

유색 보리 종실의 품종별 색소 특성

주완택 · 민경수^{1,2} · 박노동*

전남대학교 농업생명과학대학 응용생물공학부, ¹응용식물학부, ²농업과학기술연구소

(2003년 8월 4일 접수, 2003년 10월 15일 수리)

유색보리 4품종과 보통보리 4품종 종실의 종피에 함유되어 있는 색소의 특성을 분석하여 해당작물의 신품종 육성시 우수계통 선발에 유용한 자료를 제공코자 하였다. 유색(검정)쌀보리인 Ab2231을 표준시료로 하여 실험한 결과 에탄올의 농도가 80%일 때 색소추출 효율이 양호하였다. 80% 에탄올에 1.0% 염산을 첨가한 것이 추출효율이 가장 좋았다. 추출시간에 따른 추출효율성을 조사한 결과 1시간 추출이면 충분하였다. 추출된 색소의 안정성을 유지하기 위하여 첨가시키는 산의 적정농도를 알아본 결과 1.0% HCl을 첨가한 농도에서 가장 낮은 색소량 감소율이 나타났다. 각 보리 품종 시료에서 추출한 색소의 흡광스펙트럼을 조사하였던 바, Ab2231의 그것은 535 nm에서 최대흡광파장을 나타내어 안토시아닌계 색소로 판단되었으며, 호계4호의 그것은 안토시아닌계 이외의 색소를 주로 함유하는 것으로 보였다. 한편, 추출된 색소의 특성에 따라 유색보리의 품종은 Ab2231과 모찌무기로 대표되는 쌀보리 그룹과, Lion과 호계4호로 대표되는 겉보리 그룹으로 분류되었다.

Key words: 보리, 쌀보리, 겉보리, 색소, 안토시아닌

서 론

고등식물의 색소는 수용성으로서 주로 꽃, 잎, 열매 등에 함유되어 분포하는데, 자주색, 보라색, 청색, 담홍색, 주홍색, 적색을 표현하는 근원물질로서 주로 안토시아닌계 또는 탄닌계 색소로 알려져 있다.¹⁻⁴⁾

안토시아닌 색소는 떡, 식혜, 죽, 껌 및 과자 등의 식품첨가용 염색제의 천연원료로 이용되고 있으며, 탄닌 색소는 의류의 염색제, 주류의 청징제, 잉크의 제조원료 등으로 이용되고 있다.⁵⁾

지금까지 수행된 색소의 분리 정제법,^{3,4,6)} 구조 및 성질,⁷⁻¹⁰⁾ 안정성¹¹⁻¹³⁾에 관한 기초연구의 결과에 비추어 볼 때, 일반적으로 천연색소는 광선, 온도, pH 등의 변화에 따라 불안정한 반응을 나타낸다. 이러한 성질은 가공 및 식품첨가 등의 산업용으로서의 활용을 어렵게 하기 때문에 추출에서부터 상품화까지의 과정에서 수용액 상태에서 안정된 천연색소의 개발이 요구되는 실정이다.⁵⁾

산업적으로 가장 유용한 천연색소로는 포도의 과피에서 추출한 것이지만,^{3,4)} 이외에도 오미자,²⁾ 머루,^{14,17)} 소엽,¹³⁾ 검정찰옥수수,^{7,14)} 옥수수,¹⁵⁾ 유색미,^{5,8,9,14,16)} 검정콩,^{10,14)} 보리^{12,17-19)}, 맥주 맥,¹⁸⁾ 사과 주스²⁰⁾ 등 다양한 식물 시료의 색소에 관한 연구가 이루어졌으며, 그 기능성에도 관심이 높다.

식물색소의 생리활성으로는 보리 프로안토시아닌의 HL60 세포 분화 증강효과,²²⁾ 유색미 쌀겨 추출물의 발암억제효과,²¹⁾ 보리의 발효물에 함유된 색소 Hordeumin의 항돌연변이성¹⁷⁾ 등이 확인된 바 있다.

이와 같이 식물색소의 생리활성이 소개됨에 따라 안토시아닌

함유 농산물이 기능성 식품으로 관심을 끌고 있으며, 소비자들의 선호도가 높은 검정찰옥수수와 유색미에 고농도의 색소를 함유한 품종의 육종 등을 포함한 비교적 다양한 연구가 수행되고 있다.^{5,7-9,14,16)} 그러나, 유색보리의 색소에 관한 연구는 극히 미미하여 보리 발효물에서 분리한 색소-단백질 복합체인 Hordeumin에 관한 것이 전부이다.¹⁷⁻¹⁹⁾

이에 본 연구는 유색보리 4 품종과 보통보리 4품종을 공시하여 이들 종실에 함유된 색소의 특성을 분석하여 해당작물의 신품종 육성시 계통 선발에 유용한 자료를 제공코자 하였다.

재료 및 방법

공시시료. 유색보리로 유색쌀보리 2품종(Ab2231, 모찌무기)과 유색겉보리 2품종(Lion, 호계4호)을, 보통보리로 흰쌀보리, 흰쌀쌀보리, 새쌀쌀보리, 두산 29호 등 4품종을 공시하였으며, 전남대학교 농업생명과학대학 실습포장에서 2002년 6월 수확한 것이다. 종실을 마쇄하여 80 mesh 체를 통과한 것을 시험에 사용하였다. 대조 시료로서 시중에서 구입한 유색미 흑진주벼와 포도 무진주를 공시하였다.

추출 방법 및 효율. 보리 분말 1g당 추출용매 10 ml를 삼각 flask에 담고 shaker로 잘 흔들어 준 후, 용매 30 ml를 추가로 첨가하여 밀폐시킨 다음, water bath에서 60°C에서 24시간 교반시켰다. 이를 여과하여 얻은 맑은 색소 추출액을 분석에 사용하였다. 한편, 불순물을 제거한 후 얻은 맑은 색소 추출액을 40°C에서 회전진공감압농축기로 농축시킨 다음, 동결 건조시켰다.

추출시간의 영향. 80% EtOH-1.0% HCl을 추출용매로 하여 water bath에서 60°C에서 교반시켜 주면서 시간별로 (0, 1, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36시간) 535 nm에서 상등액의 흡광도를 조사하였다.

*연락처

Phone: 82-62-530-2133; Fax: 82-62-530-2139

E-mail: rdpark@chonnam.ac.kr

Table 1. Effect of EtOH concentration on the pigment extraction from barley grains of the variety Ab2231

Concentration of EtOH (%)	Absorbance	
	460 nm	535 nm
0	0.071	0.030
25	0.066	0.030
50	0.182	0.101
60	0.172	0.095
70	0.102	0.051
80	0.413	0.281
90	0.130	0.081
100	0.034	0.011

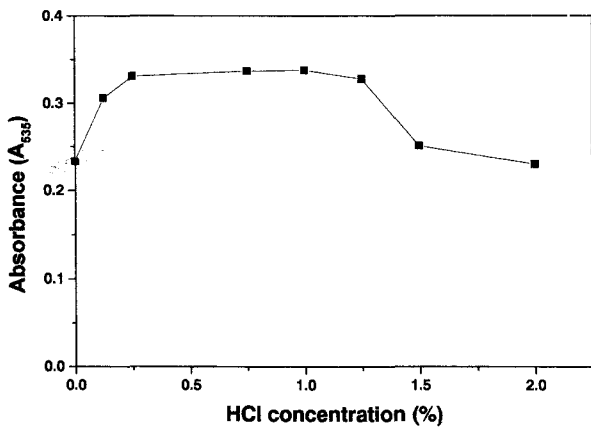


Fig. 1. Effect of HCl concentration in 80% EtOH on pigments extraction from grains of the variety Ab2231.

산의 색소에 대한 영향. 80% 에탄올로 추출한 추출액에 0.25 M HCl, 0.25 M malic acid, 0.25 M citric acid를 첨가하여 흡광도의 변화를 비교 검토하였다.

산의 적정농도와 색소 안정성 조사. 80% 에탄올에 HCl, malic acid, citric acid을 0%, 0.125%, 0.25%, 0.75%, 1.0%, 1.25%의 6가지 조건으로 첨가한 다음 4°C의 냉암소에서 1주일 간 보관하면서 색소의 안정성을 검토하였다.

최대흡광파장 및 흡광도 조사. 80% EtOH-0.25 M HCl로 추출하여 동결건조시킨 시료를 용매(80% EtOH-0.25 M HCl, 80% EtOH-0.25 M malic acid, 80% EtOH-0.25 M citric acid)에 100배 희석하여 400~700 nm 파장에서 흡광스펙트럼을 조사하고 최대흡수파장 및 흡광도를 조사하였다.

결과 및 고찰

유색쌀보리인 Ab2231을 기준 시료로 정하여 에탄올의 농도에 따른 색소 추출효율을 안토시아닌계 색소의 최대흡수 파장과 유사한 535 nm와 탄닌계 색소의 최대흡수 파장과 유사한 460 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다. Table 1에 제시한 바와 같이 80% 에탄올에서 추출효율이 가장 좋았다. 따라서 최대 추출효율을 위해서는 추출용매의 농도 조절이 필요한 것으로 나타났다. 유색미의 색소 추출에서 80%의 에탄올의 사용이 높은 효율을 보인 바 있다.⁵⁾

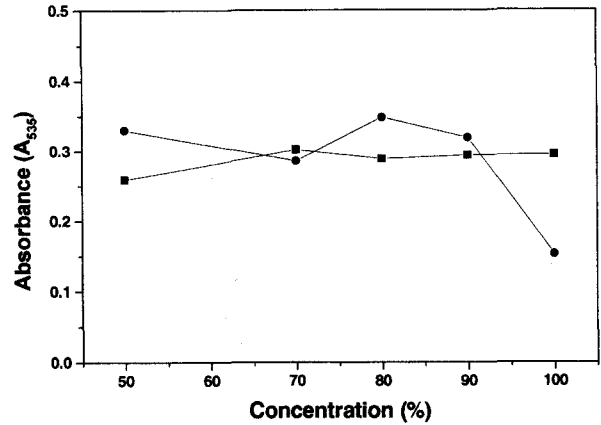


Fig. 2. Effects of EtOH (●) and MeOH (■) concentrations containing 1.0% HCl on pigment extraction from grains of the variety Ab2231.

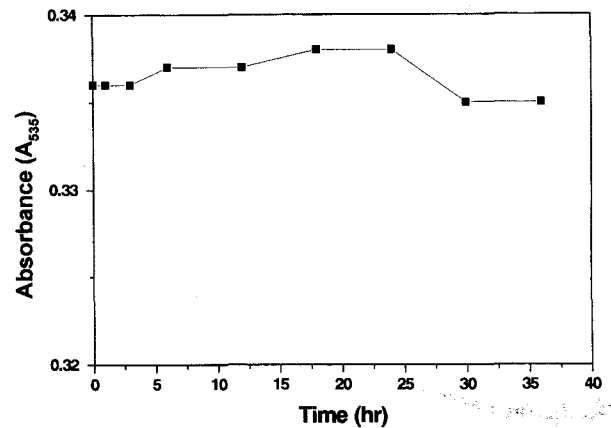


Fig. 3. Effect of extraction time on pigment extraction from grains of the variety Ab2231.

천연색소의 추출과정에 일반적으로 첨가하는 염산의 적절한 농도를 검토하고자, 80% 에탄올에 hydrochloric acid를 0-2.0%를 첨가하여 추출효율을 조사하였다(Fig. 1). 그 결과 0.25~1.25%의 hydrochloric acid를 첨가했을 때 추출효율이 높았으며, 1.0% hydrochloric acid 첨가시에 가장 높았다. Hydrochloric acid 농도가 1.5% 이상이었을 때 효율이 급격히 떨어졌다. 식물색소 추출에 0.1-1.0% 염산의 첨가가 일반적인 관행으로 알려져 있다.^{5,7,14)}

한편, 50-100% 에탄올과 메탄올에 각각 1.0% hydrochloric acid를 첨가한 용매를 사용하여 색소의 추출효율을 조사하였다. Fig. 2에서와 같이, 메탄올의 경우 50-100% 농도 범위에서 큰 변이를 보이지 아니하였으며, 에탄올의 경우 100% 농도에서 추출효율이 감소하였다. 그러나, 두 용매 사이에는 큰 차이는 없었으며, 80% 에탄올에서 추출이 가장 좋았다.

추출시간의 영향을 조사하고자 0~36시간 진탕배양하였던 바, 배양시간에 따른 추출효율의 차이는 거의 없었으며 1시간의 추출이면 충분한 것으로 나타났다(Fig. 3). 유색미의 경우 40분의 추출이면 양호한 결과를 보였다.^{5,14)} 단, 추출시간은 시료분말의 입경에 따라 다소 영향을 받을 것으로 생각된다.

Table 2. Effect of acid addition on the pigment characteristics extracted from grains of the variety Ab2231

Solvent	Acid added	λ_{max}	Abs
80% EtOH	0.25M HCl	524nm	0.338
	0.25M HCl + 0.25M HCl	531nm	0.340
	0.25M Malic acid	524nm	0.267
	0.25M Malic acid + 0.25M HCl	532nm	0.328
	0.25M Citric acid	523nm	0.211
	0.25M Citric acid + 0.25M HCl	534nm	0.287
80% MeOH	0.25M HCl	527nm	0.307
	0.25M HCl + 0.25M HCl	526nm	0.311
	0.25M Malic acid	524nm	0.244
	0.25M Malic acid + 0.25M HCl	525nm	0.276
	0.25M Citric acid	521nm	0.204
	0.25M Citric acid + 0.25M HCl	526nm	0.239

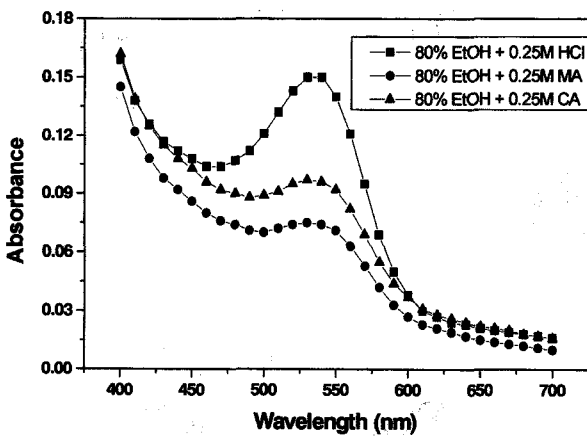


Fig. 4. Effects of 0.25 M HCl, malic acid and citric acid in 80% EtOH on the spectrum of pigments extracted from grains of the variety Ab2231.

산의 색소에 대한 영향을 알아보기 위해 80% 에탄올과 80% 메탄올로 각각 추출한 용액에 0.25 M hydrochloric acid, 0.25 M malic acid, 0.25 M citric acid를 각각 첨가하여 흡광도를 비교 검토하였다. Table 2에 보인 바와 같이 색소 추출액에 산을 첨가하면 최대흡광파장은 다소 변화하였으며, 유기산의 첨가는 최대흡광파장에서 흡광도를 감소시켰다(Fig. 4).

추출색소의 안정성을 유지하기 위하여 80% 에탄올에 첨가시키는 산의 종류와 적정농도를 알아보기 위하여 hydrochloric acid, malic acid, citric acid로 0-1.25%의 농도로 조절한 다음, 추출직후와 추출 후 4°C 냉장소에서 1주일간 보관한 후의 흡광도를 측정하고 결과, 1.0% hydrochloric acid를 첨가한 농도에서 가장 낮은 색소량 감소율이 나타났다(Fig. 5). 따라서 유색 보리에서 색소의 추출효율 및 안정성을 높이기 위해서는 hydrochloric acid를 1.0%정도 첨가하는 쪽이 바람직한 것으로 판단되었다.

8종류 보리 시료, 포도 및 흑진주벼에서 추출한 색소의 최대흡광파장, 흡광도, 흡광스펙트럼을 몇가지 용매 조건에서 조사하였다. Fig. 6은 몇가지 품종 색소의 80% EtOH-0.25% HCl 및 80% EtOH-0.25% malic acid에서의 흡광스펙트럼을 나타낸 것이다. Ab2231과 모찌무기의 추출색소는 각각 Harborne이 제

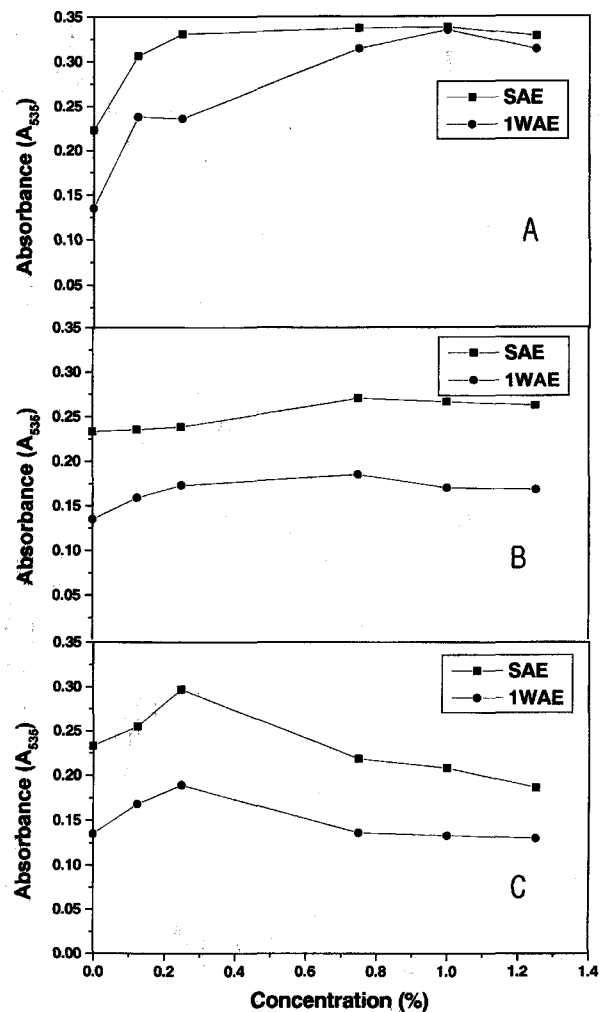


Fig. 5. Effect of the concentration of HCl (A), malic acid (B), and citric acid (C) in 80% EtOH on the pigments stability extracted from grains of the variety Ab2231. SAE, soon after extraction; 1WAE, one week after extraction.

시한 안토시아닌계 색소의 최대흡수파장과 대개 일치하였으나,¹⁵⁾ Lion과 호계4호의 그것은 400 nm 이상 파장에서 최대흡수파장을 나타내지 않았다(Table 3). 이로부터 Ab2231과 모찌무기는

Table 3. Absorbance and λ_{max} of the pigments extracted from colored barley grains of the varieties Ab2231, Mozzimugi, Lion, and Hogye 4

	80%EtOH-0.25 M HCl			80%EtOH-0.25 M MA			80%EtOH-0.25 M CA		
	460 nm	535 nm	λ_{max} (nm)	460 nm	535 nm	λ_{max} (nm)	460 nm	535 nm	λ_{max} (nm)
Ab2231	0.29	0.22	524	0.28	0.22	524	0.22	0.21	523
Mozzimugi	0.25	0.23	526	0.25	0.23	525	0.21	0.21	525
Lion	0.24	0.10	-	0.22	0.10	-	0.20	0.09	-
Hogye 4	0.20	0.08	-	0.19	0.08	-	0.18	0.07	-

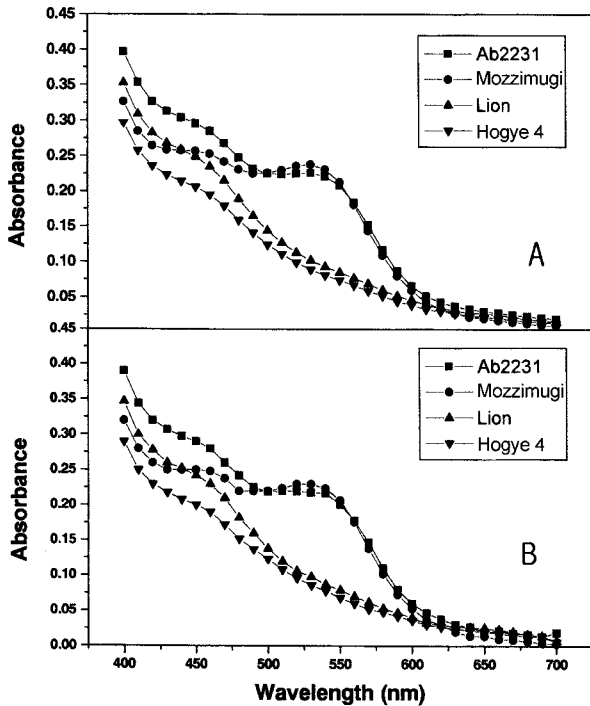


Fig. 6. Varietal differences in the absorption spectrum of pigments extracted in 80% EtOH-0.25% HCl (A) and 80% EtOH-0.25% malic acid (B) from grains of the varieties Ab2231, Mozzimugi, Lion and Hogye 4.

안토시아닌계 색소를 주로 함유하는 것으로 판단할 수 있고, Lion과 호계4호는 그 최대흡광파장이 350 nm 부근이어서 flavonol과 관련된 색소를 주로 함유함을 알 수 있었다.

Table 4에 보인 바와 같이, 모찌무기와 Ab2231 추출물의 A_{440}/A_{535} 는 1.5-1.6으로 Lion과 호계4호의 그것 2.7-2.9의 절반

Table 4. Characteristics of the pigments extracted from barley grains

Variety	A_{440}	A_{535}	A_{440}/A_{535}
Hinssalbori	0.49	0.15	3.17
Hinchalssalbori	0.52	0.16	3.25
Saechalssalbori	0.68	0.19	3.48
Dusan 29	0.39	0.12	3.19
Lion	0.63	0.21	2.95
Hogye 4	0.57	0.21	2.71
Ab2231	0.76	0.46	1.64
Mozzimugi	0.66	0.43	1.54
Heukjinju (Black rice)	0.18	0.44	0.41
Mujinju (Grape)	0.29	0.30	0.95

으로 나타났다. 이는 포도 0.9와 흑진주 쌀 0.4에 비하여 높은 값으로, 안토시아닌 이외에도 다양한 색소들의 존재를 제시하는 것으로 보인다. 안토시아닌 색소의 A_{440}/A_{535} 비는 aglycone에 결합된 당의 수와 결합위치에 관한 정보를 제시하는 값이며, monoglycoside와 diglycoside는 각각 0.25와 0.1 안팎의 값을 갖는다.¹⁾ 한편, 보통보리의 A_{440}/A_{535} 는 유색겉보리의 그것에 가까운 3.2-3.5의 값을 보였다.

유색보리에서 추출된 색소의 특성에 따라 유색보리의 품종을 Ab2231과 모찌무기로 대표되는 유색쌀보리 그룹과, Lion과 호계4호로 대표되는 유색겉보리 그룹으로 나눌 수 있을 것으로 추론하게 되었다(Table 3-4, Fig. 6). 나머지 보통보리인 흰쌀보리, 흰찰쌀보리, 새찰쌀보리, 두산 29호의 색소 특성은 검정겉보리의 그것에 가까웠다. 그러나, 이들의 알곡과 분말의 Hunter values를 조사한 결과로는 품종간에 큰 차이를 인지할 수 없었다(Table 5). 단지, 육안으로 보면, Ab2231과 모찌무기의 쌀보리 알곡은 자색이 강한 느낌인데 반하여, Lion과 호계4호의 겉보리

Table 5. Hunter values of the barley grains

Variety	Grain			Powder		
	Hunter L	Hunter A	Hunter B	Hunter L	Hunter A	Hunter B
Hinssalbori	38.6	13.9	26.9	81.6	2.8	11.1
Hinchalssalbori	43.2	13.6	18.3	80.1	3.1	15.9
Saechalssalbori	49.1	11.4	34.2	84.8	2.3	11.2
Dusan 29	51.3	10.0	19.2	80.8	3.0	12.9
Lion	29.9	12.0	6.1	68.3	4.0	11.0
Hogye 4	34.7	11.3	9.7	73.0	4.1	7.8
Ab2231	21.5	17.0	15.4	67.4	4.0	7.2
Mozzimugi	32.1	15.1	9.3	76.6	3.9	6.2
Heukjinju (Black rice)	19.7	18.0	13.8	45.4	9.4	2.1
Mujinju (Grape)	17.7	19.3	12.5	13.4	42.3	9.4

알곡은 갈황색이 강한 편이었다. 추출된 색소의 분석 특성은 유색쌀보리와 유색겉보리 품종의 이러한 차이를 반영하였다.

감사의 글

이 연구는 전남대 농업기술특성화사업센터의 지원을 받아서 수행되었습니다. 이에 감사를 표합니다.

참고문헌

- Hwang, I. K. and Ahn, S. Y. (1975) Studies on the anthocyanins in wild vines (*Vitis amurensis Ruprecht*). 2. Identification of anthocyanins in wild vines. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **18**, 188-193.
- Kim, K. I., Nam, J. H. and Kwon, T. W. (1973) On the proximate composition, organic acids and anthocyanins of Omija, *Schizandra chinensis* Baillon. *Korean J. Food Sci. Technol.* **5**, 178-182.
- Koppen, B. H. and Baxxon, D. S. (1966) The anthocyanin pigments of Barinka grape. *Phytochemistry* **5**, 183-187.
- Hrazdina G. (1970) Column chromatographic isolation of the anthocyanidin-3,5-diglucosides from grapes. *J. Agric. Food Chem.* **18**, 243-245.
- Oh, S. K., Choi, H. C., Cho, M. Y. and Kim, S. U. (1996) Extraction method of anthocyanin and tannin pigments in colored rice. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **39**, 327-331.
- Williams, M. and Hrazdina, G. (1978) High pressure liquid chromatographic separation of 3-gulcosides, 3,5-diglucosides, 3-(6-O-p-coumaryl)glucosides and 3-(6-O-p-coumaryl)glucoside)-5-glucosides of anthocyanidins. *J. Chromatogro* **155**, 389-398.
- Kim, S. L., Kim, E. H., Son, Y. K. Song, J. C., Hwang, J. J. and Hur, H. S. (1999) Identification of anthocyanin pigments in black waxy corn kernels. *Korean J. Breed* **31**, 408-415.
- Yoon, H. H., Paik, Y. S., Kim, J. B. and Hahn, T. R. (1995) Identification of anthocyanins from Korean pigmented rice. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **38**, 581-583.
- Cho, M. H., Paik, Y. S., Yoon, H. H. and Hahn, T. R. (1996) Chemical structure of the major color component from a Korean pigmented rice variety. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **39**, 304-308.
- Choung, M. G., Baek, I. Y., Kang, S. T., Han, W. Y., Shin, D. C., Moon, H. P. and Kang, K. H. (2001) Isolation and determination of anthocyanins in seed coats of black soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5848-5851.
- Dao, L. T., Takeoka, G. R., Edwards, R. H. and Berrios, J. J. (1998) Improved method for the stabilization of anthocyanidins. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3564-3569.
- Deguchi, T., Shohara, S., Ohba, R. and Ueda, S. (2000) Effects of pH and light on the storage stability of the purple pigment, Hordeumin, from uncooked barley bran fermented broth. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 2236-2239.
- Tsukui, A., Suzuki, A., Nagayama, S. and Terahara, N. (1996) Stability of anthocyanin pigments from purple leaves of *Perilla ocimoides* L. var. *Crispa*. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* **43**, 113-119.
- Kim, S. L., Hwang, J. J., Song, J., Song, J. C. and Jung, K. H. (2000) Extraction, purification, and quantification of anthocyanins in colored rice, black soybean, and black waxy corn. *Korean J. Breed* **32**, 146-152.
- Harborne, J. B. and Self, R. (1987) Malonated cyanidin-3-glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry* **26**, 2417-2418.
- Park, S. Z., Kim, H. Y., Han, S. J. and Ryu, S. N. (2000) Cyanidin 3-glucoside content in F1, F2 and F3 grains of pigmented rice Heugjinjubyeo crosses. *Korean J. Breed* **32**, 285-290.
- Deguchi, T., Yoshimoto, M., Ohba, R. and Ueda, S. (2000) Antimutagenicity of the purple pigment, Hordeumin, from uncooked barley bran-fermented broth. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 414-416.
- McMurrough, I., Loughery, M. J. and Hennigan, G. P. (1983) Content of (+)-catechin and proanthocyanidins in barley and malt grain. *J. Sci. Food Agric.* **34**, 62-72.
- Ohba, R., Kitaoka, S. and Ueda, S. (1993) Properties and precursors of Hordeumin produced from uncooked barley bran by ethanol fermentation. *J. Ferment. Bioeng.* **75**, 121-125.
- Tsukui, A., Suzuki, A., Hayashi, K., Nishiyama, R. and Ohara, N. (1996) Change in anthocyanin pigments during alcohol fermentation of a commercially available apple juice. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* **43**, 1128-1132.
- Nam, S. H. and Kang, M. Y. (1997) *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts carcinogenicity. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **40**, 307-312.
- Tamagawa, K., Fukushima, S., Kobori, M., Shinmoto, H. and Tsushida, T. (1998) Proanthocyanidins from barley bran potentiate retinoic acid-induced granulocytic and sodium butyrate-induced monocytic differentiation of HL60 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 1483-1487.

Characteristics of the Pigments Extracted from Grains of Colored Barley

Wan-Taek Ju, Kyung-Soo Min^{1,2} and Ro-Dong Park* (*Department of Agricultural Chemistry, ¹Department of Agronomy, ²Institute of Agricultural Science and Technology, Chonnam National University, Gwangju, 500-757, Korea*)

Abstract: The characteristics of the pigments extracted from grains of the colored barley varieties Ab2231, Mozzimugi, Lion, and Hogue 4 were studied. Extraction of the pigments from powder (80 mesh) of the barley grains was most efficient in 80% ethanol containing 1.0% HCl for 1 hr at 60°C. The pigments were also stable in 80% ethanol containing 1.0% HCl. Depending on the absorption spectra, maximal peak wavelength, and the ratio of A_{440}/A_{max} , the varieties were separated into two groups, colored naked barley (Ab2231 and Mozzimugi) and colored covered barley (Lion and Hogue 4).

Key words: barley, colored naked barley, colored covered barley, pigments, anthocyanin

*Corresponding author