

## 比重選別 玄米中 유리 Amino산 함량

박 훈 · \*전 재근 · \*\*조인호

농촌진흥청 식물환경연구소 · \*서울대학교 농과대학 · 전북대학교 문과대학 \*\*  
(1972. 1. 5. 수리)

Free amino acids of brown rice in relation to specific gravity grade

H. Park, J.K. Chun,\* I.H. Cho\*\*

Institute of Plant Environment O.R.D., Dept. of Chem., Chun Pook Univ.\*\*  
College of Agriculture, Seoul National University\*

(Received Jan. 5, 1972)

### SUMMARY

The contents of free amino acids in deembryod brown rice of two varieties were investigated by amino acid autoanalyzer in relation to specific gravity grade. The analytical methods of free amino acid were also discussed.

- 1) The lower the specific gravity of the unhulled rice the higher the content of total free amino acids in the deembryod brown rice, and the similar trend appears to hold on each amino acids.
- 2) Main free amino acids were serine+asparagine, glutamic acid, aspartic acid, alanine and valine, and maximum values of them were 7.3, 5.1, 4.0, 3.4, 0.9mg/100g rice, respectively. They consist about 85% of total free amino acids in most cases.
- 3) The contents of soluble nitrogen and free amino acids appear to be lower in high protein variety (IR 667) than in low protein variety (Jinhung). The percentage of free amino acid nitrogen to soluble nitrogen, however, appears to be higher in high protein variety (IR 667).
- 4) Alanine was much lower than aspartic acid in IR 667 having Indica blood while alanine appears to be higher than aspartic acid in Jinhung (Japonica rice) suggesting varietal difference in amino acid metabolism.
- 5) Threonine peak was overlaped with glutamine, and serine was with asparagine in this study.

현미중의 아미노산에 관한 연구는 주로 단백태의 것으로 유리아미노산에 관한 등속과정이나<sup>(1,2)</sup> 저장증<sup>(3)</sup> 또는 부위별로 조사한바 있으나<sup>(4)</sup> 그 함량이 적고 분석상의 난점때문에 보문이 극소수에 불과하며 비중별로는 검토된 바 없는 것 같다. 질소함량이 비중에 따라 크게 차이가 있으며<sup>(5)</sup>

단백질의 합성이 유리아미노산을 거치는 것이므로 벼알 형성에 관한 생리화학적 고찰에 있어 단백태보다 오히려 유리상태의 아미노산이 중요성을 갖을 것이다. 동일한 품종에서 비중이 같은 벼알은 형성과정의 환경에 관계없이 동일한 생리화학적 특성을 갖는다는 가설<sup>(6)</sup>의 검토에 있어서도 비중

별 현미중의 유리아미노산에 관한 정보가 필요하다. 본보에서는 두품종을 사용 비중별로 구분된 제배아현미중 유리아미노산 함량을 조사한 결과와 정량방법에 관해 검토하여 한다.

## 재료 및 방법

전보<sup>(6)</sup>에서 사용한 수원 215(IR 667)와 진홍을 공시하고 이에 IR 667-수원 213도 사용하였다. 수원 213의 비중별분리(비중 1.04~1.08 1.12~1.16 1.20~1.24) 방법은 전보<sup>(6)</sup>와 같다. 현미의 배아제거는 면도날로 하였으며 배아는 단백태아미노산 정량에 사용하고 (미 발표) 제배아 현미는 Wiley mill에 40 mesh로 분쇄 70C 열풍건조기에서 2일간 건조, 시료를 채취하였으며 각성분함량은 이때의 건중으로 표시하였다. 공시품종은 모두 1970년 수원에서 재배되긴 하였으나 동일포장에서 재배될 것은 아니다.

유리아미노산의 침출 : 田村・劍持<sup>(4)</sup>의 방법에 기초하여 다음 두 방법을 사용했다.

A) 40 mesh 2g의 시료를 삼각 flask에 채취 70% ethanol 30 ml를 가하여 실온에서 하루밤 방치 후 6시간 진탕하고 한차수갈의 활성탄을 가하여 섞은후 Toyo No. 7 여지로 여과 flash evaporator에서 1ml 이하로 농축하여 증발접시에 옮겨 6NHCl 2방울을 가하여 비등수조 위에서 증발건고하고 5ml의 diluter (pH 2.2 Na-citrate buffer)로 녹인 후 건조여지에 여과 유리아미노산 시료용액으로 하였다.

B) 40 mesh 시료 10g을 유발에 취하여 곱게 마쇄하고 500ml 삼각 flask에 옮겨 100ml의 70% ethanol을 가하여 실온에서 6시간 진탕후 두차수갈의 활성탄을 가하여 잘섞고 Toyo No. 7 여지로 여과 flash evaporator로 ethanol을 회수한 후 증발접시에 옮기고 6N HCl 4방울을 가하여 비등수조 위에서 증발건고 5ml의 diluter로 녹여 건조여지에 여과 시료용액으로 하였다.

유리아미노산의 정량 : 0.5 ml의 시료용액을 아미노산 자동분석기(Hitachi model KLA-3B)를 사용 산성 및 중성 아미노산은 sulfonated polystyrene 球形 이온교환수지 No. 2612 column (9×500mm)에 pH3.5와 4.25인 Na-citrate buffer로, 염기성 아미노산은 No. 2611 수지 column (6×150 mm)에 pH5.28 Na-citrate buffer로 4시간 표준분석법 (column 온도 55°C 완충액유속 60ml/hr. ninhydrin 30ml/hr. 반응온도 115C)<sup>(7)</sup>에 따라 분별정량하였

다. 각 아미노산의 동정 및 정량은 아미노산 혼합표품액(Takara Kosan Co. LTD. 제 각 아미노산 2.5μmole/ml 함유) 1ml를 diluter 4ml로 회색 0.5ml를 column에 주입하여 얻은 표준 peak의 위치와 면적으로 하였다. 미지 아미노산 peak는 協和 밸효공업주식회사(日本)제 아미노산 표품과 기타 회사의 표품을 사용시로 용액과 cochromatography하여 동정하고 serine+asparagine 양은 동량 혼합표품에서 얻은 peak로 계산하였으며 미동정의 세 peak(X, Y, Z)와 glutamine+threonine peak은 glutamine으로 환산하였다.

유리아미노산 총량 : 각각 아미노산의 총계로 하되 세개의 미지 아미노산과 암모니아는 제외하였다. 또 다른 총량정량 방법은 염기성 아미노산 용출시에(짧은 column) 최초로 용출되는 산성 및 중성 아미노산 peak의 면적에서 산성 및 중성아미노산의 총량을 구하고 이에 각 염기성 아미노산을 합한 것으로 하였다. 산성 및 중성아미노산의 표준은 제배아현미(진홍 비중 1.12~1.16)의 산가수분해 용액의 염기성 아미노산 정량시의 첫 peak로 하였으며 이 peak의 아미노산량은 산성 및 중성아미노산 정량법에 의한 개별아미노산 함량을 합한값으로 하였다. 이 산성 및 중성아미노산 peak(570 nm의 툭색곡선)가 기록지의 상부로 올라가는 눈금 읽기에 오차가 염려될때에는 640 nm의 붉은 곡선을 사용하였다.

가용성질소 및 전질소함량 : 가용성질소는 방법 B의 유리아미노산 시료용액 1ml를, 전질소는 0.5g의 40 mesh 시료를 사용 전보<sup>(6)</sup>에서와 같이 분해, 증류하여 정량하였다.

## 결과 및 고찰

방법 B에 따른 유리아미노산 총량(Table 1의 A)은 두품종에서 모두 비중이 낮을수록 높았다. 이중에 비중이 높은 두개의 함량은 약 15mg/100g으로 田村・劍持<sup>(4)</sup>의 25.6(白米+쌀겨)보다 낮고 완숙임의 3~5<sup>(2)</sup>보다는 훨씬 높다. 팔달 현미중의 12~16<sup>(3)</sup>에 유사하나 배아중의 함량이 백미와 쌀겨층의 그것들을 합한량보다 많은 것<sup>(4)</sup>을 고려하면 팔달의 경우보다는 거의 배량이 될 수 있는 것이다. 이러한 차이는 단백태 아미노산과는 달리 유리아미노산이 환경변이에 크게 영향을 받는 때문일 수도 있지만 팔달의 경우 asparagine이 보고되지 않은 것으로 보아 분석 방법상의 차이에서 오는 것 같다. 방법상의 차이에 연유할 수 있는 보기는

**Table 1.** Free amino acids in deembryoed brown rice  
in relation to specific gravity grade (aa mg/100g)

variety Amino acid	IR 667-Suwon 215			Jinhung		
	Specific gravity 1.04-1.08	1.12-1.16	1.20-1.24	1.04-1.08	1.12-1.16	1.20-1.24
Aspartic acid	4.04	2.83	2.29	2.69	1.56	2.72
*Glutamine+Threonine	0.50	0.50	0.29	0.73	0.46	0.48
**Serine+Asparagine	7.31	6.38	4.96	6.67	4.87	3.05
Glutamic acid	3.48	4.11	2.37	5.13	2.46	3.85
Proline	0.46	0.38	0.22	0.53	0.69	0.37
Glycine	0.36	0.34	0.21	0.62	0.39	0.26
Alanine	1.12	1.11	0.69	3.38	2.49	1.76
Cystine	—	—	—	0.07	0.04	—
Valine	0.60	0.72	0.40	0.87	0.36	0.55
Methionine	0.04	0.08	0.03	0.06	0.03	—
Isoleucine	0.35	0.40	0.18	0.41	0.19	0.21
Leucine	0.35	0.32	0.14	0.30	0.12	0.13
Tyrosine	0.15	0.24	0.13	0.39	0.08	0.11
Phenylalanine	0.16	0.18	0.15	0.20	0.49	0.09
Lysine	0.13	0.10	0.13	0.11	+	0.11
Histidine	0.34	+	+	+	+	+
Arginine	0.19	0.15	0.22	0.21	+	0.21
Ammonia (NH <sub>3</sub> )	1.31	1.25	1.58	1.29	1.03	1.06
*Unknown X(19)	0.25	0.28	0.13	0.43	0.15	0.13
*Unknown Y(27)	0.18	1.26	0.22	0.64	0.15	0.15
*Unknown Z(36)	0.62	0.53	0.36	0.75	0.28	0.55
Total-A	19.58	17.84	12.41	22.18	14.23	13.90
Total-B	18.85	16.07	12.04	21.13	15.37	12.16
B/A × 100	96	90	97	95	108	87

A : Ammonia, X, Y, and Z were not included

B : Calculated from acid and neutral amino acid peak from basic amino acid column.

\* : Glutamine equivalent, elution time in parenthesis (minute)

+ : Trace      - : Non detectable      \*\* : Equivalent to 50-50 mixture

**Table 2.** Total free amino acids in deembryoed brown rice (aamg/100g)

Specific gravity	IR 667-Suwon 213			Jinhung		
	Acid and Neutral	Ammonia (NH <sub>3</sub> )	Total	Acid and Neutral	Ammonia (NH <sub>3</sub> )	Total
1.04-1.08	24.52	4.71	29.23	39.78	4.45	44.23
1.12-1.16	20.80	2.62	23.42	22.23	5.17	27.40
1.20-1.24	12.66	4.17	16.83	22.62	3.86	26.48

방법 A에 의한 정량결과(Table 2) 진홍에서 같은 시료임에도 상당한 차이를 (Table 1) 보이고 있다 는 사실이다. 방법 A에서는 하루밤 방치한 반면 방법 B에서는 더 곱게 마쇄를 하였는데 전자에서 많은 것을 보면 침출시간이 크게 관여되는지도 모른다. 증발건조 후의 아미노산의 용해를 도움고자 가한 6N HCl은 증발건조시간이 한시간 이내이므로 크게 영향했을 것으로 생각되지 아니한다. 방법 A의 경우 시료량이 적어서 염기성아미노산은 모두 흔적정도로 적어서 암모니아만 정량 가능하였다. 따라서 유리아미노산정량에는 10g의 시료가 적합한것 같으며 미량의 유리아미노산 정량에는 이보다 더 많은 량이 필요할 것이다. Table 2의 산성 및 중성아미노산량은 염기성아미노산 column의 첫 peak에 의한 것으로(재료 및 방법참조) 이 방법의 신뢰도를 다음과 같이 검토하였다. 즉 동일 peak에 의한 총량(Table 1의 B)이 각개 아미노산의 합계량(Table 1의 A 암모니아와 미지 아미노산제외)에 대한 회수율이 (Table 1) 90% 이상으로 신빙성이 높다. 이러한 방법은 가수분해 특히 단백가수분해 아미노산에서 lysine 만을 정량 할 때 아미노산총량도 정량할 수 있는 유용한 방법이다. 이상의 회수율의 차이는 표준을 가수분해 아미노산으로 하였으므로 표준과 시료간의 아미노산조합의 차이에도 기인할 것이므로 유리아미노산 peak를 표준으로하면 그조정이 더욱 가차워 회수

율이 더 100%에 접근할 것이다.

수원 213의 유리아미노산 총량도(Table 2) 비중이 낮을수록 높아서 어느 품종에서나 같은 경향을 알 수 있다. 유리아미노산함량이 전질소의 함량과 같은 방향으로 변하고 있는데 전질소가 그랬듯이<sup>(6)</sup> 동일품종내 동일비중에서도 같을 것인지 는 이 시험의 결과로는 알 수가 없다.

유리아미노산함량의 비중 증가에 따른 감소는 등숙과정에서 이것이 점감하는 사실과<sup>(1,2)</sup> 일치하므로 비중의 차이가 등숙정도의 차이에 단순히 기인하는 것 같으나 이 사실만으로는 배아의 질소함량이 제배아 부분의 질소함량과 같은 방향으로 증감하기 때문에 비중별차이가 단순히 속도에만 기인하는 것이 아닐 것이란 추정을<sup>(6)</sup> 부정할 수는 없다. 비중이 낮은 것들에서 청미 함유율이 높은 사실은 유리아미노산이 많을 것으로 쉽게 예측되지만 비중 1.04 이상의 것은 적어도 성숙기를 지난 것이 대부분일 것인데 이들에서 유숙후기의 것들<sup>(1)</sup> 보다 높은 함량을 보이는 것은 함량이 속기에만 의존하는 것이 아니라고 볼 수 있다. 따라서 동일 비중의 벼알은 동일등숙기간을 갖는다고 보기 보다는 동일등숙기간의 벼알이라도 여러가지 비중등급으로 발전한다고 보아야 옳을 것 같다. 특히 등숙률이 낮은 IR 667에서 유리아미노산 함량이 낮다는 점 등도 등숙기만의 요인이라고 생각할 수 없음을 뒷바침 한다.

Table 3. Soluble nitrogen and free amino acid nitrogen in deembryod brown rice

Specific gravity	IR 667-Suwon 215			Jinhung		
	1.04-1.08	1.12-1.16	1.20-1.24	1.04-1.08	1.12-1.16	1.20-1.24
Total-N (mg/100g)	1790	1520	1360	1330	1230	1150
Soluble-N (mg/100g)	17.55	13.00	8.45	30.21	14.95	8.45
Total free amino acid-N(ng/100g)*	3.28	3.00	2.08	3.72	2.39	2.34
% soluble-N to total-N	0.98	0.86	0.62	2.27	1.22	0.73
% A to Soluble-N	18.7	23.1	24.6	12.3	16.0	27.7

\* : Calculated from A in table 1 multiplying by 0.168, converting factor

이에 사용한 세품종의 시료들이 1970년도 수원에서 같은 시기에 재배된 것이긴 하나 같은 포장에 재배된 것이 아니므로 품종간 비교에 문제점이 없지 않으나 IR 667계통과 진홍간에는 혈통이나 초형에 있어서는 물론 영양생리적으로도 크게 차이가 있어 유리아미노산 함량에도 크게 차이가 있을 것으로 예측된다. Table 3에서 보면 IR 667이 전질소함량이 진홍보다 높은데도 유리아미노산

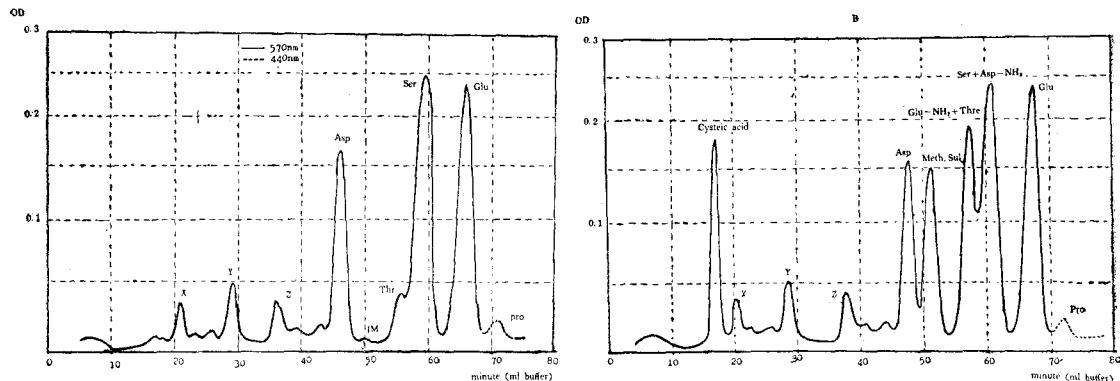
질소는 적으며 가용성질소도 같은 경향이다. 가용성질소의 전질소에 대한 백분률은 수원 215에서는 1% 미만인데 진홍에서는 2%를 넘고 있다. 품종간 차이는 비중이 높은 것일 수록 적어지고 있다. 수원 215에 있어 가용성질소가 적기 때문에 유리아미노산태 질소의 가용성 질소에 대한 백분률이 진홍보다 높은 경향이다. 가용성질소와 유리아미노산 함량이 단백질이 높은 IR 667에서 낮다

는 것은 단백질 합성에 이들 전구체 pool로 부터의 이용율이 높은데 기인하는 것 같으며 이것이 고단백 합성의 조건인지의 여부는 철형적인 고지 단백 품종들을 사용하여 검토함으로써 확실해 질 것이다.

유리아미노산이 환경인자에 의하여 씁쓸리 영향을 받아서 어떤 stress의 지표로 될 가능성이 있어 (8,9) 생리면에서는 각개유리아미노산의 함량이 중요한 의미를 갖는다. 각개유리아미노산의 정량은 단백질 가수분해 아미노산 정량보다 까다로운데

A

B



**Figure 1.** A. Chromatogram of free amino acids of deembryoed brown rice.  
(var: Jinhung 1.12-1.16 S.G 100mg Sample) X.Y.Z. unidentified  
B. Cochromatogram of A with  $0.25\mu$  mole of each standard  
cysteic acid methionine sulfone, threonine and glutamine.

요즘엔 유리아미노산용 이온교환수지가 개발되었으나 본시험에서는 단백질 가수분해 아미노산 정량용 수지를 사용하였다. 그렇기 때문에 분리가 안될 것이 있으나 본시험 결과 이러한 경우 아미노산동정에 있어 주의를 요하는 사실을 알 수 있었다. 즉 Figure 1에서 보는 바와 같이 시료용액만의 chromatogram A 와 이에 표준 cysteic acid, methionine sulfone, threonine 및 glutamine 을 cochromatography 한 B에 의하여 threonine peak은 glutamine과 겹치는 것을 알 수 있다. 또한 glutamine 후에 오는 peak은 serine과 asparagine이 동시에 용출되는 것임을 표준을 사용 확인하였다. 田村・剣持<sup>(5)</sup> 의하면 우리와 같은 회사의 같은 model 을 사용하고 buffer pH가 같고 유속도 같은 것으로 보아 동일한 조건으로 보이는지 glutamine이 threonine 뒤에 serine, asparagine과 함께 용출되어 한 peak를 이루고 있다. 이들은 보다 오래된 보고<sup>(4)</sup>에서 동일한 결과를 얻었는데 그 경우엔 Beckman Spinco model 120 을 사용했고 따라서 column 도 150 cm 의 긴 것이며 유속도 전자의 반으로서 조건이 상당히 다른 경우라고 볼 수 있다. 이들의 결과로 볼 때 본 시험의 경우도

그에 일치해야 할편이 크나 시료의 용출 곡선의 모양만은 꼭 같아도 표품의 cochromatography 결과 (Figure 1) 그리하지 아니하여 용출곡선의 모양만으로서가 아닌 표품에 의한 확인이 절대 필요함을 강조하는 좋은 보기라 할수 있다. Lawrence 와 Grant<sup>(10)</sup>은 자동분석법에서 asparagine과 glutamine이 threonine과 겹치나 serine과는 겹치지 않는다고 하였으며 asparagine과 glutamine을 column으로 분리하지 못하였다. 이들의 경우는 methionine sulfone이 aspartic acid 앞에 용출된 것으로 보아 우리의 조건과는 다른 것임을 알 수 있다. 우리의 경우는 (Figure 1) aspartic acid 뒤에 오는 흐적 peak M이 methionine sulfone과 겹치었다. serine+asparagine peak은 440nm 인 청색 peak와 640nm 의 적색 peak에 의하여 두개의 아미노산인것을 알수 있으나 threonine+glutamine peak는 이중성을 확인하기 힘들정도로 겹다. glutamine이 단독으로 분리정량한 보문이 없는데 반하여 threonine은 상당히 많은 양으로 보고되어<sup>(11)</sup> 이것이 threonine 단일 peak라 하더라도 오히려 적은 편이지만 threonine이 glutamine 보다 적은 것이어서 glutamine 단일 peak 일 수도 있지

않겠는가 생각되며 이는 앞으로 개발된 유리아미노산용 수지를 사용하여 확인해볼 예정이다.

본 시험 조건으로는 tryptophan과 상당량이 존재하는 것으로 보고된<sup>(4)</sup>  $\gamma$ -aminobutyric acid는 검출되지 아니하므로 이들에 관하여는 비중별 어떤 관계에 있는지 알 수가 없다. 유리아미노산 중에는 aspartic acid 전에 일찍이 용출되는 7~8 개의 미지 peak들이 있는데 그중에 세개 (Figure 1 A의 X.Y.Z)가 비교적 많은 양으로 cysteic acid peak와 aspartic acid peak 사이에 오는데 peptide 일 가능성도 있다.<sup>(10)</sup> 각각 아미노산의 함량도 총 유리아미노산 함량과 같은 경향으로 비중이 증가함에 따라 감소하는 것들이 대부분이다.

각 아미노산을 함량순으로 보면 serine+asparagine, glutamic acid, aspartic acid, alanine 및 valine의 다섯 아미노산이 품종과 비중에 관계없이 총량의 약 85%를 차지하고 있으며 이들의 촉고치는 각각 7.3, 5.1, 4.0, 3.4, 0.9mg/100g 이다 (Table 1). 이들 각 아미노산의 함량순위는 본 분석방법과 유사한 경우<sup>(4)</sup> glutamic acid, alanine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, serine+asparagine+glutamine, 및 aspartic acid이고 미생물법<sup>(1)</sup>인 경우 glutamic acid, aspartic acid, proline, valine, arginine, alanine 및 threonine의 순서로서 본시험의 결과와 모두 상이하다. 본 시험에서 보다 이상의 두경우 threonine이 많은 것이 특징이다. 우리의 결과로는 threonine과 glutamine이 동일 peak이므로 이에 관해 결론 지울 수가 없다. Lysine도 적은 편으로 특히 적은 것은 합유황 아미노산이다. Phenylalanine과 tyrosine도 적은편인데 비중별 단백태 아미노산 정량(미발표)에 있어 tyrosine과 phenylalanine이 활성탄(Darco 및 和光)에 흡착되어 대부분의 경우 혼적조차 나오지 아니하였다. 본 시험에서는 알콜용액을 활성탄으로 여과하였으

므로 이들이 흡착되지 아니한 것으로 생각되지만 표품을 사용하여 알콜용액으로 흡착된 tyrosin과 phenylalanine의 용출여부는 검토하지 못하였다. 각각 유리아미노산 함량에 품종간 차이가 있을 것인데 특히 alanine과 aspartic acid에서 그런것 같다. 즉 진홍은 alanine이 aspartic acid보다 높은 편인데 비하여 IR 667은 alanine이 언제나 aspartic acid 보다 상당히 낮다(Table 1). 이러한 차이는 질소대사상의 품종간차이에 기인할 것이므로 식물체 기타 부위에서의 유리아미노산의 차이와 더불어 내비성에 관한 생화학적 해석의 더전이 될 수 있어서 여러 품종에 대한 유리아미노산의 연구는 앞으로 남겨진 좋은 과제가 될 것이다.

## 인용 문헌

1. Taira, and Taira, 1964. Eijo To Shokuryo 16:449-452
2. Matsushita, 1963 ibid 16:220-223
3. 김형수, 김성기, 한인자 1971. 한국 食科會誌. 3:15-18
4. 田村眞八郎, 劍持久仁子 1963. 日農化誌. 37: 753-756
5. 田村眞八郎, 劍持久仁子, 1968. Japan Food Sci. 10:69-77
6. 박훈, 이춘영 1971. 한농화지. 14:103-107 \*
7. Hitachi L.T.D. 1969. Instruction manual for the model KLB-3A amino acid analyzer.
8. Barnett, N.M., and Naylor, A.W. 1966. Plant Physiol. 11:1222-1230
9. Lähdesmäki, P. 1968 Physiol. Plant. 21:1097-1103
10. Lourence, J.M. and Grant, D.R. 1963. Plant Physiol. 38:561-566