

쌀(백미, 현미) 시료로부터 고해상도 질량 분석 기반의 페놀산 유도체 동정 및 정량 평가

라혜민 · 권령하 · 김주형 · 김소아 · 조수목* · †김현웅**
국립농업과학원 농식품자원부 연구원, *국립농업과학원 농식품자원부 농업연구관,
**국립농업과학원 농식품자원부 농업연구사

Identification and Quantification of Phenolic Acid Derivatives from Three Korean White and Brown Rice Samples Based on High-Resolution Mass Spectrometry

Hyemin Na, Ryeong Ha Kwon, Ju Hyung Kim, So Ah Kim, Soo-Muk Cho* and †Heon-Woong Kim**

Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea

**Senior Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea

***Associate Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea

Abstract

Reported positive ion fragmentation of phenolic acid derivatives in rice (*Oryza sativa* L.) were summarized based on the literature. A total of eight phenolic acids (4 derivatives of ferulic acid, 3 derivatives of sinapic acid and *p*-coumaric acid) were isolated and identified from rice (raw and steamed) using UPLC-DAD-QToF/MS. Results revealed that 6-*O*-feruloylsucose was the major component with 3'-*O*-sinapoylsucose being tentatively identified in *Oryza sativa* L. for the first time as a new hydroxycinnamoyl derivative in rice grains. In our study, raw brown rice had the highest phenolic acid contents with Samkwang showing higher phenolic acid content than Saeilmi and Sindongjin (12.41 vs. 7.89 and 3.10 mg/100 g dry weight, respectively). Of all varieties, brown rice had higher phenolic acid contents than white rice. These contents decreased considerably when rice was steamed whereas, *p*-coumaric acid and ferulic acid contents were increased. Additionally, contents of rice (raw and steamed) can be used as a fundamental report for new rice varieties.

Key words: white rice, brown rice, phenolic acid, UPLC-DAD-QToF/MS

서 론

쌀(*Oryza sativa* L.)은 전세계적으로 소비되는 주요 곡물 중 하나로서 도정 여부에 따라 크게 백미 및 현미로 분류된다. 백미는 비타민, 아미노산, 미네랄, 섬유질 등의 영양성분을 포함하여 기초 영양 대사에 도움을 줄 수 있다(Liu 등 2019). 반면에, 현미는 낮은 감각적 품질로 인해 거의 소비되지 않았으나, 백미의 영양성분 이외에도 페놀산, 플라보노이드 및 감마오리자놀 등의 기능 성분을 함유하고 있어 전곡의 섭취는 암, 당뇨, 심혈관질환과 같은 성인병의 예방에

도움을 줄 수 있다(Xu 등 2001; Anderson JW 2003; Panlasigui & Thompson 2006; Kim 등 2020). 특히, 페놀산은 대부분 식품에 포함된 2차 대사 산물로서 건강 증진에 대한 관심이 증가함에 따라 페놀산은 식품 섭취에서 필요한 성분으로 인식되고 있다.

쌀 페놀산의 기존 연구에 따르면, 국외에서는 인도, 브라질 및 일본의 품종별 및 도정 처리별 쌀 페놀산의 조성 및 함량 평가 연구가 수행되었으며, vanillic acid, ferulic acid, sinapic acid, *p*-coumaric acid 등의 성분이 보고되었다. 특히, *p*-coumaric acid 및 ferulic acid은 주요 화합물로 확인되

† Corresponding author: Heon-Woong Kim, Associate Researcher, Dept. of Agro-Food Resources, NIAS, RDA, Wanju 55365, Korea. Tel: +82-63-238-3570, Fax: +82-63-238-3842, E-mail: ksharrier@korea.kr

었으며, 이들 성분을 포함한 백미 및 현미의 총 페놀산 함량 (mg/100 g, 건조중)은 각각 0.13~51.20 mg과 2.6~65.9 mg 범주를 나타냈다(Tian 등 2005; de Mira 등 2009; Setyaningsih 등 2016a). 추가적으로 이들 성분의 배당체가 확인되었으며 특히, 한 개 이상의 ferulic acid 및 sinapic acid가 sucrose에 결합된 성분이 보고되었다. 하지만 기존의 쌀 페놀산 함량 평가 연구는 주로 비색법을 사용한 총 페놀화합물 함량 및 *p*-coumaric acid 및 ferulic acid 등의 주요 성분 함량만이 보고되었으며(Huang & Ng 2012; Setyaningsih 등 2016b), sinapoyl-sucrose 및 feruloyl-sucrose의 자세한 정성 및 정량 정보는 확인되지 않았다.

일반적으로 쌀은 열처리를 거친 밥, 떡, 가공 쌀 제품 형태로 소비된다. 밥은 주된 쌀의 소비 형태로, 쌀을 찌는 과정에서 페놀화합물의 함량은 생것 대비 몇 배 감소하였으며(Chmiel 등 2018; Liu 등 2020), 열처리 방법에 따라 차이가 있으나, 전반적인 곡류 페놀화합물 함량의 감소가 확인되었다(Ragae 등 2014). 하지만 기존의 곡류 연구는 총 페놀화합물 함량 정보에 국한되어 있으며, 다양한 품종의 백미와 현미의 개별 페놀산 조성 및 함량에 대한 연구가 필요한 실정이다.

본 연구는 국립농업과학원에서 2018년에 발간한 RDA 기능성분 DB 2.0 페놀산편과 국내외 연구 문헌을 참고하여 쌀에 함유된 페놀산의 정보를 수집하였으며(Kim 등 2018), 이를 기반으로 UPLC-DAD-QToF/MS 분석의 구조 동정을 거쳐, 국내 쌀 품종 3종에 대한 백미와 현미의 개별 페놀산 조성 및 함량을 평가하여 비교하였으며, 국내 품종 소비를 촉진하기 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 연구에 사용된 쌀은 세 품종으로 삼광, 새일미, 신동진 품종의 백미와 현미로 국내에서 재배된 쌀 생것 및 밥을 동결건조 후 분말화 하여 test sieve(mesh 600 μ m, Chunggye sieve, Gunpo, Korea) 처리하여 분석시료로 사용하였다. 사용한 쌀 중 신동진 백미 및 현미는 유가농협(Daegu, Korea), 새일미 백미 및 현미는 각각 의령농협(Uiryeong, Korea) 및 화천프레시(Hwacheon, Korea), 오대 백미 및 현미는 (썬)이푸른(Namyangju, Korea) 및 철원미곡(Cheorwong, Korea)에서 2021년 수확한 제품을 구매하였다. 밥 처리조건은 국가표준 식품성분표 및 Ren 등(2016)을 참고하여 3번 세수 후 30분 침지하여 1 kg의 쌀에 1,500 mL의 증류수를 넣은 후 40분간 밥솥(CR-1713R, CUCKOO, Siheung, Korea)을 사용하여 조리하였다. 개별 페놀화합물 유도체 확인을 위한 ferulic acid

및 *p*-coumaric acid는 Extrasynthese(Cenay cedex, France)에서 구매하였으며 내부표준정량법을 위해 사용된 2,4,5-trimethoxycinnamic acid(페놀산 내부표준품)은 Sigma-Aldrich Co. 제품을 사용하였다. 추출 및 이동상 용매로 사용된 acetonitrile, methanol, water는 Fisher Scientific에서, formic acid는 Junsei Chemical Co.로부터 구입하였다.

2. 페놀산 추출

페놀산 추출은 Kim 등(2019)의 방법을 참고하였으며, 쌀 생것 및 밥의 건조분말 시료 1 g을 페놀산용(methanol:water:formic acid=80:15:5, v/v/v) 혼합용매 10 mL과 함께 50 mL 용량 conical tube에 넣고 상온에서 30분 동안 진탕 추출하였다. 추출액을 원심분리(2,898 \times g, 10 $^{\circ}$ C, 15 min)한 후 0.2 μ m syringe filter(Whatman International, Maidstone, Kent, UK)로 여과하였으며 시료 내 불순물을 제거하고 페놀화합물을 효율적으로 분리하기 위해 HyperSep C18(Thermo Scientific, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였다(Lee 등 2018a). 해당 SPE 칼럼에 methanol 3 mL, water 6 mL 순으로 흘려주어 활성화 시킨 뒤 상기 여과액 0.5 mL과 water 6.5 mL을 섞어 loading 하였다. 내부표준물질 용액(2,4,5-trimethoxycinnamic acid, 25 ppm) 0.5 mL과 water 6.5 mL을 섞은 후 loading 하였으며 water 6 mL을 흘려 세척 하였다. 그 후 1% formic acid in methanol 5 mL을 흘려 흡착된 페놀산 성분을 최대한 용출하였으며, 용출액을 질소가스로 완전히 농축하였다. 농축액을 0.25 mL의 해당 추출 용매로 재용해하여 0.2 μ m syringe filter로 여과하여 UPLC-DAD-QToF/MS로 분석하였다.

3. UPLC-DAD-QToF/MS 분석

쌀로부터 개별 페놀산을 동정 및 정량하기 위해 CORTECS UPLC T3(2.1 \times 150 mm I.D., 1.6 μ m; Waters, Wexford, Ireland) 칼럼 및 CORTECS UPLC T3 VanGuardTM(2.1 \times 50 mm I.D., 1.6 μ m; Waters) 보호 칼럼과 더불어 액체크로마토그래피(ExionLCTM AD, AB SCIEX)와 연결된 Q-ToF 질량분석기(X500R QTOF, AB SCIEX, Framingham, MA, USA)를 이용하여 분석하였다(Lee 등 2018a; Kim 등 2019). 검출 파장은 210~600 nm(대표파장: 페놀산 320 nm)에서 수행되었으며, 컬럼 오븐온도는 30 $^{\circ}$ C, 유속은 0.35 mL/min 이었다. 이동상으로는 페놀산 분석을 위해 용매 A(water:formic acid=99.5:0.5, v/v)와 용매 B(acetonitrile:formic acid=99.5:0.5, v/v)를 사용하였다. 용매 구배조건에 있어 B를 5%로 시작하여 5분까지 7%, 10분까지 10%, 18분까지 15%, 32분까지 20%, 40분까지 75%로 증가시켰고 2분 동안 유지하였다. 이어서 45분까지 50%로 급격하게 증가시키고 2분

동안 유지한 후 60분까지 다시 2%로 감소시키고 5분 동안 안정화하였다(총 60분). 특히 페놀산 개별 성분의 함량은 내부표준물질(2,4,5-trimethoxycinnamic acid, 50 ppm)의 면적과 각 성분의 면적을 1:1로 비교한 상대적 값을 적용시켰으며, 이는 mg/100 g, 건조중으로 표기하였다. 또한 질량분석기를 이용한 페놀화합물 질량패턴분석은 positive ion mode로 진행하였다. 질량분석조건으로, spray voltage은 5,500 V, declustering potential은 80 V, collision energy는 15 V로 각각 설정하였다. Ion source gas 및 desolvation 온도는 50°C 및 500°C로 설정하였으며, 질량 스캔 범위는 페놀산은 m/z 100~1,000으로 설정하였다. 페놀화합물 개별 성분은 관련 문헌과 이전의 기능성분 data base을 참고하여, 각 성분의 질량단편이온 패턴 분석결과와 비교하여 구조 동정되었다.

4. 통계 처리

실험은 3회 반복하여 실시하였으며, 시료 간의 평균과 표준편차를 산출하고 처리 간의 유의적인 차이를 검증하기 위하여 One-way ANOVA로 분석하였다. Duncan's multiple range test로 유의수준 5%에서 시료 간의 차이를 분석하였고

($p=0.05$), 통계분석은 SPSS통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 27.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 국내 재배된 현미 및 백미의 페놀산 유도체 분리 및 동정

국내에서 재배된 백미 및 현미의 3품종(신동진, 삼광, 새일미)의 시료로부터 UPLC-DAD-QToF/MS를 이용한 고해상도 질량 분석 결과와 페놀산 data base 및 이전의 문헌에서 제시된 쌀의 페놀산 질량 이온 및 UV 스펙트럼, 분자량 및 용출 시간 등을 비교하여 총 hydroxycinnamic acid 계열 8종(ferulic acid 유도체 4종, sinapic acid 유도체 3종, *p*-coumaric acid)의 페놀산 성분을 구조 동정하였다(Table 1, Fig. 1). 양이온 모드로 분석 시, 모분자 확인에 도움이 되는 첨가 이온 H^+ (1 Da), Na^+ (23 Da) 및 K^+ (39 Da)가 확인되었으며 그 중 Na^+ 가 크게 관찰되었다(Lee 등 2018b). 아글리콘에 해당하는 ferulic acid 및 sinapic acid는 각각 $177[Fe+H-H_2O]^+$,

Table 1. Characterization of eight phenolic acids from Korean rice samples (white and brown) using UPLC-DAD-QToF/MS

Peak No.	Individual phenolic acids	RT (min)	Molecular formula	ESI(+)-QToF/MS (experimental ions, m/z)			
				$[M+H]^+$	Error (ppm)	$[M+Na]^+$	Fragmentation of $[M+H]^+$
1 ¹⁾	3'-O-Sinapoylsucrose	16.19	$C_{23}H_{32}O_{15}$	549	0.2	571	$369[M+H-Fruc-H_2O]^+$, $207[Sin+H-H_2O]^+$, $175[Sin+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $147[Sin+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$
2	<i>p</i> -Coumaric acid	18.21	$C_8H_8O_3$	165	-0.1	187	$147[M+H-H_2O]^+$, $119[M+H-H_2O-CO]^+$
3	6-O-Feruloylsucrose	19.16	$C_{22}H_{30}O_{14}$	519	0.7	541	$357[M+H-Fruc]^+$, $339[M+H-Fruc-H_2O]^+$, $195[Fruc+H]^+$, $177[Fruc+H-H_2O]^+$, $145[Fe+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $117[Fe+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$
4	6-O-Sinapoylsucrose	20.36	$C_{23}H_{32}O_{15}$	549	-1.5	571	$387[M+H-Fruc]^+$, $369[M+H-Fruc-H_2O]^+$, $207[Sin+H-H_2O]^+$, $175[Sin+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $147[Sin+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$
5 ²⁾	Ferulic acid	21.72	$C_{10}H_{10}O_4$	195	0.1	217	$177[Fruc+H-H_2O]^+$, $145[Fe+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $117[Fe+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$
6	3',6-Di-O-Sinapoylsucrose	37.25	$C_{34}H_{42}O_{19}$	755	1.6	777	$387[M+H-Sin-Fruc$ or $Glu]^+$, $387[M+H-Sin-Fruc$ or $Glu-H_2O]^+$, $207[Sin+H-H_2O]^+$, $175[Sin+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $147[Sin+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$
7	3'-O-Sinapoyl-6-O-Feruloylsucrose	37.86	$C_{33}H_{40}O_{18}$	725	0.5	747	$369[M+H-Fer-Fruc]^+$, $207[Sin+H-H_2O]^+$, $177[Fruc+H-H_2O]^+$, $175[Sin+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $145[Fe+H-H_2O-CH_3OH]^+$
8	3',6-Di-O-Feruloylsucrose	38.43	$C_{32}H_{38}O_{17}$	695	1.9	717	$357[M+H-Fruc]^+$, $339[M+H-Fruc-H_2O]^+$, $195[Fruc+H]^+$, $177[Fruc+H-H_2O]^+$, $145[Fe+H-H_2O-CH_3OH]^+$, $117[Fe+H-H_2O-CH_3OH-CO]^+$

All samples analyzed in positive ESI-ionization mode (m/z , $[M+H]^+$) using UPLC-DAD-QToF/MS; $[M+Na]^+$ and $[M+K]^+$ adducts presented. Each peak determined by comparing elution order, UV spectra, and mass fragmentation.

¹⁾ New compound tentatively identified in rice samples.

²⁾ Further confirmed in comparison with authentic standards.

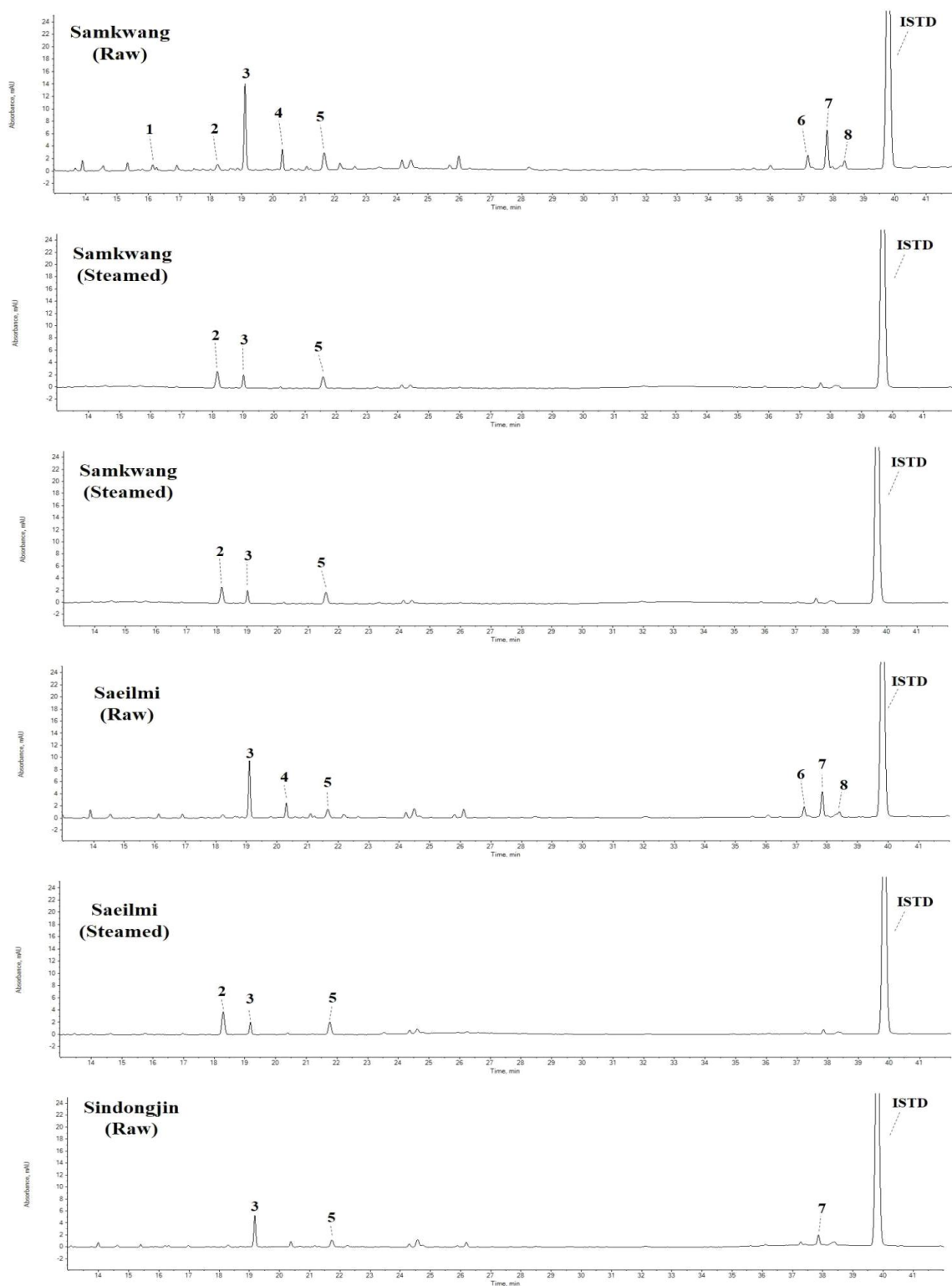


Fig. 1. UPLC chromatogram of 8 hydroxycinnamoyl derivatives (wavelength at 320 nm) from brown rices. 1: 3'-*O*-Sinapoylsucose, 2: *p*-Coumaric acid, 3: 6-*O*-Feruloylsucose, 4: 6-*O*-Sinapoylsucose, 5: Ferulic acid, 6: 3',6-Di-*O*-sinapoylsucose, 7: 3'-*O*-Sinapoyl-6-*O*-feruloylsucose, 8: 3',6-Di-*O*-Feruloylsucose, ISTD (internal standard): 2,4,5-Trimethoxycinnamic acid 50 ppm.

$145[\text{Fer}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$, $117[\text{Fer}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}]^+$ 및 $207[\text{Sin}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $175[\text{Sin}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}]^+$, $147[\text{Sin}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{OH}-\text{CO}]^+$ 의 특징적인 양이온 질량 패턴을 나타냈다. 또한, Verardo 등(2016) 및 Nakano 등(2019)의 연구에서도 쌀겨와 현미의 주요 페놀산인 6-*O*-feruloylsucose 및 6-*O*-sinapoylsucose와 이 성분들의 유도체인 3',6-di-*O*-feruloylsucose, 3',6-di-*O*-sinapoylsucose 및 3'-*O*-sinapoyl-6-*O*-feruloylsucose 등의 mono- and di-hydroxycinnamoyl glycoside가 보고되었다.

Mono-hydroxycinnamoylsucose 유도체(peak 1, 3 및 4)는 앞서 언급한 ferulic acid와 sinapic acid에 sucrose가 결합된 단편 질량 이온 패턴이 검출되었으며 이전 논문의 MS 이온 패턴과 NMR을 비교하여 확인되었다. Peak 3은 쌀에서 분리된 주요 페놀산으로 모분자 이온 m/z 519[M+H]⁺ 및 ferulic acid 유도체의 특징적인 이온이 확인되어 feruloyl glycoside로 추정되었다. 또한, fructose가 제거된 $357[\text{M}+\text{H}-\text{Fruc}]^+$ 및 $\text{H}_2\text{O}(18 \text{ Da})$ 이 잘려 나간 $339[\text{M}+\text{H}-\text{Fruc}-\text{H}_2\text{O}]^+$, $321[\text{M}+\text{H}-\text{Fruc}-2\text{H}_2\text{O}]^+$ 의 단편 질량 이온 패턴이 검출되었으며 Tian 등(2004)의 연구결과와 유사하게 ferulic acid(peak 5)보다 앞서 용출되었다. 따라서, glucose의 6-OH 위치에 ferulic acid가 결합한 6-*O*-feruloylsucose로 추정하였다. Peak 1 및 4는 모분자 이온 m/z 549[M+H]⁺이 확인된 이성질체로, peak 3과 유사한 단편 질량 이온 패턴이 검출되었으나 모분자 이온에서 30 Da 차이를 확인했다(Fig. 2). 이에 따라, ferulic acid의 5-OH 위치에 methoxyl group(30 Da)이 결합된 sinapic acid 및 특정 단편 이온이 확인되었다. Peak 3(19.16 min) > peak 4(20.36 min) > peak 5(21.72 min) 순으로 용출되었고, 이는 이전 연구에서 확인된 용출 순서와 유사하여 peak 4는 6-*O*-sinapoylsucose로 추정된다(Tian 등 2004). 반면에 Peak 1은 당의 결합 위치가 다른 peak 4의 이성질체로, 3',6-di-*O*-sinapoylsucose에서 유도될 수 있다. 또한, 양이온 질량 패턴에서 peak 1은 모분자($549[\text{M}+\text{H}]^+$)에서 glucose가 제거된 m/z 369[M+H-Glu]⁺

$\text{H}_2\text{O}]^+$ 가 크게 검출되었으며 peak 4의 경우 아글리콘인 sinapic acid와 관련된 단편 이온이 크게 확인되었다(Fig. 2). 따라서 이전 문헌과 이온 패턴을 비교하였을 때 3'-*O*-sinapoylsucose(siniriose A6)로 추정되었으며 쌀에서 처음 확인된 신규 화합물로 중국 약재인 Renshen-Yangrongng pill과 *Polygala tenuifolia*의 뿌리에서 보고된바 있다(Xu 등 2018; Jiang 등 2023).

Di-hydroxycinnamoylsucose acid 유도체(peak 6-8)는 peak 1, 3 및 4에서 파생된 화합물로 각각 m/z 755[M+H]⁺, 725[M+H]⁺ 및 695[M+H]⁺으로 모분자 이온이 확인되었다(Table 1). 각 성분의 단편 질량 이온 패턴을 확인하여 sucrose에 두 개의 ferulic acid 그리고/또는 sinapic acid가 결합된 성분으로 추정되었으며, 기존 연구의 용출시간 및 NMR과 비교하였다(Nakano 등 2019). 따라서, Peak 6-8은 3',6-di-*O*-sinapoylsucose, 3-*O*-sinapoyl-6-*O*-feruloylsucose, 3',6-di-*O*-feruloylsucose로 구조 동정되었다.

2. 국내 재배된 현미 및 백미의 페놀산 유도체 조성 및 함량 비교

국내산 쌀에서 분리된 페놀산은 주로 ferulic acid 및 sinapic acid 기반의 화합물로 확인되었고, 총 페놀산(mg/100 g, 건조중)의 경우 품종(삼광, 새일미 및 신동진)에 따라 생것 기준으로 현미 및 백미에서 각각 12.41, 7.89, 3.10 및 0, 0.48, 0.85의 함량을 나타냈다(Table 2). 시료 내 개별 유도체에 대한 정량을 위해 추출 전처리 시 안정적인 내부표준물질 2,4,5-trimethoxycinnamic acid를 이용하였으며, 함량 계산 시 relative response factor를 고려하지 않았다(Ju 등 2018).

페놀산 함량은 삼광(현미, 생것)에서 12.41 mg으로 가장 높았으며, 대부분의 백미에서는 거의 검출되지 않았다. 또한 품종 및 가공조건에 따른 유의적인 차이가 있었다(Table 2). 일본산 고시히카리 및 타까나리 품종에서 확인된 주요 성분

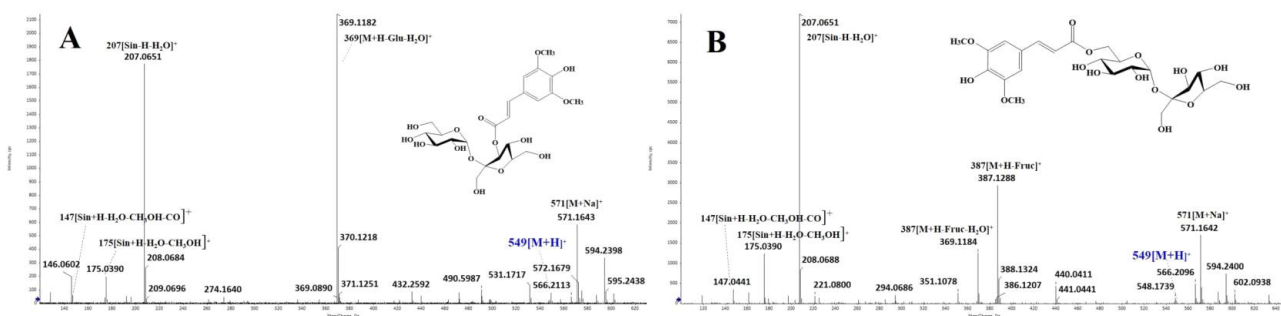


Fig. 2. Postive fragmentation of the 2 hydroxycinnamoyl derivatives identified from rice samples (white and brown). A. 3'-*O*-sinapoylsucose (new), B. 6-*O*-sinapoylsucose. Glu: glucose, Fruc: fructose, Sin: sinapic acid.

Table 2. Contents of phenolic acids in Korean rice samples (white and brown) of three cultivars (mg/100 g, dry weight)

Peak No.	Phenolic acids (mg/100 g dry weight)											
	Brown Rice						White Rice					
	Samkwang		Saecilmi		Sindongjin		Samkwang		Saecilmi		Sindongjin	
	Raw	Steamed	Raw	Steamed	Raw	Steamed	Raw	Steamed	Raw	Steamed	Raw	Steamed
1 ¹⁾	0.36±0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0.69±0.02 ^d	1.75±0.02 ^b	n.d.e	2.61±0.01 ^a	n.d.	1.18±0.06 ^c	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3 ²⁾	5.00±0.10 ^a	0.74±0.02 ^d	3.47±0.20 ^b	0.76±0.01 ^d	1.83±0.07 ^c	0.72±0.01 ^d	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.61±0.06 ^c	n.d.
4	0.96±0.03 ^a	n.d.	0.77±0.08 ^b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5	1.63±0.04 ^a	1.08±0.02 ^b	0.82±0.03 ^c	1.13±0.01 ^b	0.63±0.03 ^d	0.96±0.01 ^{bc}	n.d.	n.d.	0.48±0.02 ^{de}	0.47±0.01 ^{de}	0.45±0.01 ^{ef}	n.d.
6	0.79±0.06 ^a	n.d.	0.65±0.06 ^b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
7	2.37±0.12 ^a	n.d.	1.77±0.15 ^b	n.d.	0.64±0.03 ^e	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	0.61±0.02 ^a	n.d.	0.41±0.02 ^b	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Total	12.41±0.41	3.57±0.05	7.89±0.54	4.50±0.03	3.10±0.13	2.86±0.09	0.00	0.00	0.48±0.02	0.47±0.01	1.07±0.06	0.00

Each value calculated as means±S.D. (n=3) using internal standard (2,4,5-trimethoxycinnamic acid).

¹⁾ New compound tentatively identified in rice samples.

²⁾ Further confirmed in comparison with authentic standards.

Different small letters in the same row with mean values (n=3) indicate a significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

^{a-d}1: 3'-*O*-Sinapoylsucrose, 2: *p*-Coumaric acid, 3: 6-*O*-Feruloylsucrose, 4: 6-*O*-Sinapoylsucrose, 5: Ferulic acid, 6: 3',6-Di-*O*-Sinapoylsucrose, 7: 3'-*O*-Sinapoyl-6-*O*-feruloylsucrose, 8: 3',6-Di-*O*-Feruloylsucrose, n.d.: not detected.

6-*O*-feruloylsucrose 및 3'-*O*-sinapoyl-6-*O*-feruloylsucrose는 본 연구 결과와 유사하였으나, 3',6-di-*O*-feruloylsucrose 및 3',6-di-*O*-sinapoylsucrose와 같은 미량성분의 함량에 대해서는 보고되지 않았다(Nakano 등 2019). 또한 sucrose에 결합한 hydroxycinnamic acid의 수에 따라 mono- 타입(peaks 1, 3 및 4)이 di- 타입(peaks 6-8)보다 함량이 높게 나타났다.

본 연구에서 현미는 백미에 비해 약 10배 이상 함량이 높았으며 국내산 백미에서 분리된 페놀산은 0.13~0.15 mg/100 g(건조중)으로 보고되었다(Park 등 2012). 또한, *p*-coumaric acid 및 ferulic acid는 각각 현미(0~1.18 및 0), 백미(0.63~1.63 및 0~0.48)에서 Vichapong 등(2010)이 제시한 함량(mg/100g, 건조중)과 유사하였다(*p*-coumaric acid 및 ferulic acid, 백미: 각각 0.22 및 1.18; 현미: 각각 0.86 및 3.53). 반면, 타이완에서 재배된 쌀의 페놀산 함량(mg/100 g gallic acid equivalents, 건조중)은 백미 및 현미에서 각각 6~22 mg 및 24~45 mg(Huang & Ng 2012)이며, 중국산 백미에서는 34.31~51.20 mg/100 g(건조중)으로 본 연구 결과와 차이가 있다(Yu 등 2016). Alves 등(2016)에 의하면 페놀산 유도체는 대부분 쌀에 결합된 형태이며 추출 용매 및 과정에 의해 함량에 영향을 준다.

현미(생것)에서 ferulic acid 기반 화합물은 전체에서 70% 이상 차지하고 있으며 특히, 6-*O*-feruloylsucrose (peak 3) 및 3'-*O*-Sinapoyl-6-*O*-feruloylsucrose(peak 7)는 현미의 주요 페놀산으로 각각 40%, 20%의 비중으로 확인되었다. 쌀에서 확인된 미량성분인 3',6-di-*O*-sinapoylsucrose(peak 6) 및

3',6-di-*O*-feruloylsucrose(peak 8)는 개별 함량을 처음 제시하였다. 또한, 3'-*O*-sinapoylsucrose(peak 1)은 쌀에서 처음 구조 동정된 화합물로 삼광(현미, 생것)에서 0.36 mg 확인되었으며 다른 품종에서는 확인되지 않았다.

가공처리에 따른 쌀의 기능성분의 함량은 열처리가 10분 이상이 되면 초기의 페놀산 함량에 비해 절반으로 줄었으며 그 이후로 점점 감소한다고 보고된바 있다(Setyaningsih 등 2016b). 유사하게 삼광 및 새일미는 각각 12.41 mg에서 3.57 mg로, 7.89 mg에서 4.50 mg로 절반 이상 손실이 있었으나 신동진은 3.10 mg에서 2.86 mg로 큰 함량 변화를 나타내지 않았다. 특히 현미는 밥 짓는 과정 중 *p*-coumaric acid (peak 2)와 ferulic acid (peak 5)의 함량이 증가하였으며 그 외의 다른 유도체들은 함량이 급격히 감소하였다. 이는 현미에서 ferulic acid, *p*-coumaric acid 및 free glucose는 증가하였으나 총 페놀산 함량은 줄었다는 Zeng 등(2019)의 결과와 유사하였다. 이처럼 불용성 페놀산인 ferulic acid 및 *p*-coumaric acid가 가열 처리 동안 세포벽의 열파괴로 인해 축적되는 현상으로 판단된다(Lou 등 2014).

현미로 밥을 짓는 중 ferulic acid(peak 5)의 함량은 증가 또는 유지되었으나 sucrose가 결합된 주요 화합물인 6-*O*-feruloylsucrose(peak 3)의 함량은 급격히 감소했으며 미량성분인 3'-*O*-Sinapoyl-6-*O*-feruloylsucrose(peak 7) 및 3',6-di-*O*-feruloylsucrose(peak 8)는 검출되지 않았다. 이와 유사하게 sinapoyl-sucrose 유도체인 6-*O*-sinapoylsucrose(peak 4) 및 3',6-di-*O*-sinapoylsucrose(peak 6)도 검출되지 않았다. 이는

열처리 과정에서 sucrose가 제거되는 Woo 등(2009)의 결과와 일치하며 당이 제거되어 아글리콘의 함량이 증가한 것으로 판단된다. 백미의 경우 생것과 밥에서 페놀산이 거의 검출되지 않았으며 도정 과정에서 미강이 제거되어 페놀산이 손실되었다(Kim 등 2004).

쌀은 전 세계 인구의 절반이 주식으로 섭취하며 소비되는 칼로리의 1/5 이상을 제공하므로 소비 빈도 및 섭취량이 상당하다(Vlachos & Arvanitoryannis 2008). 따라서, 페놀산의 함량이 미량임에도 품종 및 가공처리에 따른 구체적인 함량 정보는 매우 중요하다. 페놀산은 오랫동안 항균, 항바이러스, 항염, 항암과 관련하여 사람들로 부터 많은 관심을 받아 왔으며 최근 기능성 검증의 범위가 확대되고 있다. 본 연구에서는 ferulic acid 및 sinapic acid 유도체가 주로 확인되었으며 배당체에 해당하는 feruloyl-sucrose 및 sinapoyl-sucrose 유도체를 포함하여 총 8개의 페놀산 화합물을 정성 및 정량하였다. 그 중 6-O-feruloylsucrose는 전체 함량의 약 40%를 차지하는 주요 성분으로 기존 연구 결과와 유사하게 쌀을 대표하는 주요 페놀산으로서 보고되었다(Tian 등 2004). 백미는 현미에서 도정 중 미강이 제거됨에 따라 페놀산이 손실되었다. 백미에서 제거된 미강은 페놀산 고함유 소재로 화장품 및 사료로 활용될 수 있다. 추후 쌀에서 분리된 페놀산 유도체를 중심으로 수확시기, 재배 방법, 저장·유통 및 가공 조건에 따른 변화 연구가 추가적으로 필요하며, 국내 육성종이거나 보급되고 있는 쌀을 대상으로 페놀산 고함유 자원을 선별하고 외국에서 재배되는 우수 품종과 비교가 필요하다.

요약 및 결론

쌀에서 보고된 페놀산의 이전 문헌과 기능성분 페놀산 data base를 바탕으로 ToF/MS를 통해 검출된 양이온 질량 이온 패턴을 비교하여 개별 페놀산 유도체의 조성 및 함량 정보를 제공하고자 하였다. 국내산 쌀 3품종(삼광, 새일미, 신동진)에서 hydrociannamic acid 8종을 분리·동정하였다. 개별 유도체는 아글리콘인 ferulic acid, sinapic acid 그리고 *p*-coumaric acid와 sucrose의 3'-OH와 6-OH 위치에 ferulic acid 및 sinapic acid가 결합된 화합물이다. 이들 중 6-O-feruloylsucrose와 3'-O-Sinapoyl-6-O-feruloylsucrose는 쌀의 주요 페놀산이며 이미 보고된 페놀산 유도체 이외에 3'-O-sinapoylsucrose(siniriose A6)가 확인되었고 이는 쌀에서 처음 보고된 새로운 화합물이다. 총 페놀산 함량(mg/100 g, 건조중)은 3품종(삼광, 새일미 및 신동진)에 따라 생것 기준으로 현미 및 백미에서 각각 12.41, 7.89, 3.10 및 0, 0.48, 1.07의 함량을 나타냈다. 또한 밥을 짓는 과정 중 대다수의 페놀

산 유도체들의 함량은 감소했으나 *p*-coumaric acid 및 ferulic acid의 함량은 특이적으로 유지되거나 증가하였다. 미량성분인 3',6-di-O-sinapoylsucrose 및 3',6-di-O-feruloylsucrose의 쌀에서 확인되는 개별 함량을 처음으로 제공했다. 백미는 현미 도정 중 미강이 손실되면서 대부분의 페놀산이 제거되었다. 따라서 백미에서 제거된 페놀산 고함유 소재인 미강을 화장품, 동물의 사료 등으로 활용할 수 있다. 쌀의 페놀산 유도체 정보는 향후 정확한 구조 동정 및 함량 평가를 돕고 나아가 기능성 소재로서의 활용 가능성을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원의 농업과학기반기술 연구사업(과제번호: PJ016718012023) 전문연구원 및 학·연협동과정 지원사업에 의해 수행한 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

References

- Alves GH, Ferreira CD, Vivian PG, Monks JLF, Elias MC, Vanier NL, de Oliveira M. 2016. The revisited levels of free and bound phenolics in rice: Effects of the extraction procedure. *Food Chem* 208:116-123
- Anderson JW. 2003. Whole grains protect against atherosclerotic cardiovascular disease. *Proc Nutr Soc* 62:135-142
- Chmiel T, Saputro IE, Kusznierevicz B, Bartoszek A. 2018. The impact of cooking method on the phenolic composition, total antioxidant activity and starch digestibility of rice (*Oryza sativa* L.). *J Food Process Preserv* 42:e13383
- de Mira NVM, Massaretto IL, Pascual CSCI, Marquez UML. 2009. Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J Food Compos Anal* 22:405-409
- Huang SH, Ng LT. 2012. Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan. *J Food Compos Anal* 26: 122-127
- Jiang XL, Zhu Y, Ma GF, Liu P, Chen LL. 2023. Qualitative and quantitative analysis of major components of Renshen-Yangrong Pill by UPLC-LTQ/Orbitrap/MS and UPLC-MS/MS. *J Pharm Biomed Anal* 227:115276

- Ju WT, Kwon OC, Kim HB, Sung GB, Kim HW, Kim YS. 2018. Qualitative and quantitative analysis of flavonoids from 12 species of Korean mulberry leaves. *J Food Sci Technol* 55:1789-1796
- Kim HW, Lee SH, Asamenew G, Lee MK, Lee S, Park JJ, Choi Y, Lee SH. 2019. Study on phenolic compounds in lettuce samples cultivated from Korea using UPLC-DAD-QToF/MS. *Korean J Food Nutr* 32:717-729
- Kim JB, Kim HW, Lee MK, Lee SH, Asamenew G, Lee S, Kim YJ, Lee SH, Choi Y, Park JJ, Yoo SM, Han GJ. 2018. RDA DB 2.0: Phenolic Acids. National Institute of Agricultural Sciences
- 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* 33:149-158
- Kim SR, Ahn JY, Lee HY, Ha TY. 2004. Various properties and phenolic acid contents of rices and rice brans with different milling fractions. *Korean J Food Sci Technol* 36:930-936
- Lee MK, Kim HW, Lee SH, Asamenew G, Kim YJ, Lee S, Jung HA, Yoo SM, Kim JB. 2018a. Profiles of phenolic acid derivatives from tuberous roots of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) using UPLCDAD-QToF/MS. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1284-1293
- Lee SH, Kim HW, Lee MK, Asamenew G, Kim YJ, Lee S, Cha YS, Yoo SM, Kim JB. 2018b. Characterization of flavonoids from used parts of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* var. *saboten*) and dragon fruit (*Hylocereus undatus*) using UPLC-DAD-QToF/MS. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1274-1283
- Liu K, Zheng J, Wang X, Chen F. 2019. Effects of household cooking processes on mineral, vitamin B, and phytic acid contents and mineral bioaccessibility in rice. *Food Chem* 280:59-64
- Liu Y, Ragaee S, Marcone MF, Abdel-Aal ESM. 2020. Composition of phenolic acids and antioxidant properties of selected pulses cooked with different heating conditions. *Foods* 9:908
- Lou SN, Lin YS, Hsu YS, Chiu EM, Ho CT. 2014. Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. *Food Chem* 161:246-253
- Nakano H, Takai T, Kondo M. 2019. Identification of quantitative trait loci for the concentrations of phenylpropanoid glycosides in brown rice. *ACS Omega* 4:17317-17325
- Panlasigui LN, Thompson LU. 2006. Blood glucose lowering effects of brown rice in normal and diabetic subjects. *Int J Food Sci Nutr* 57:151-158
- Park SY, Ha SH, Lim SH, Jung JY, Lee SM, Yeo Y, Kim JK. 2012. Determination of phenolic acids in Korean rice (*Oryza sativa* L.) cultivars using gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Food Sci Biotechnol* 21:1141-1148
- Ragaee S, Seetharaman K, Abdel-Aal ESM. 2014. The impact of milling and thermal processing on phenolic compounds in cereal grains. *Crit Rev Food Sci Nutr* 54:837-849
- Ren C, Kim JM, Park S, Jeong OB, Shin M. 2016. Effect of storage conditions, rice, cooker and oil types on the changes of resistant starch contents of cooked rice. *Korean J Food Cookery Sci* 32:9-15
- Setyaningsih W, Hidayah N, Saputro IE, Palma M, Barroso CG. 2016a. Profile of phenolic compounds in Indonesian rice (*Oryza sativa*) varieties throughout post-harvest practices. *J Food Compos Anal* 54:55-62
- Setyaningsih W, Saputro IE, Palma M, Barroso CG. 2016b. Profile of individual phenolic compounds in rice (*Oryza sativa*) grains during cooking processes. *AIP Conf Proc* 1755:130012
- Tian S, Nakamura K, Cui T, Kayahara H. 2005. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. *J Chromatogr A* 1063:121-128
- Tian S, Nakamura K, Kayahara H. 2004. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. *J Agric Food Chem* 52:4808-4813
- Verardo V, Gómez-Caravaca AM, Marconi E, Segura-Carretero A, Garrido-Frenich A, Fernández-Gutiérrez A. 2016. Determination of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds in raw and parboiled rice bran. *RSC Adv* 6:50786-50796
- Vichapong J, Sookserm M, Srijesdaruk V, Swatsitang P, Srijaranai S. 2010. High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant

- activities in rice varieties. *LWT Food Sci Technol* 43: 1325-1330
- Vlachos A, Arvanitoyannis IS. 2008. A review of rice authenticity/adulteration methods and results. *Crit Rev Food Sci Nutr* 48:553-598
- Woo KS, Hwang IG, Lee YR, Lee JS, Jeong HS. 2009. Characteristics of sucrose thermal degradation with high temperature and high pressure treatment. *Food Sci Biotechnol* 18:717-723
- Xu B, Qu C, Zheng W, Xi Y, Zhao X, Li H, Liu J, Zhang X. 2018. UHPLC-MS/MS method for simultaneous determination of Radix Polygalae glycolipids and organic acids in rat plasma and application in a pharmacokinetic study. *J Chromatogr B* 1100-1101: 165-173
- 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-methylpropionamidine) dihydrochloride. *J Agric Food Chem* 49:2077-2081
- Yu L, Li G, Li M, Xu F, Beta T, Bao J. 2016. Genotypic variation in phenolic acids, vitamin E and fatty acids in whole grain rice. *Food Chem* 197:776-782
- Zeng Z, Hu X, McClements DJ, Luo S, Liu C, Gong E, Huang K. 2019. Hydrothermal stability of phenolic extracts of brown rice. *Food Chem* 271:114-121
-

Received 09 November, 2023

Revised 01 December, 2023

Accepted 04 December, 2023