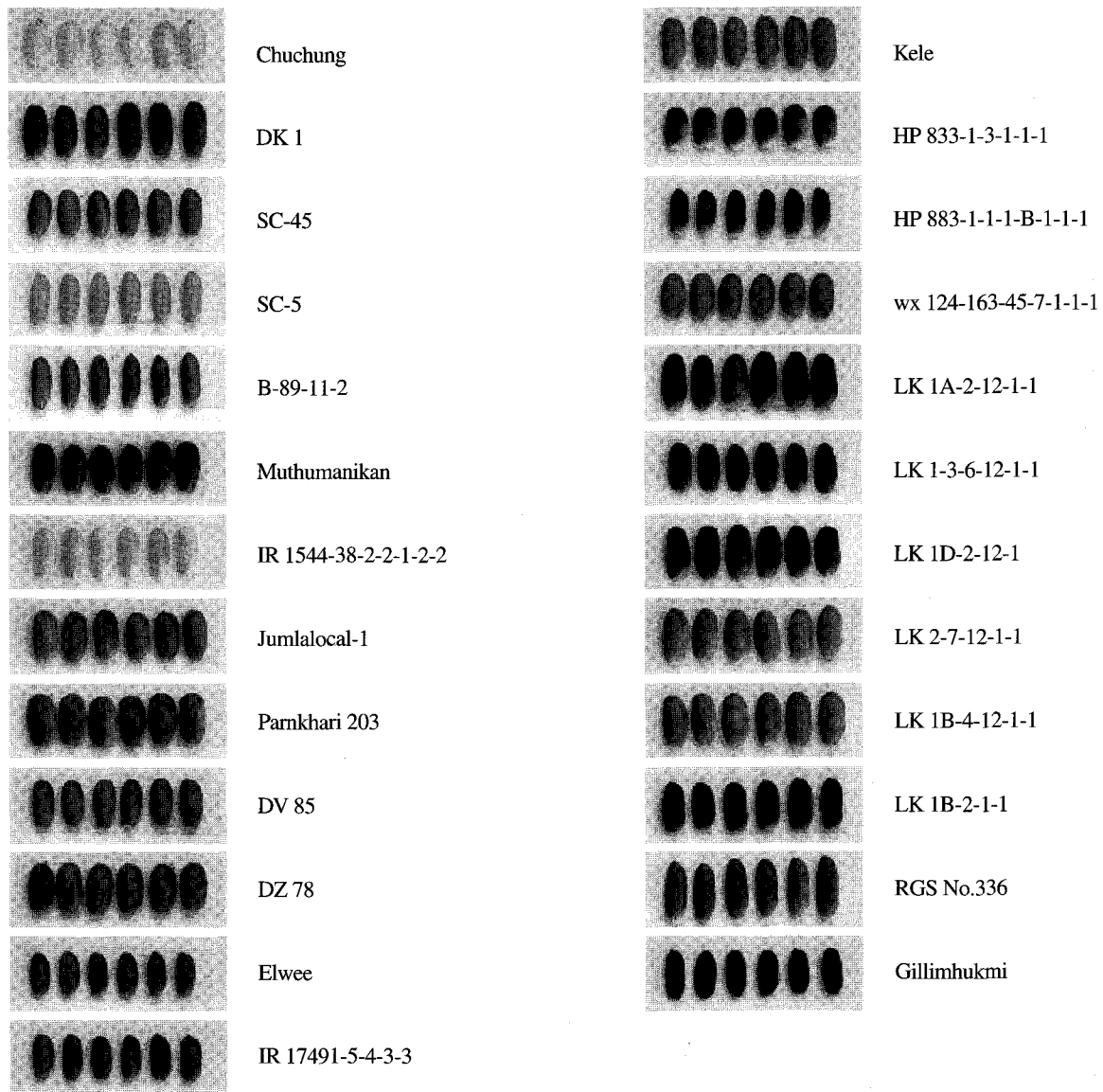


Fig. 1. Tested 24 cultivars of colored rice showing its grain shapes and extent of pigmentation.

주인 *Escherichia coli* PQ 37(plasmid pKM 101, *sfi::Mud* (AP *lac*)*cts*, *lacΔU169*, *mal⁺*, *urvA*, *galE*, *galY*, *Pho^c*, *rfal F⁻*, *thr*, *leu*, *his*, *pyrD*, *thi*, *trp::Muc⁺*, *sr1300::Tn10*)은 서울대학교 천연물화학 연구소에서 분양받았고, 배양배지는 LB broth(1% bactotryptone, 0.5% yeast extract, 1% NaCl, ampicilline*)를 사용하였다.

유기용매 분획별 추출물 및 색소분획의 제조

품종별 유색미 100 g을 도정기(Grain testing mill type PM 50, Satake, Japan)로 각각 3분간 도정하여 미강층을 얻었다. 여기에 미강층 무게 5배량의 유기용매(CH₂Cl₂, 3% TFA-70% MeOH, EtOAc)를 사용하면서 Fig. 2에 나타내는 방법과 같이 순차적인 분획을 실시하였다. 그리고 품종별 유색미의 색소분획은 EtOAc 분획 후의 수용성 분획을 MCI gel(Mitsubishi Chemical Co., Japan) column에 통과시켜 0.1% TFA-

70% MeOH로 용출하면서 색소분획을 모아 농축, 건조시켜 얻었다. 70% 에탄올 추출분획은 회수한 겨층에 5배량의 70% 에탄올을 첨가하여 80°C에서 3시간동안 reflux로 추출하여 제조하였다. 각각 유기용매 추출 분획은 100 mg/mL DMSO의 농도로 만들어 -20°C에서 냉동 보관하면서 항변이원성 측정 시료로서 사용하였다.

DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능

에탄올 1 mL, 시료 10 μL, 100 mM sodium acetate buffer (pH 5.5) 990 μL를 분주한 시험관에 에탄올에 용해시킨 0.5 mM DPPH 0.5 mL를 넣고 교반하여, 30분간 반응을 유도한 후, 잔존 radical 농도를 517 nm에서 측정하였다. 전자공여능 (%)은 [(1-As/Ac)×100]으로 산출하였고, As와 Ac는 각각 실험군과 대조군의 흡광도를 나타내며, 실험군의 흡광도 값은 시료 색소체의 흡광도로 보정한 것을 사용하였다⁹⁾.

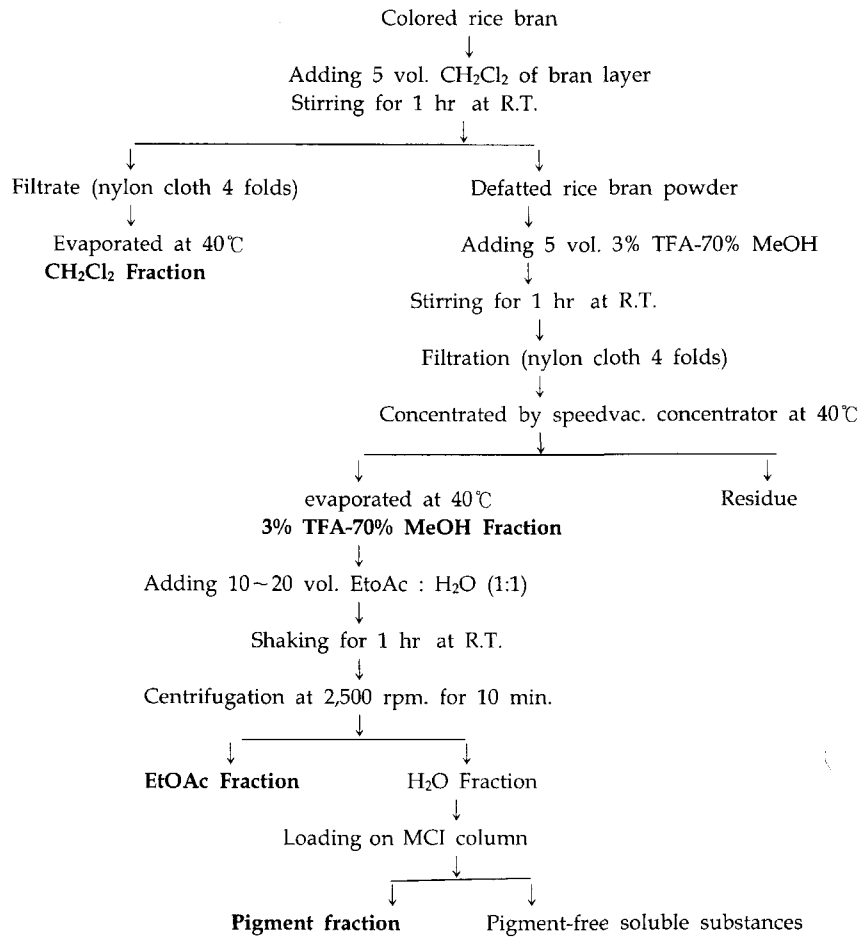


Fig. 2. Flow chart for preparation of serial solvent extract fractions from colored rice bran.

항변이원성

항변이원성은 *E. coli* PQ 37을 지시균주로 사용한 SOS chromotest 기법을 이용하여 조사하였다.⁽¹⁰⁻¹²⁾ 37°C에서 LB배지에 하루밤 진탕배양한 배양액을 동일한 액체배지로 10배수 희석하여, 37°C에서 2시간 진탕배양하였다. 배양 후 액체배지로 다시 4배수 희석한 배양액 0.4 mL를 취한 다음, 2 mg의 시료와 6 ng/mL가 되도록 변이원인 mitomycin C를 첨가한 다음, 최종 반응용량을 액체배지로 4 mL가 되도록 조정하여 37°C에서 2시간 재차 진탕배양하였다. 배양이 끝난 배양액 0.2 mL에 1.8 mL의 B buffer(60 mM Na₂HPO₄, 10 mM KCl, 40 mM NaH₂PO₄, 1 mM MgSO₄, 50 mM β-mercaptoethanol, pH 7.0)와 섞고, 여기에 1.6 mg의 ONPG를 첨가하여, 37°C에서 30분간 반응시킨 다음, Na₂CO₃로 반응을 종료시켰다. 420 nm에서 발색하는 반응액의 흡광도를 측정하여 첨가된 시료가 유도한 β-galactosidase의 활성을 측정하였고, 세균이 발현하는 alkaline phosphatase의 활성으로 보정하여 β-galactosidase 활성의 유도값(R)을 결정하였다.

성분분석

순차적 유기용매 추출로 얻어진 분획의 성분을 Hewlett-Packard사의 HP 6890 series GC system을 이용하여 gas chromatography로 분석하였다. 분리관은 DB-5(30 m×0.24 mm, film thickness: 0.25 μm)를 사용하였고, 오븐 온도는

50°C에서 2분간 유지한 다음 250°C까지 분당 10°C씩 승온 후, 250°C에서 10분간 유지하였다. 질량분석기(MS)는 JMS-700(JEOL, Japan)을 이용하여 ion source chamber 온도는 230°C, ionizing voltage는 70 eV, scanning mass range는 50-500 amu 등의 조건으로 측정하였다. 각 성분의 mass spectrum을 얻은 후, HP59970C Chemstation data system에 의한 Wiley 138 data base의 검색 및 문헌상의 mass spectral data^(13,14)의 RI와 비교하며 구성성분들을 확인하였다.

결과 및 고찰

유기용매 분획별 회수율과 색소체 함량의 품종변이

품종별 유색미 100 g씩 으로부터 정미시간을 동일하게 하였을 때 분리되는 거의 양을 측정된 결과, Table 1에 나타내는 바와 같이 일반미 품종인 추정과 비슷한 회수율을 보이는 Elwee, SC-5, Kele를 제외하고는 모든 품종의 유색미에서 회수되는 겨층의 양이 많게 나타났다. 그리고 이들 겨층으로부터 염화메틸렌 분획을 실시한 결과, 유색미 품종 중에서 RG No.336 > DV 85 > 길립흑미 > LK 1-3-6-12-1 > LK 1A-2-12-1-1 등 5품종의 순으로 염화메틸렌에 의해서 분리되는 지용성 성분의 양이 일반미 품종인 추정보다 많았다. 반면, 6 품종은 지용성 성분의 함량이 낮게 나타났는데, 그 순서는 Kele < SC-5 < DK 1 < Parnkhari 203 < SC-45 < DZ 78이었다.

Table 1. The amounts of bran layers and each solvent-extracted fractions from 100 g rice seeds

(units: g)

| | Bran layer | CH ₂ Cl ₂ fraction | 3% TFA-70% MeOH fraction | | |
|-----------------------|------------|--|--------------------------|----------------|------------------|
| | | | | EtOAc fraction | Pigment fraction |
| Chuchung | 16.0 | 1.31 | 3.20 | 0.033 | - |
| DK 1 | 25.3 | 0.793 | 3.99 | 0.092 | 0.080 |
| SC-45 | 21.4 | 0.878 | 4.31 | 0.012 | 0.116 |
| SC-5 | 16.6 | 0.685 | 1.51 | 0.012 | 0.053 |
| B-89-11-2 | 21.7 | 1.15 | 4.30 | 0.055 | 0.112 |
| Muthumanikan | 25.5 | 1.20 | 4.85 | 0.059 | 0.147 |
| IR 1544-38-2-2-1-2-2 | 22.0 | 1.19 | 3.13 | 0.055 | 0.137 |
| Jumlocal-1 | 25.1 | 1.30 | 4.62 | 0.070 | 0.102 |
| Pamkhari 203 | 24.3 | 0.814 | 4.20 | 0.037 | 0.067 |
| DV 85 | 21.0 | 1.59 | 4.09 | 0.055 | 0.104 |
| DZ 78 | 26.4 | 0.939 | 3.10 | 0.036 | 0.089 |
| Elwee | 14.3 | 1.00 | 2.82 | 0.117 | 0.151 |
| IR 17491-5-4-3-3 | 28.4 | 1.26 | 4.78 | 0.061 | 0.269 |
| Kele | 14.7 | 0.558 | 2.19 | 22.0 | 0.074 |
| HP 833-1-3-1-1-1 | 32.2 | 1.11 | 5.23 | 0.147 | 0.101 |
| HP 883-1-1-1-B-1-1-1 | 23.6 | 1.26 | 4.12 | 0.059 | 0.136 |
| wx 124-163-45-7-1-1-1 | 31.3 | 1.29 | 4.82 | 0.060 | 0.100 |
| LK 1A-2-12-1-1 | 30.8 | 1.43 | 4.51 | 0.140 | 0.131 |
| LK 1-3-6-12-1-1 | 27.3 | 1.47 | 4.63 | 0.150 | 0.173 |
| LK 1D-2-12-1-1 | 24.8 | 1.18 | 4.39 | 0.113 | 0.158 |
| LK 2-7-12-1-1 | 22.2 | 1.22 | 4.08 | 0.066 | 0.110 |
| LK 1B-4-12-1-1 | 22.5 | 1.14 | 3.39 | 0.059 | 0.119 |
| LK 1B-2-1-1 | 25.7 | 1.30 | 4.11 | 0.064 | 0.126 |
| RGS No.336 | 30.6 | 1.68 | 3.41 | 0.025 | 0.151 |
| Gillimhukmi | 25.9 | 1.49 | 5.70 | 0.080 | 0.124 |

염화 메틸렌 처리에 의해서 탈지시킨 잔사에 3% TFA-70% MeOH 처리를 하여 색소성분을 포함하는 분획을 얻고, 이 분획으로부터 다시 EtOAc 처리에 의해서 남아있는 지용성 성분을 분획한 후, MCI column chromatography에 의해서 색소체 분획을 얻었다. 유색미 품종에 따라 3% TFA-70% MeOH 추출에 의한 분획의 양에 차이가 있었으며, 염화 메틸렌 처리 분획의 회수율과는 유의적으로 정의 상관성이 있었다($p < 0.001$). 유색미 품종별 색소의 함량은 IR 17491-5-4-3-3 > LK 1-3-6-12-1-1 > LK 1D-2-12-1-1 > RGS No. 336, Elwee 등의 순이었고, 3% TFA-70% MeOH 처리분획의 회수율과는 상관성이 없었으나, 염화 메틸렌 처리 분획의 회수율과는 유의적으로 정의 상관성이 있었다($p < 0.05$).

유기용매 추출분획별 항산화 효과

DPPH radical에 대한 전자공여능에 있어서, 70% 에탄올 추출물에 비해서, 순차적인 유기용매 추출과정으로 얻어진 각 분획들의 경우는 모두 낮은 수치를 나타내고 있는 것으로 볼 때, 쌀겨 추출물의 정제가 진행됨에 따라 항산화성이라는 생리활성 효과는 감소되는 경향을 보였다(Table 2). 이 사실은 거층 70% 에탄올 추출물의 전자공여능으로 표현된 항산화 효과가 어떤 특정 항산화 성분의 독점적인 작용에 의한 결과로 혼합된 다양한 성분들 상호간의 부가적인 효과에 의하여 나타난 것일 가능성을 제시하고 있다. 유색미 품종들 중에서는 HP 883-1-1-1-B-1-1-1, HP 833-1-3-1-1-1, LK 2-7-

12-1-1의 에탄올 추출물의 항산화 효과가 다른 품종들에 비해서 높았다. 유색미의 경우, 배당체의 형태인 색소 성분들이 항산화 효과를 나타내는 중요한 성분임을 제시하는 결과들이 보고되어 왔다^(4,5). 이에 본 연구에서는 유색미의 색소체 분획을 MCI column chromatography에 의해서 분리하여 이들 분획의 항산화 효과를 품종간 비교하였으나, 모든 품종에서 색소체 분획은 70% 에탄올 추출물들보다 오히려 낮은 항산화 활성을 나타내고 있었다. 이 사실은 유색미가 가지는 높은 항산화 활성이 색소분자와 더불어 이들과 함께 혼재하는 수용성 분자의 작용일 가능성을 시사한다고 보겠다. 특히 유색미 품종 중에서 LK 1-3-6-12-1-1 및 길림흑미의 색소성분의 경우, 항산화 활성이 특이적으로 낮았는데, 이와 같은 특성을 보이는 품종들을 대상으로 보다 집중적인 연구를 수행한다면 유색미 색소 성분에 있어서 새로운 항산화 성분의 확인동정과 함께 이를 이용한 건강기능성 쌀의 육성지표의 개발도 가능할 것으로 생각된다.

유기용매 추출분획별 항변이원성

위에서 설명된 유색미 24품종과 일반미 품종인 추청의 70% 에탄올 추출물들과, 순차적 유기용매 추출에 의해서 얻어진 각 분획들에 대해서 직접변이원 mitomycin C의 작용에 대한 항변이원성을 비교하였다(Table 3). 우선 70% 에탄올 추출물의 경우 유색미 품종들의 항변이원성은 LK 1-3-6-12-1-1 > Pamkhari 203 > DZ 78의 순서로 비교군인 추청보다 뚜렷하

Table 2. Scavenging effect of various solvent extracts on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) free radicals

| | 70% EtOH Extract | | CH ₂ Cl ₂ Fr. | | 3% TEA-70% MeOH Fr. | | EtOAc Fr. | | Pigment Fr. | |
|-----------------------|----------------------------|------|-------------------------------------|-------|----------------------------|-------|----------------------------|-------|----------------------------|-------|
| | OD at 517 nm ¹⁾ | % | OD at 517 nm ¹⁾ | % | OD at 517 nm ¹⁾ | % | OD at 517 nm ¹⁾ | % | OD at 517 nm ¹⁾ | % |
| Chuchung | 0.145 ± 0.007 | 86.3 | 0.319 ± 0.025 | 70.87 | 0.325 ± 0.003 | 70.32 | 0.238 ± 0.005 | 78.21 | - | - |
| DK 1 | 0.130 ± 0.020 | 87.7 | 0.413 ± 0.032 | 61.52 | 0.201 ± 0.007 | 81.91 | 0.179 ± 0.011 | 83.85 | 0.290 ± 0.006 | 74.01 |
| SC-45 | 0.109 ± 0.025 | 89.7 | 0.336 ± 0.086 | 68.70 | 0.236 ± 0.005 | 78.78 | 0.250 ± 0.008 | 77.52 | 0.249 ± 0.001 | 77.63 |
| SC-5 | 0.153 ± 0.011 | 85.5 | 0.394 ± 0.046 | 63.29 | 0.518 ± 0.051 | 53.42 | 0.298 ± 0.014 | 73.15 | 0.243 ± 0.010 | 78.23 |
| B-89-11-2 | 0.138 ± 0.029 | 87.0 | 0.373 ± 0.110 | 65.25 | 0.200 ± 0.006 | 81.98 | 0.175 ± 0.006 | 84.26 | 0.424 ± 0.006 | 61.96 |
| Muthumanikan | 0.138 ± 0.026 | 86.9 | 0.442 ± 0.106 | 58.77 | 0.238 ± 0.004 | 78.60 | 0.221 ± 0.004 | 80.14 | 0.321 ± 0.001 | 71.18 |
| IR 1544-38-2-2-1-2-2 | 0.131 ± 0.008 | 87.7 | 0.476 ± 0.110 | 55.60 | 0.507 ± 0.003 | 54.34 | 0.321 ± 0.009 | 71.13 | 0.140 ± 0.007 | 87.43 |
| Jumlatocal-1 | 0.145 ± 0.024 | 86.3 | 0.318 ± 0.024 | 70.34 | 0.263 ± 0.005 | 76.37 | 0.194 ± 0.002 | 82.57 | 0.344 ± 0.003 | 69.17 |
| PamKhari 203 | 0.114 ± 0.019 | 89.3 | 0.364 ± 0.006 | 66.04 | 0.250 ± 0.006 | 77.48 | 0.229 ± 0.003 | 79.39 | 0.292 ± 0.002 | 73.77 |
| DV 85 | 0.119 ± 0.018 | 88.7 | 0.404 ± 0.030 | 62.36 | 0.240 ± 0.007 | 78.42 | 0.189 ± 0.003 | 82.97 | 0.275 ± 0.007 | 75.31 |
| DZ 78 | 0.107 ± 0.020 | 89.9 | 0.443 ± 0.074 | 58.72 | 0.246 ± 0.006 | 77.90 | 0.204 ± 0.003 | 81.60 | 0.320 ± 0.003 | 71.32 |
| Elwee | 0.110 ± 0.014 | 89.6 | 0.510 ± 0.103 | 52.47 | 0.313 ± 0.006 | 71.85 | 0.199 ± 0.002 | 82.05 | 0.485 ± 0.008 | 56.46 |
| IR 17491-5-4-3-3 | 0.129 ± 0.004 | 87.8 | 0.400 ± 0.046 | 62.73 | 0.280 ± 0.009 | 74.80 | 0.192 ± 0.002 | 82.73 | 0.287 ± 0.003 | 74.24 |
| Kele | 0.135 ± 0.019 | 87.3 | 0.253 ± 0.016 | 76.40 | 0.247 ± 0.030 | 77.74 | 0.167 ± 0.002 | 85.00 | 0.315 ± 0.004 | 71.70 |
| HP 833-1-3-1-1-1 | 0.056 ± 0.003 | 94.8 | 0.424 ± 0.031 | 60.45 | 0.642 ± 0.066 | 42.24 | 0.161 ± 0.001 | 85.52 | 0.298 ± 0.005 | 73.25 |
| HP 883-1-1-1-B-1-1-1 | -0.162 ± 0.007 | 115 | 0.291 ± 0.029 | 72.90 | 0.451 ± 0.043 | 59.42 | 0.195 ± 0.003 | 82.45 | 0.176 ± 0.006 | 84.20 |
| wx 124-163-45-7-1-1-1 | 0.159 ± 0.009 | 85.0 | 0.309 ± 0.008 | 71.22 | 0.241 ± 0.029 | 78.32 | 0.185 ± 0.002 | 83.38 | 0.335 ± 0.008 | 69.93 |
| LK 1A-2-12-1-1 | 0.117 ± 0.019 | 89.0 | 0.287 ± 0.001 | 73.27 | 0.239 ± 0.025 | 78.46 | 0.241 ± 0.004 | 78.27 | 0.470 ± 0.004 | 57.81 |
| LK 1-3-6-12-1-1 | 0.117 ± 0.027 | 88.9 | 0.306 ± 0.038 | 71.46 | 0.402 ± 0.040 | 63.82 | 0.293 ± 0.002 | 73.65 | 0.899 ± 0.003 | 19.32 |
| LK 1D-2-12-1 | 0.145 ± 0.020 | 86.3 | 0.276 ± 0.008 | 74.30 | 0.270 ± 0.023 | 75.74 | 0.253 ± 0.002 | 77.21 | 0.449 ± 0.007 | 59.74 |
| LK 2-7-12-1-1 | 0.091 ± 0.015 | 91.4 | 0.323 ± 0.015 | 69.92 | 0.257 ± 0.037 | 76.91 | 0.207 ± 0.005 | 81.35 | 0.196 ± 0.003 | 82.41 |
| LK 1B-4-12-1-1 | 0.207 ± 0.102 | 80.4 | 0.334 ± 0.001 | 68.89 | 0.457 ± 0.062 | 58.91 | 0.194 ± 0.001 | 82.52 | 0.207 ± 0.003 | 81.40 |
| LK 1B-2-1-1 | 0.123 ± 0.014 | 88.4 | 0.301 ± 0.004 | 71.97 | 0.229 ± 0.023 | 79.43 | 0.201 ± 0.001 | 81.87 | 0.363 ± 0.007 | 67.46 |
| RGS No.336 | 0.131 ± 0.015 | 87.6 | 0.347 ± 0.002 | 67.68 | 0.293 ± 0.029 | 73.63 | 0.186 ± 0.001 | 83.29 | 0.191 ± 0.001 | 82.83 |
| Gillimhukmi | 0.112 ± 0.009 | 89.4 | 0.371 ± 0.002 | 65.44 | 0.352 ± 0.030 | 68.35 | 0.400 ± 0.005 | 63.96 | 0.699 ± 0.013 | 37.23 |

¹⁾Each value is reported as mean ± SD (n=3).

Table 3. Antimutagenic effect of various solvent-extracts on mitomycin C-induced mutation with *E. coli* PQ 37 as an indicator cell

| | 70% EtOH Extract | | CH ₂ Cl ₂ Fr. | | 3% TEA-70% MeOH Fr. | | EtOAc Fr. | | Pigment Fr. | |
|-----------------------|------------------|-----------------------|-------------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-----------|-----------------------|-------------|-----------------------|
| | R-factor | Antimuta-genicity (%) | R-factor | Antimuta-genicity (%) | R-factor | Antimuta-genicity (%) | R-factor | Antimuta-genicity (%) | R-factor | Antimuta-genicity (%) |
| Negative control | 0.140 | 100 | 0.123 | 100 | | | | | | |
| Positive control | 1.36 | 0 | 1.16 | 0 | | | | | | |
| Chuchung | 1.30 | 4.92 | 1.07 | 8.59 | 1.16 | -0.03 | 1.16 | 0.120 | - | - |
| DK 1 | 1.43 | -5.74 | 1.04 | 12.1 | 1.41 | -24.1 | 1.27 | -10.4 | 1.52 | -34.4 |
| SC-45 | 1.23 | 10.7 | 1.13 | 3.16 | 1.34 | -17.5 | 1.29 | -12.1 | 1.60 | -42.4 |
| SC-5 | 1.37 | -0.81 | 1.06 | 9.68 | 1.25 | -8.79 | 1.17 | -0.86 | 1.41 | -23.7 |
| B-89-11-2 | 1.30 | 4.92 | 1.19 | -2.46 | 1.51 | -34.1 | 1.21 | -4.80 | 1.48 | -31.1 |
| Muthumanikan | 1.21 | 12.3 | 1.12 | 3.92 | 1.45 | -28.6 | 1.56 | -39.3 | 1.64 | -47.0 |
| IR 1544-38-2-2-1-2-2 | 1.34 | 1.64 | 1.14 | 2.42 | 1.35 | -18.5 | 1.40 | -23.7 | 1.36 | -19.7 |
| Jumjalocal-1 | 1.25 | 9.02 | 1.12 | 3.78 | 1.33 | -16.1 | 1.39 | -21.9 | 1.39 | -22.4 |
| Pamkharri 203 | 1.04 | 26.2 | 1.16 | -0.13 | 1.50 | -32.8 | 1.35 | -17.9 | 1.67 | -49.0 |
| DV 85 | 1.22 | 11.5 | 1.14 | 2.40 | 1.43 | -26.5 | 1.52 | -34.6 | 1.67 | -49.6 |
| DZ 78 | 1.14 | 18.0 | 1.18 | -1.86 | 1.48 | -30.6 | 1.27 | -10.4 | 1.53 | -36.2 |
| Elwee | 1.28 | 6.56 | 1.19 | -3.03 | 1.39 | -21.9 | 1.59 | -41.8 | 1.40 | -23.2 |
| IR 17491-5-4-3-3 | 1.51 | -12.3 | 1.18 | -1.53 | 1.39 | -21.9 | 1.23 | -6.99 | 1.56 | -38.7 |
| Kele | 1.33 | 2.46 | 1.12 | 4.19 | 1.51 | -33.1 | 1.64 | -46.2 | 1.57 | -39.5 |
| HP 833-1-3-1-1-1 | 1.28 | 6.56 | 1.08 | 8.24 | 2.05 | -86.1 | 1.58 | -41.0 | 1.59 | -42.1 |
| HP 883-1-1-1-B-1-1-1 | 1.22 | 11.5 | 1.08 | 7.39 | 1.42 | -25.0 | 1.74 | -56.2 | 1.45 | -28.5 |
| wx 124-163-45-7-1-1-1 | 1.38 | -1.64 | 1.11 | 5.28 | 1.67 | -49.3 | 1.45 | -27.8 | 1.87 | -68.9 |
| LK 1A-2-12-1-1 | 1.29 | 5.74 | 1.10 | 5.50 | 1.65 | -47.1 | 1.80 | -61.8 | 1.66 | -48.9 |
| LK 1-3-6-12-1-1 | 0.90 | 37.7 | 1.18 | -1.77 | 1.63 | -46.1 | 1.74 | -55.9 | 1.54 | -37.1 |
| LK 1D-2-12-1 | 1.38 | -1.64 | 1.11 | 5.29 | 1.70 | -52.3 | 1.45 | -28.5 | 1.67 | -49.7 |
| LK 2-7-12-1-1 | 1.36 | 0 | 1.15 | 0.77 | 1.98 | -79.9 | 1.63 | -45.3 | 1.50 | -33.3 |
| LK 1B-4-12-1-1 | 1.51 | -12.3 | 1.13 | 2.73 | 1.64 | -46.5 | 1.65 | -47.6 | 1.53 | -35.9 |
| LK 1B-2-1-1 | 1.26 | 8.20 | 1.17 | -0.79 | 1.71 | -53.1 | 1.76 | -58.6 | 1.80 | -61.8 |
| RGS No.336 | 1.27 | 7.38 | 1.11 | 5.15 | 1.34 | -17.5 | 1.69 | -51.4 | 1.53 | -36.2 |
| Gillimbukmi | 1.45 | -7.38 | 1.18 | -1.75 | 1.81 | -62.7 | 1.48 | -31.1 | 1.69 | -51.6 |

Table 4. The major components identified in each solvent-extracted fractions from normal and colored type rices

| | Normal type rice (Chuchung) | Colored type rices |
|---|--|--|
| CH ₂ Cl ₂ Fraction | 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol (C ₁₄ H ₂₂ O): 45% | Hexadecanoic acid (C ₁₆ H ₃₂ O ₂): 20~90% |
| | Dibutyl ester-1,2-benzenedicarboxylic acid (C ₁₆ H ₂₂ O ₄): 25% | 2-Hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl-9-octadecenoic acid (C ₂₁ H ₄₀ O ₄): 20~70% |
| | 1-Mercapto-2-heptadecanone (C ₁₇ H ₃₄ OS): 12% | 9-Hexadecenyl ester-9-octadecenoic acid (C ₃₄ H ₆₄ O ₂): 5~60% |
| 3% TFA- 70% MeOH Fraction | Methyl ester-9,12-octadecadienoic acid (C ₁₉ H ₃₄ O ₂): 46.7% | Methyl ester-9,12-octadecadienoic acid (C ₁₉ H ₃₄ O ₂): 25~75% |
| | 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol (C ₁₄ H ₂₂ O): 13.0% | Methyl ester-hexadecanoic acid (C ₁₇ H ₃₄ O ₂): 10~29% |
| | 4-Vinyl-2-methoxy-phenol (C ₉ H ₁₀ O ₂): 12.5% | Hexadecyl ester-9-octadecenoic acid (C ₃₄ H ₆₆ O ₂): 0~23% |
| EtOAc Fraction | Methyl ester-9,12-octadecadienoic acid (C ₁₉ H ₃₄ O ₂): 44.4% | Methyl ester-9,12-octadecadienoic acid (C ₁₉ H ₃₄ O ₂): 0~77% |
| | Dibutyl ester-1,2-benzenedicarboxylic acid (C ₁₆ H ₂₂ O ₄): 18.5% | 1-(1-Hydroxy-2-naphthyl)acennaphthylene (C ₂₂ H ₁₄ O): 0~59% |
| | Dicyclohexy ester-1,2-benzendicarboxylic acid(C ₂₀ H ₂₆ O ₄): 9.1% | 9,12-Octadecadienoic acid (C ₁₈ H ₃₂ O ₂): 0~31% |

게 높은 것들이 있는 반면, IR 17491-5-4-3-3, LK 1B-4-12-1-1, DK 1 등과 같이 오히려 변이원성을 나타내는 품종들도 있었다. 이 결과는 유색미 품종에 따라서 항변이원성 뿐만 아니라 변이원성을 나타내는 품종들도 있다는 전보⁽¹⁵⁾의 연구 결과와도 일치하고 있었다. 그러나 이러한 유색미를 유기용매에 의해서 순차적인 분리를 시행하여 주로 지용성 물질이 함유되어 있는 염화 메틸렌 용해 분획 및 색소분획을 포함하는 지질용해 분획 이외의 분획(3% TFA-70% MeOH 추출분획), 그리고 MCI column을 통과시켜서 얻은 색소성분만을 분리한 분획들의 항변이원성은 Table 3에서도 알 수 있듯이 염화메틸렌 분획의 경우 약간의 항변이원성을 나타내는 유색미 품종도 있지만, 70% 에탄올 첨가하여 80°C에서 reflux 하면서 얻은 에탄올 추출물과는 품종별 항변이원성이 서로 다른 경향이 있었다. 그리고 색소를 포함하는 염화메틸렌 용출분획 이외의 분획 및 색소분획에서는 모든 품종의 유색미에서 오히려 변이원성을 강하게 나타내고 있었다. 이러한 결과도 앞서 서술하였던 항산화성의 경우와 같은 맥락으로, 항변이원성은 색소성분 이외의 수용성 성분에 의한 것임을 알 수 있어 이에 대한 심도 깊은 연구가 필요할 것으로 본다. 본 연구에서는 MCI column을 통과시킨 후 반복되는 수세과정에서 다량의 buffer를 사용하므로 용량이 너무 많았고 또 24품종을 전부 비교·검토하기에는 너무나 번거로워서, 색소 이외의 분획에 대한 검토는 이번의 검정 과정에서 선발된 2~3 종류의 유색미만을 시료로 검토할 예정이다. 본 연구 결과를 토대로 장차 유색미에 함유되어 있는 항변이원성 물질과 변이원성 물질의 구분을 위한 연구와 더불어 변이원성 물질의 함량을 줄이고 항변이원성 물질의 함량은 증가시키는 방향으로의 육종 연구를 진행시킴으로써, 건강증진을 위한 식단의 작성에 유색미의 적극적인 활용을 위한 다양한 연구가 진행되어야 할 것으로 본다.

유기용매 추출분획의 주성분 특성

유색미 및 일반미 품종인 추정의 순차적 유기용매에 의해서 분획한 성분을 GC-MS에 의해서 구성성분들을 확인하였다. Table 4는 유색미 품종들에서 확인된 성분 중에서 함량의 우위를 보이는 3종류의 성분들을 함량 순서대로 정리한

것으로서, 각각의 분획에서 제시하고 있는 3종류의 성분들이 합이 거의 70% 이상을 차지하고 있었다. 또한 유기용매에 의해서 분획되는 성분들의 조성 및 함량이 유색미 품종들과 일반미 품종간에는 상당히 차이가 있었는데, 대체로 일반미 품종들에 비해서 유색미 품종들로부터는 유기용매에 의해서 분자의 탄화수소 길이가 긴 성분들이 주된 성분으로 용출되는 뚜렷한 특징을 보이고 있었다. 이러한 차이가 항산화 및 항변이원성으로 표출되는 생리활성 효과와 어떠한 관계가 있는지에 대해서는 보다 다양한 유색미 품종의 확보와 분석, 그리고 유색미를 이용한 기능성 품종 육성을 통하여 더욱 심도있게 연구해야 한다고 본다. 본 연구의 결과를 포함한 이 방면에 대한 보다 광범위하고 세심한 연구를 통하여 장차 벼 품종의 육성에 있어서 항산화성이나 항변이원성과 같은 기능성을 예찰에 필요한 화학적 지표의 확립에 크게 기여할 수 있을 것으로 생각한다.

요 약

국내·외에서 수집 재배한 24품종 유색미를 순차적인 유기용매 처리에 의해서 지용성 분획과 색소를 함유하는 분획, 색소성분 만의 분획을 얻었고 각 분획이 가지는 항산화성 및 항변이원성을 검정하였다. 유기용매 추출이 진행되어 분획 성분의 조성이 간단해질수록 품종마다 차이는 있지만 항산화성은 오히려 약화되는 경향이 있었는데, 특히 LK 1-3-6-12-1-1과 길림흑미의 항산화 활성이 상당히 낮았다. 70%에탄올 추출물에서는 항변이원성을 나타내던 유색미 품종들도 색소분획을 포함하는 분획들에서는 모든 품종에서 오히려 변이원성을 나타내고 있었으며, 특히 wx 124-163-45-7-1-1 및 LK 1B-2-1-1 등에서 강한 변이원성이 관찰되었다. 유색미 품종별 색소의 함량은 IR 17491-5-4-3-3 > LK 1-3-6-12-1-1 > LK 1D-2-12-1 > RGS No.336, Elwee 등의 순서로 나타났다. 유기용매에 의해서 분획되는 성분들의 조성 및 함량이 유색미 품종들과 일반미 품종간에는 상당히 차이가 있음을 알 수 있었으며, 일반미 품종에 비교하면 유색미 품종들의 유기용매에 의해서 용출되는 주된 성분 분자들은 긴 탄화수소를 가진 성분들이었다.

감사의 글

본 연구는 2000년~2002년도 과학재단 특정기초 연구비 지원(과제번호: R01-1999-00165)에 의해서 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

문헌

1. Kim, D.W., Eun, J.B. and Rhee, C.O. Cooking condition and textural changes of cooked rice added with black rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 562-568 (1998)
2. Kim, S.S., Kim, S.Y. and Lee, W.J. Characteristics of germinated colored rice as a potential raw material of Shikhe. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 1092-1096 (1998)
3. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S. Chemical studies on novel antioxidants I. Isolation, fractionation and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.* 36: 723-727 (1988)
4. Choi, S.W., Kang, W.W. and Osawa, T. Isolation and identification of anthocyanin pigments in black rice. *Foods Biotechnol.* 3: 131-135 (1994)
5. Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Kawakishi, S., Choi, S.W. and Osawa, T. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O- β -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2407-2411 (1994)
6. Kang, M.Y., Choi, Y.H., Nam, S.H. Inhibitory mechanism of colored rice bran extract against mutagenicity induced by chemical mutagen Mitomycin C. *Agric. Chem. Biotechnol.* 39: 424-429 (1996)
7. Nam, S.H. and Kang, M.Y. *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts carcinogenicity. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40: 307-312 (1997)
8. Choi, S.W., Nam, S.H. and Choi, H.C. Antioxidative activity of ethanolic extracts of rice brans. *Foods Biotechnol.* 5: 305-309 (1996)
9. Yen, C.G. and Chen, H.Y. Antioxidative activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43: 27-32 (1995)
10. Quillardet, P., Huisaman, O. and Hofnung, M. SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79: 5971-5980 (1982)
11. Kang, M.Y., Choi, Y.H. and Nam, S.H. Inhibitory mechanism of colored rice bran extract against mutagenicity induced by chemical mutagen Mitomycin C. *Agric. Chem. Biotechnol.* 39: 424-429 (1996)
12. Nam, S.H. and Kang, M.Y. *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts carcinogenicity. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40: 307-312 (1997)
13. Adama, R.P. Identification of Essential oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Co., IL, USA (1995)
14. Kovarts, E. Gas chromatographic characterization of organic substance in the retention index system. *Adv. chromatogr.* 1: 229-247 (1965)
15. Nam, S.H. and Kang, M.Y. Comparison of effect of rice bran extracts of the colored rice cultivars on carcinogenesis. *Agric. Chem. Biotechnol.* 41: 78-83 (1998)

(2003년 4월 8일 접수; 2003년 7월 21일 채택)