

## Antioxidant Activity and Grain Properties of Colored Rice Derived from Insertional Mutagenesis Progenies

Gihwan Yi<sup>1</sup>, Hyun-Suk Lee<sup>2</sup>, Jae-Keun Sohn<sup>2</sup> and Kyung-Min Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Farm Management, College of Agriculture & Life Science, Kyungpook National University, Gunwi-gun, Kyungpook 716-821, Korea

<sup>2</sup>Division of Plant Biosciences, School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received September 12, 2012 / Revised December 11, 2012 / Accepted December 14, 2012

This study examined the antioxidant activity of the dark purple rice seeds from the rice line, MGI079, derived from insertional mutagenesis. The contents of polyphenolic compounds were 1.3 and 1.9-fold higher in the MGI079-2-1 and MGI079-2-6 rice lines than in the donor cultivar MGI079. Flavonoid contents were 6.4-fold higher in the MGI079-2-1 line. The MGI079-2-1 line showed a 24.4-fold higher activity in DPPH free radical scavenging compared to the MGI079 line. The anthocyanin content of the MGI079-2-6 line was more than 106.4-fold higher than the MGI079 line and 1.4-fold higher than the Heugnam line. Anthocyanin content in colored rice grains was negatively correlated with Hunter's L, a, and b values, with the correlation coefficients of -5.64<sup>\*\*</sup>, 5.21<sup>\*\*</sup> and -1.15, respectively. The grain length/width of a mutant of MGI079 segregated to a medium and bold type compared to the medium type of MGI079. However, the 1,000 grain weight was decreased to 13.6~19.6 g compared to 19.8 g for MGI079. Amylose content of the endosperm was 5.6~23.8% higher than in the MGI079 line. The grain of mutants of MGI079 was distinguished by its starch characteristics. The higher antioxidant activity of the MGI079-2-1 and MGI079-2-6 lines indicated functional characteristics associated with high-value resources, so future breeding should focus on the development of pigments in colored rice in new varieties.

**Key words** : Rice, antioxidant activity, polyphenol, anthocyanin, DPPH free radical

### 서 론

세계 인구의 절반 이상이 주식인 벼는 기원전 3000년 전 경부터 재배되기 시작하였다. 최근 들어 쌀에 여러가지 건강기능성 성분이 함유 되어 있다는 것이 알려지면서 벼는 주곡으로서의 기능 외에 건강 기능성 소재로도 활용이 되고 있다. 그 대표적인 예의 하나가 항산화 기능을 가진 자색미이다. 자색미는 호분층에 포함된 색소의 종류와 양에 따라 적갈색에서 흑자색을 띄며[20], 자색미의 색소에는 세포의 노화방지나 암 발생 억제 등에 영향을 미치는 항산화 성분이 함유되어 있어 인체에 유해한 활성산소종 제거에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[9]. 폴리페놀은 광합성 과정에서 탄수화물의 일부가 변환된 2차 대사산물로서 주로 식물의 껍질부분에 존재하고 짙은 색깔과 쓴맛, 떫은 맛을 나타내며 현재까지 발견된 식물성 페놀 화합물은 1만 가지가 넘는 것으로 보고되고 있다[17]. 폴리

페놀계 물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여 하고 산화환원 반응에서 기질로 작용하며, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물을 가리키며 플라보노이드와 탄닌이 주성분이다. 또한 폴리페놀 화합물의 강한 라디칼 소거활성은 자유라디칼에 의해 초래되는 지방의 자동화 반응을 억제하는 천연항산화제로서 뿐만 아니라[13], 고혈압 억제, 항에이즈, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다[2,24]. 폴리페놀계 화합물인 안토시아닌과 플라보노이드류 화합물은 anthocyanins, chalcones, aurones, flavones, flavonols 및 이들의 유도체 등으로 나눌 수 있다[7,9,22,24,27]. 식물체 내의 항산화물 함량은 유전형과 환경요인에 의해 영향을 받는다고 알려져 있으며[5], 플라보노이드와 탄닌은 고혈압 억제, 항에이즈, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다고 알려져 있다[13,26]. 안토시아닌은 식물체에 널리 존재하는 수용성 색소로 플라보노이드계 색소로서 청색, 자색, 적색 등의 여러 가지 색깔을 나타내며 식물에 분포하는 종류는 20여 종에 이르는 것으로 알려져 있다[6,19]. 최근 합성물질의 부작용 등으로 인하여 천연에서 유래되는 물질들이 주목을 받고 있으며, 그 중 사람이 섭취하는 음식에 매우 다양하게 존재하는 식물 성분(phytochemicals)인 폴리페놀 화합물의 기능성 및 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[19].

따라서 본 연구에서는 금후 천연 항산화물 개발 가능성에

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5710, Fax : +82-53-950-6880

E-mail : kkm@knu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

대한 기초 자료를 제공하고, 건강 기능성 벼 육종의 소재로 활용하기 위하여 세포배양 유래 자색미 변이계통을 대상으로 페놀화합물, 플라보노이드 및 안토시아닌 함량을 분석하고 항산화 활성을 조사하였다. 또한 변이체를 대상으로 미립의 구조적·화학적 특성을 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시험재료

본 연구에 사용된 시험재료는 2011년 하계에 경북대학교 GM 실습격리포장에서 MGI079의 조직배양에서 유래된 체세포 돌연변이 계통의 자색미 7 계통과 표준품종인 흑남은 국립식량과학원 신소재연구개발과 분양 받았다. 재식밀도는 30×15 cm, 주당 1본으로 시비량은 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O=9.0-4.5-5.7 kg·10a<sup>-1</sup>로 재배하였다. 이앙 후 140 일에 각 시험구별로 수확하고 자연 건조시켜 정조의 수분함량이 12~15% 일 때 항산화 화합물에 대한 실험을 수행하였다.

### 유기용매 추출물 정제

시험군 현미시료의 가루낸 시료 5 g에 70% 에탄올을 10배량 첨가하여 18시간 동안 40℃에 진탕추출(Shaker Incubator, DF-94F)한 다음 filter paper로 정제한 후 감압농축(EYELA, COOLACE CCA-1100) 하였다. 동일한 방법으로 3 반복 3일 동안 동결 건조(Freeze Dryer, ILSHIN FD5505)하여 -80℃ 1일 보관한 후 추출물 회수량 무게를 측정하였다. 회수한 시료를 -80℃ 냉동 보관(Ultra Low Temperature Freezer, DF9010)하면서 폴리페놀 화합물, 플라보노이드, DPPH free radical 분석용 시료로 사용하였다.

### 폴리페놀(polyphenol) 화합물 함량 측정

분석용 시료는 10 mg/5 ml로 용해하여 희석한 농도 1 ml에 200 µl Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2N을 넣은 다음 순간진탕(Vortex Mixer, KMC-1300V)한 후 실온에 6분 방치 후 2 ml 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>넣으면 서서히 청남색 변화하는 데 1시간 30분 실온에 방치하였다. 반응액의 흡광도 값은 분광광도계(mecasys optizen2120UV)를 이용하여 750 nm에서 측정하였고, 표준물질인 gallic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료 % 중의 mg gallic acid로 나타내어 ppm단위로 환산하였다.

### 플라보노이드(flavonoid) 함량 측정

분석용 시료는 10 mg/5 ml로 용해하여 희석한 농도 1 ml에 300 µl 5% NaNO<sub>3</sub>을 넣은 다음 순간진탕한 후 5분 동안 실온에 방치한 후 300 µl 10% AlCl<sub>3</sub>을 넣은 후 6분 동안 실온에 방치한 후 순간진탕한 다음 2 ml 1M NaOH을 넣어 순간진탕한 후 반응액의 흡광도 값을 분광광도계를 이용하여 510 nm

(mecasys optizen 2120UV)에서 측정하였고, 표준물질인 catechin (Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료 % 중의 mg catechin으로 나타내어 ppm 단위로 환산하였다.

### DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical 함량 측정

분석용 시료는 10 mg/5 ml로 용해하여 희석한 농도 0.6 ml에 2.4 ml (100 ml 에탄올에 5 mg DPPH 용해물)을 넣은 다음 20분 동안 암실보관한 후 반응액의 흡광도 값을 분광광도계를 이용하여 517 nm (mecasys optizen 2120UV)에서 측정하였고, 표준물질인 ascorbic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였으며, 시료 % 중의 mg ascorbic acid로 나타내어 ppm 단위로 환산하였다.

### 안토시아닌(anthocyanin) 함량 측정

자색미 변이계통의 안토시아닌 함량은 국립농업과학원 농식품자원부에 의뢰하여 안토시아닌 함량을 측정하였다. 현미 2g의 powder 시료를 5% formic acid 희석액을 넣어 40℃의 진탕탕온수조에서 24시간 동안 추출한 후, 원심분리하여 (3,000 rpm, 10분, 4℃) 상층액 1 ml을 취하였다. Sep-pak C<sub>18</sub> classic cartridge를 MeOH 2 ml, H<sub>2</sub>O 2 ml의 순으로 흘려주어 활성화시킨 다음, 안토시아닌 추출 상층액 1 ml 및 내부표준물질(cyanidin 100 ppm) 1 ml을 각각 loading 후, 2 ml 증류수로 세척하여 1 ml 메탄올로 희석시켰다. 내부표준용액의 경우, 5% formic acid 희석액으로 제조되었으며, 정량을 위해 용출된 안토시아닌 여과액은 N<sub>2</sub> 가스로 농축한 다음, 1 ml의 5% formic acid 희석액으로 재용해하여 LC-PDA-ESI/MS으로 안토시아닌 함량을 분석하였다. Synergi Polar-RP 80A (4.6×250 mm I.D., 4 µm; Phenomenex, USA) 역상컬럼과 2998 photodiode array detector (PDA)를 장착한 Alliance e2695 HPLC system (Waters Co. Milford, MA, USA) 및 Micromass ZQ MS (Waters Co. Milford, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 검출 파장은 250~600 nm (대표파장 530 nm)에서 수행되었으며, oven 온도는 30℃, 유속은 1 ml/min 이었다. 분석에 사용된 표준물질은 cyanidin-3-glucoside (C3G), peonidin-3-glucoside (P3G)은 Extrasynthèse (France)사에서 구입하여 사용하였다.

### 자색미 색도 측정

가루형태의 3 g 현미를 색차계(color techno system JS555)에 3반복 측정된 후 Hunter's value (L, a, b)를 구하여 항산화물과의 상관관계를 비교하였다.

### 미립특성

미립의 특성은 현미의 길이, 폭, 두께를 Vernier Caliper

(MITUTOYO, CD-15CP)를 이용하여 계통별로 50립씩 5반복 조사하였다. 현미와 백미의 무게는 전자저울(ARD 120)을 이용하여 100립씩 3반복 조사한 후 그 평균치를 천립중으로 환산하였다. 현미의 아밀로스, 단백질, 지질 및 아연을 근적외분광분석(NIRS, Foss 6500)으로 3반복 분석하여 평균치를 구하였다. 배유의 전분립은 대조군인 흑남의 현미를 포함한 시료를 국립식량과학원 신소재연구개발과 의뢰하여 Scanning Electron Microscope (SEM:HITACHI S-3000N) 측정하여 배유의 전분립 단면을 비교하였다.

결과 및 고찰

유기용매 추출물 정제

MGI079 세포배양 유래의 7계통과 흑남 현미 5 g을 70% 에탄올 추출물에서 분리되는 거의 양을 측정할 때(Table 1), MGI079-1-1, MGI079-1-6 계통은 모본계통인 MGI079와 동량의 회수율을 보였으며, MGI079-OP-R은 모본계통 MGI079에 비해 50 mg의 차이를 보여 분석에는 제외하였다. MGI079-1-R, MGI079-2-1, MGI079-2-6인 계통에서 회수되는 호분층의 양은 이 10~60 mg 증량 되었으며 MGI079-2-1은 대조품종인 흑남에 비해서 30 mg 더 증량되었다. 자색미의 색소는 주로 호분층에 집적이 되는 것으로[14], 색소성분이 호분층인 과피에 많이 침적될수록 유기용매 추출물 회수율에 차이가 나타났다. 일반미 품종들에 비해서 자색미 품종들은 유기용매에 의해서 분자인 탄화수소 길이가 긴 성분들이 주된 성분으로 용출되어 회수율이 높아지는 만큼[10], MGI079 세포배양 유래 7계통은 유기용매 추출물로서 항산화물 함량의 계통별 차이에 의거하여 보다 높은 항산화물 함량을 선별할 수 있는 것으로 사료된다.

폴리페놀 화합물 함량 측정

MGI079 조직배양 유래 7계통과 흑남의 폴리페놀의 농도를 조사한 바(Fig. 2), 총 폴리페놀화합물 함량에서 모본계통 MGI079은 25.5 ppm으로 나타났고 MGI079 세포배양 유래의

자색미의 현미 거 추출물은 MGI079-1-R의 반복된 계통인 MGI079-1-1과 MGI079-1-6에서 각 27.2, 28.4 ppm으로 나타났다. MGI079-2-R의 반복된 계통인 MGI079-2-1과 MGI079-2-6의 함량은 각 33.3, 49.3 ppm으로 흑남 39.1 ppm 보다 높게 나타났으며 특히 MGI079-2-6은 대조 품종인 흑남보다 26% 더 높게 나타났다. 식물체내의 페놀화합물은 2차 대사산물로서 항산화, 항균 및 합암 등 다양한 생리활성을 나타내며 특히 항산화 활성은 페놀성 화합물이 작용하는 것으로 보고되고 있다[14,17]. 이와 같이 페놀 화합물 함량과 항산화 활성 간의 상호작용에 대한 연구에서 보고된 바와 같이[3,23] MGI079 세포배양 유래 7계통은 식물 유래 천연 추출물의 항산화 활성을 탐색하는 일차적인 자료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

플라보노이드 함량 측정

MGI079 세포배양 유래 계통과 흑남에 대해 플라보노이드 함량을 조사한 결과(Fig. 3), 모본계통 MGI079은 6.1 ppm 인데 비해 MGI079 세포배양 유래 자색미 변이체의 플라보노이드 함량은 MGI079-1-R의 반복된 계통인 MGI079-1-1과 MGI079-1-6은 각 1.4, 10.5 ppm이었고, MGI079-2-R의 반복된 계통인 MGI079-2-1과 MGI079-2-8의 함량은 각17.4, 39.1 ppm으로 흑남의 20.2 ppm에 비해 MGI079-2-1은 모품종 MGI079에 비해 6.4배 높은 함량으로 나타났으며 MGI079-2-1은 흑남보다 1.95 배 더 높게 나타났다. 플라보노이드 성분은 활성산소를 제거하며 식물세포에서 스트레스 보호제로서의 기능을 하는 것으로 보고되어[9], MGI079 세포배양 유래 7계통은 금후 건강 기능성 소재로 활용될 수 있다.

Table 1. The amount of bran layers of the dark purple rice seeds induced by MGI079

Variety	Bran layer (mg/5 g)
MGI079	80
MGI079-1-R	90
MGI079-2-R	110
MGI079-OP-R	30
MGI079-1-1	80
MGI079-1-6	80
MGI079-2-1	140
MGI079-2-6	120
Heugnam	110



Fig. 1. Brown rice of the dark purple rice seeds induced by MGI079. (a) MGI079, (b) MGI079-1-R, (c) MGI079-2-R, (d) MGI079-OP-R, (e) MGI079-1-1, (f) MGI079-1-6, (g) MGI079-2-1, (h) MGI079-2-6, (i) Heugnam.

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical 함량 측정

MGI079 유래 자색미 변이계통의 DPPH free radical 소거활성은(Fig. 4) 모본계통 MGI079는 64.3 ppm MGI079 조직배양 유래의 자색미의 현미 거 추출물은 MGI079-1-R과 MGI079-2-R계통에서 각 375.1 ppm, 375.7 ppm로 유사하였다. MGI079-1-R의 반복친 계통인 MGI079-1-1과 MGI079-1-6은 각각 481.1 ppm, 520.6 ppm으로 나타났고 MGI079-2-R의 반복친 계통인 MGI079-2-1과 MGI079-2-6은 각각 1568.4 ppm, 1524.1 ppm으로, MGI079-2-1은 MGI079에 비해 24.4 배 높은 함량으로 나타났다. 이러한 결과는 흑남에 비해 1.5배 더 높은 것으로 나타나 MGI079-2-1과 MGI079-2-6의 DPPH radical 소거활성은 모본계통 MGI079의 자색미 계통에 비해 매우 높았다. DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 cystein, glutathione과 같은 아미노산과 ascorbic acid, BHA 등에 의해

환원되어 탈색되므로 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 검색하는 데 많이 이용되고 있다[9]. Free radical은 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운 가운데 페놀성 화합물의 경우 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체 내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있는 만큼[4,9], MGI079 세포배양 유래 7계통 중 MGI079-2-1과 MGI079-2-6는 DPPH radical 소거활성으로 항산화물질 함량과 더불어 노화방지 기능이 부과 될 것으로 사료된다.

안토시아닌(anthocyanin) 함량 측정

안토시아닌의 주요 구성성분인 C3G (Cyanidin 3-glucoside)와 P3G (peonidin 3-glucoside) 함량 조성에서 모본계통 MGI079는 P3G만 미량 확인된 반면에 모품종인 MGI079 유래 변이체에서 분리된 5계통은 C3G (93.10 ppm)는 P3G (23.2

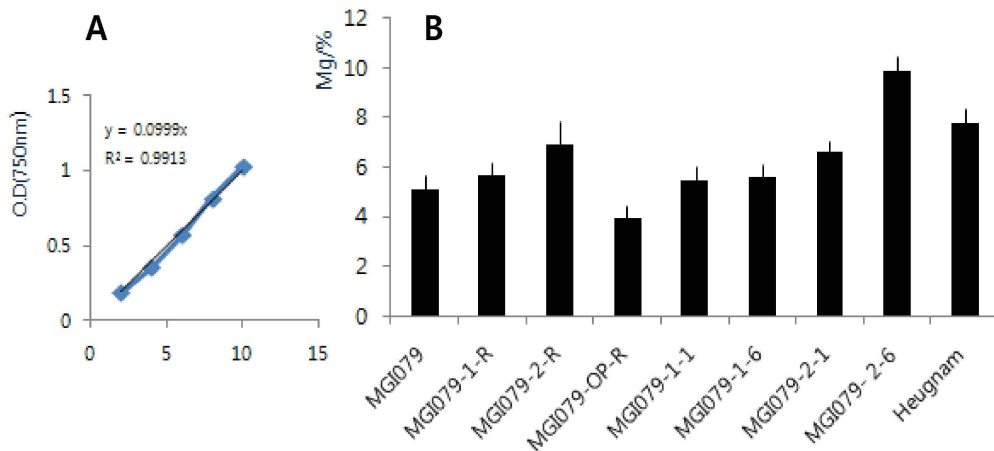


Fig. 2. Antioxidative activity of polyphenol compounds compared with standard: gallic acid, in the dark purple rice seeds. A: Standard value, B: Observation values each variety.

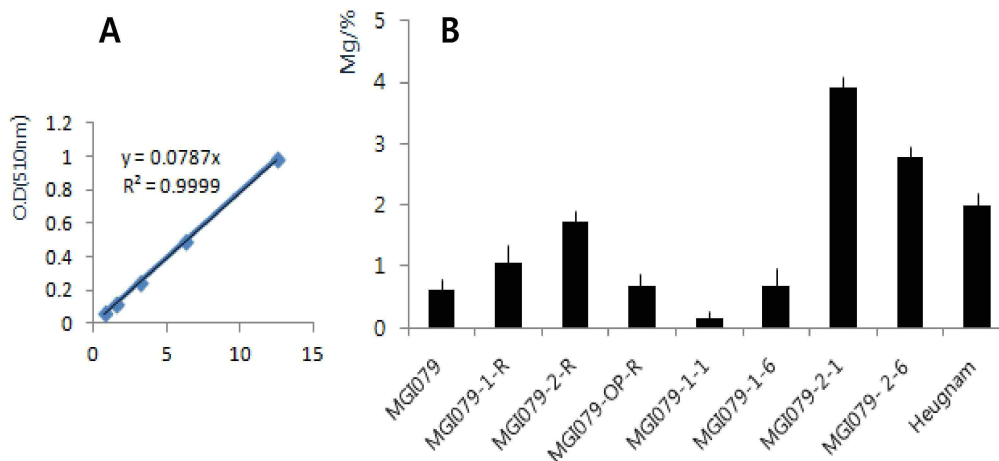


Fig. 3. Antioxidative activity of flavonoid compared with standard: catechin, in the dark purple rice seeds. A: Standard value, B: Observation values each variety.

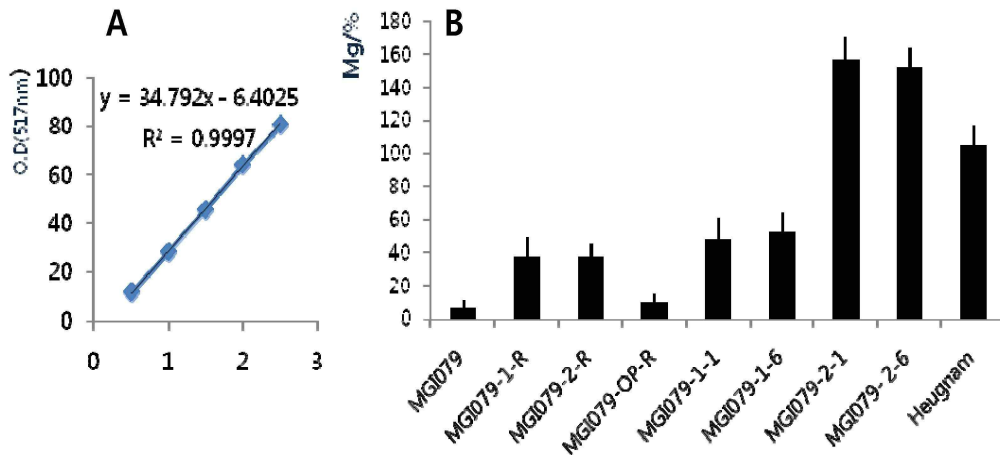


Fig. 4. Inhibitory effect of DPPH free radical compared with standard: ascorbic acid in the dark purple rice seeds. A: Standard value, B: Observation values each variety.

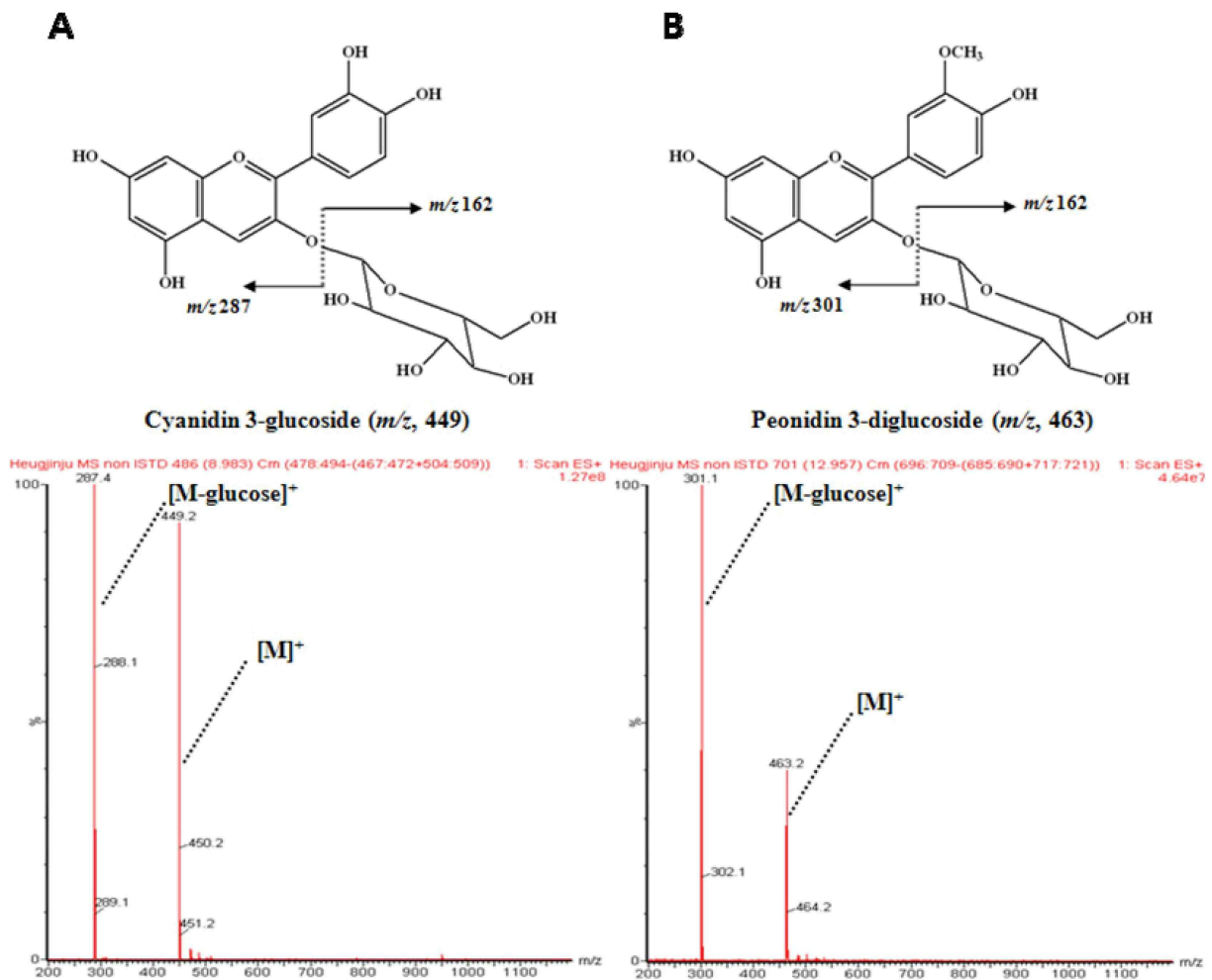


Fig. 5. Structure anthocyanin compounds from extracts of the dark purple rice seeds induced by MGI079, ISTD: standard (malvidin3-glucosidse) (sourced by NAAS of Department Agro-food Resources). A: C3G(Cyanidin 3-glucoside), B: P3G (Peonidin 3-glucoside).

Table 2. Contents of isolated anthocyanin compounds of the dark purple rice seeds induced by MGI079

Variety	Brown rice (ppm)		
	C3G*	P3G**	Total
MGI079	0.00	0.70	0.70
MGI079-1-R	2.40	1.10	3.50
MGI 0792-R	10.90	6.10	17.00
MGI079-1-1	7.00	1.80	8.80
MGI079-1-6	10.00	2.50	12.40
MGI079-2-6	62.80	11.70	74.50
Heugnam	50.50	3.80	54.30

\*C3G: Cyanidin 3-glucoside

\*\*P3G: Peonidin 3-glucoside.

ppm)보다 80% 이상으로 측정되어 자색미의 안토시아닌 구성 성분으로 사료되었다(Fig. 5). Kim 등[11]과 Ryu 등[20]은 자색미에서 C3G가 90% 이상으로 가장 많았다고 하여 유사한 결과를 보였다. 안토시아닌 함량은(Table 2) MGI079 유래 변이체 후대 5계통 중에서 MGI079-2-6 계통이 C3G 함량이 62.8 ppm으로 모품종인 MGI079에 비해 6배 이상 증가되었으며 표준품종인 흑남(50.5 ppm)에 비해서는 1.2배 증가하였다. MGI079-2-6의 P3G 함량은 11.7 ppm으로 MGI079에 비해 16.7 배 이상 증가되었으며, 표준품종인 흑남의 3.8 ppm에 비해 3.1배 증가하였다. MGI079-2-6의 안토시아닌 함량(74.5 ppm)은 모품종인 MGI079보다 106.4배 증가하였으며, 표준품종인 흑남(54.3 ppm)에 비해 1.37배 증가하였다. 자색미는 현미가 흑자색 또는 적갈색을 나타내며 이들 색소가 종피에 착색되는데 흑자색미는 안토시아닌을 함유하고 적갈색미에는 프로안토시아닌이 들어있다고 알려져 있다[18]. 플라보노이드 계열인 안토시아닌은 호분층에 존재하는 천연색소로서 암세포억제 효과가 있다고 하는 등 이용가치가 높은 수용성색소로 [12,14,24], 주요구성성분은 C3G (Cyanidin 3-glucoside)와 P3G (peonidin 3-glucoside)으로 분석되었다[10,15,18,20]. MGI079 세포배양 유래 7계통 중 MGI079-2-6 계통은 C3G 함량이 62.8 ppm으로 표준품종인 흑남(50.5 ppm)에 비해서는 1.2배 증가하여 항산화물의 예비품종으로 사료된다.

#### 자색미 색도 측정

현미색의 측정에 따른 항산화력 정도를 알아보기 위하여 Hunter 값으로 색도를 조사한 바(Table 3), Hunter's 값(L, a,

b)은 안토시아닌(-5.64\*\*, 5.21\*\* and -1.15)의 L, a에서 유의성이 있는 것으로 보였다. 항산화력이 가장 높은 L, a의 값이 가장 유의한 부의 상관관계가 인정되어 종실의 색소함량이 침적될수록 종실의 밝기와 적색도 상관관계를 보였다. Kim 등[12]은 색소 함량과 색차의 상관관계에서 나타내는 안토시아닌의 함량과 L, a 및 b 간에는 모두 유의한 부의 상관관계가 인정되어 종실의 색소함량이 높을수록 종실의 밝기와 적색도 및 황색도 모두가 낮아진다고 하였다. Yawadio 등[24]과 Yodmanee 등[25]도 자색미의 색차계 차이는 안토시아닌과 유전형에 기인한다고 보고하였다. 산화물 포함한 모두 유의한 부의 상관관계를 포함한 폴리페놀 화합물의 함량과 Hunter 값도 부의 상관관계로 나타났다. Yodmanee 등[25]과 Goffman and Bergman [5]도 보고하여 폴리페놀과 안토시아닌에서도 자색미의 색이 진할수록 폴리페놀과 안토시아닌 함량이 더 높은 것으로 나타난 본 실험의 결과와 일치 하였다. 본 실험의 결과를 보면 색소 고함유 자색미 계통의 선발에는 육안으로 1차 선발 후 색차계를 이용하여 2차 선발을 하는 것이 육종의 효율을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

#### 미립특성

Jennings 등[8]에 의하여 MGI079 유래의 자색미 변이계통의 미립을 분류해 본 바, 장폭비는 모본계통 MGI079가 2.6±0.1과 흑남이 2.1±0.2 mm로 나타나 medium에 분류되었으며, MGI079-OP-R은 bold로 분류되었고, MGI079-2-R, MGI079-2-1은 모본계통 MGI079와 유사한 형태인 medium으로 분류되었다. 미립특성에서 MGI079 계통 및 변이계통의 장폭비는 medium형과 bold형의 분리하였다. MGI079-2-R 계통의 천립중은 1.36 g이었고 모본계통 MGI079에 비해 31.9% 감소했지만, MGI079-2-1, MGI079-2-6 및 MGI079-OP-R의 천립중은 1.94~1.96 g으로 모본계통 MGI079의 1.98 g과 유사하였으며 흑남(2.06 g)에 비해서는 감소하였다(Table 4, Fig. 1).

#### 미립의 화학적 특성

모본계통 MGI079의 아밀로스 및 단백질 함량은 각각 119.7%와 8.9%로 MGI079 세포배양 유래 자색미의 계통간 아밀로스 및 단백질 함량은 각각 20.8~24.57%, 7.41~8.91%로 나타났다. MGI079 세포배양 유래 자색미 계통의 아밀로스 함량은 모본계통 MGI079보다 5.6~23.8% 증가하였으며, 단백질

Table 3. Correlation coefficients of anthocyanin content and color difference (Hunter's value) the dark purple rice seeds induced by MGI079

No. entry	Hunter's value		
	L	a	b
Anthocyanin (mg/100 g)	-5.64**	5.21**	-1.15

L, a, b represent the lightness, redness and yellowness, respectively.

\*\*Significant at 5% level.

Table 4. Grain appearance of the dark purple rice seeds induced by MGI079

Variety	Brown rice				
	Length (mm)	Width (mm)	Thickness (mm)	Length/Width (%)	Weight of 1000 seeds(g)
MGI079	5.90±0.10a*	2.30±0.07a	1.80±0.05a	2.6±0.1	19.8
MGI079-1-R	5.32±0.12a	2.61±0.09a	1.85±0.06a	2.0±0.1	16.6
MGI079-2-R	5.60±0.18a	2.10±0.07a	1.70±0.05a	2.7±0.3	13.6
MGI079-OP-R	5.26±0.10a	2.89±0.09a	2.00±0.12ab	1.8±0.1	19.6
MGI079-1-1	5.32±0.20a	2.63±0.10ab	1.79±0.06a	2.0±0.2	15.4
MGI079-1-6	5.39±0.12a	2.67±0.10a	1.84±0.06a	2.0±0.1	16.8
MGI079-2-1	6.36±0.17ab	2.38±0.08a	1.74±0.08a	2.7±0.2	19.4
MGI079-2-6	6.10±1.21a	2.65±0.07a	1.90±0.05ab	2.3±0.1	19.6
Heugnam	6.04±0.13a	2.94±0.07ab	1.87±0.09a	2.1±0.2	20.6

\* mean±SD, Means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Table 5. Chemical characters of the dark purple rice seeds induced by MGI079

Variety	Brown rice					
	Amylose (%)	Starch (%)	Protein (%)	Zn (mg/100 g)	Lipid (%)	Moisture (%)
MGI079	19.72±1.7*	71.76±5.7	8.90±1.2	6.87±2.7	2.17±0.7	11.82±1.2
MGI079-1-R	23.98±1.2	70.85±0.6	8.48±2.4	29.5±5.9	1.50±0.4	11.25±0.2
MGI079-2-R	20.83±5.2	68.23±2.4	8.58±0.9	23.7±6.7	1.64±0.7	11.56±0.7
MGI079-OP-R	24.57±3.1	70.77±2.7	7.41±0.4	12.5±2.1	2.37±0.2	11.44±0.4
MGI079-1-1	23.69±2.9	70.31±3.1	8.91±0.7	35.8±4.6	1.42±0.1	11.90±0.5
MGI079-1-6	22.90±2.2	71.10±2.9	8.63±1.9	35.5±3.5	1.66±0.3	11.67±0.7
MGI079-2-1	21.27±1.1	66.16±2.5	8.64±1.4	35.8±4.3	1.44±0.6	11.63±0.4
MGI079-2-6	24.41±3.2	66.33±3.2	7.74±2.1	23.0±2.8	1.47±0.4	11.78±0.3

\* mean±SD.

함량은 11.2%까지 감소하거나 유사한 경향을 보였고 지방함량은 MGI079-OP-R이 9.2% 증가하는 반면에 다른 계통들은 감소하는 경향을 보였다(Table 5). Yodmanee 등[25]은 자색미 화학적인 성분에서 단백질, 지방 함량은 6.63~8.46%, 1.44~3.47%으로, 현미의 화학적인 성분에서 모품종과 유사한 경향으로 안토시아닌 자색성분은 호분층에 집적되어 배유의 화학적인 성분에는 큰영향을 끼치지 않았다고 보고한 바 있다. 한편 Yodmanee 등[25]과 Meng 등[16]은 미량 요소 중 철은 자색미, 폴리페놀 함량인 항산화물과정의 상관관계가 높았다고 하면서 적색미보다 흑색미에서 철, 아연, 칼슘, 구리 및 마그네슘이 더 높았다고 보고하였다. MGI079 세포배양 유래 자색미 변이계통의 아연함량은 모본계통 MGI079보다 2배에서 5.2배까지 증가된 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 금후 성분축적이나 흡수에 대한 길항 기작 등 체계적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

배유의 전분립 형태

배유의 전분립의 형태를 전자주사현미경으로 비교하여 본 바(Fig. 6), 모본계통 MGI079은 소형전분립으로 다소 정형화된 둥근형태의 opaque 전분립 특성을 보이며 불투명한 배유

현미특성을 가진 MGI079-OP-R은 원형전분립의 특성을 가지지만 모품종인 MGI079에 비해 전분립의 크기가 불균일한 형태로 보였다. 현미특성에서 MGI079-1-R, MGI079-2-1는 배유 단면 그림에서 육안으로 본 현미상태와 달리 opaque 전분 특성이 원형전분립 특성을 보였으며 대형전분립 형태는 각각의 전분립이 분리되지 않은 대형 전분립처럼 보였으며, MGI079-2-1는 소형 전분립보다 대형 전분립이 더 많으며, MGI079-1-R는 다소 소형전분립이 다 많이 분리되어 혼재되어 있는 차이를 보였다. MGI079 조직배양 유래 자색미 계통들은 대부분 부정형태로 보였지만 MGI079-2-R의 배유 전분립 형태는 다소 흑남과 유사한 정형화된 전분립 구조를 보였지만 흑남에 비해 소형전분립 형태를 보였다. 배유의 내부구조에서 전분 특성은 모본계통 MGI079의 원형 전분립 형태의 소형전분립으로 다른 MGI079 조직배양 유래 자색미보다 많이 집적된 형태를 볼 수 있는데, 이는 소형전분립은 주로 등숙후기에 많이 집적되는 데 등숙후기에 전분의 합성과 분해과정에 이상이 생기면 전분 축적이 원활히 이루어지지 않아 소형전분립이 적게 생산되고 아울러 보리 같은 작물에서는 종실 외형도 등 부분이 들어간 것 같은 형태로 보여진다고 하였다[21].



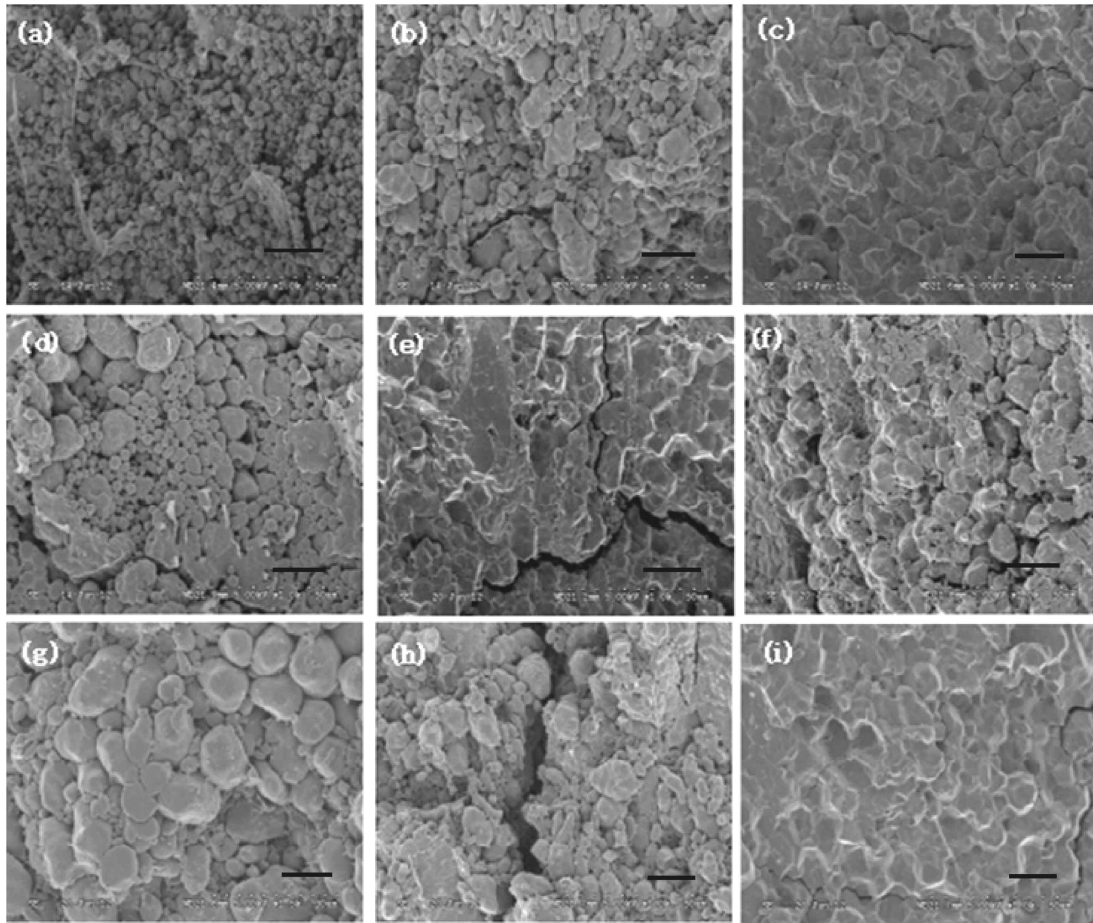


Fig. 6. SEM (Scanning Electron Micrograph) of endosperm showing numerous broken compound starch granules in brown rice (1000X). (a) MGI079, (b) MGI079-1-R, (c) MGI079-2-R, (d) MGI079-OP-R, (e) MGI079-1-1, (f) MGI079-1-6, (g) MGI079-2-1, (h) MGI079-2-6, (i) Heugnam.

### 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(GM실용화사업단: PJ00809102) 이루어진 것임.

### References

- Cheigh, C. I., Chung, E. Y., Ko, M. J., Cho, S. W. and Chang, P. S. 2010. Effect of subcritical water for the enhanced extraction efficiency of polyphenols and flavonoids from black rice bran. *Food Engineering Prog.* **14**, 335-341.
- Choi, S. Y., Cho, H. S. and Sung, N. J. 2006. The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis coignetia*) skin. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nut.* **35**, 961-966.
- Choi, Y. M., Kim, M. H., Shin, J. J., Park, J. M. and Lee, J. S. 2003. The antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agri. Food Chem.* **46**, 4869-4873.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. and Lele, R. D. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J. Assoc. Physicians India* **52**, 794-804.
- Goffman, F. D. and Bergman, C. J. 2004. Rice kernal phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. *J. Sci. Food Agri.* **84**, 1235-1240.
- Harborne, J. B. and William, C. A. 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **55**, 481-504.
- Iqbal, S., Bhangar, M. I. and Anwar, F. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chem.* **93**, 265-272.
- Jennings, P. R., Coffman, W. R. and Kauffman, H. E. 1979. Rice improvement, Grain quality. pp. 102, 6th eds., International Rice Research Institute.
- Jung, Y. T., Lee, I. S., Whang, K. and Yu, M. H. 2012. Antioxidant effects of *Picrasma quassioides* and *Chamaecyparis obtusa* (S. et Z.) ENDL extracts. *J. Life Sci.* **22**, 354-359.
- Kang, M. Y., Shin, S. Y. and Nam, S. H. 2003. Antioxidant and antimutagenic activity of solvent-fractionated layers of colored rice bran. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **35**, 951-958



11. Kim, H. W., Kim, J. B., Chu, S. M., Kim, S. Y., Kim, S. N., Cho, Y. S., Cho, S. M., Baek, H. J., Kim, J. H., Park, H. J., Lee, D. J., Ali, H. A. and Stewart, D. 2010. Analysis of anthocyanin composition and content contained from grains of the Korean purple rice varieties by liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization/mass spectrometry (LC-DAD-ESI/MS). *Kor. J. Intl. Agric.* **22**, 267-272.
12. Kim, S. L., Hwang, J. J., Song, J., Song, J. C. and Jung, K. H. 2000. Extraction, purification, and quantification of anthocyanin in colored rice, black soybean, and black waxy corn. *Kor. J. Breed* **32**, 146-152.
13. Lee, Y. J., Kim, E. O. and Choi, S. W. 2011. Isolation and identification of antioxidant polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) seeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 517-524.
14. Lee, Y. S. 2007. Antioxidant and physiological activity of extracts of angelica dahurica leaves. *Kor. J. Food Preservation* **14**, 78-86.
15. Meiers, S., Kemeny, M., Weyand, U., Gastpar, R., Angerer, E. and Marko, D. 2001. The anthocyanidins cyanidin and delphinidin are potent inhibitors of the epidermal growth-factor receptor. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 958-962.
16. Meng, F., Wei, Y. and Yang, X. 2005. Iron content and bio-availability in rice. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18**, 333-338.
17. Nam, S. H., Chang, S. M. and Kang, M. Y. 2003. Varietal difference in antioxidative of ethanol from colored rice bran. *Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **46**, 16-22.
18. Park, S. Z., Kim, H. Y., Han, S. J., Kim, H. Y. and Ryu, S. N. 2000. Cyanidin 3-glucoside content in F1, F2 and F3 grains of pigmented rice Heugjinjubyeo crosses. *Kor. J. Breed* **32**, 285-290.
19. Ryu, S. N. 2000. Recent process and future of research on anthocyanin in crops, rice, barley, wheat, maize and legumes. *Kor. J. Intl. Agri.* **12**, 41-53.
20. Ryu, S. N., Park, S. Z. and Ho, C. T. 1998. High performance liquid chromatographic determination of anthocyanin pigments in some varieties of black rice. *J. Food Drug Anal.* **6**, 729-736.
21. Song, H. S., Lee, H. S. and Chung, T. Y. 1988. Granular shape and physico-chemical properties of starch isogenic lines bred in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Kor. J. Breed* **20**, 245-253.
22. Tabart, J., Kervers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. and Dommes, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem* **113**, 1226-1233.
23. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., Zhu, N., Lavoie, E. J., Huang, T. C. and Ho, C. T. 1998. Antioxidative phenolic compound from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4869-4873.
24. Yawadio, R., Tanimori, S. and Morita, N. 2007. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chem* **101**, 1616-1625.
25. Yodmanee, S., Karrila, T. T. and Pakdeechnuan, P. 2011. Physicochemical and antioxidant properties of pigmented rice grown in Southern Thailand. *Inter. Food Res. J.* **18**, 901-906.
26. Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Fujiki, H., Yoshida, T., Okuda, T. and Sugimura, T. 1987. Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea. *Phytotherapy Res.* **1**, 44-47.
27. Zhang, M. W., Guo, B. J., Zhang, R. F., Chi, J. W., Wei, Z. C., Xu, Z. H., Zhang, Y. and Tang, X. J. 2006. Separation, purification and identification of antioxidant composition in black rice. *Agric. Sci. China* **5**, 431-440.

## 초록 : 벼 증피색 변이체에 대한 항산화 활성 분석과 미립특성

이기환<sup>1</sup> · 이현숙<sup>2</sup> · 손재근<sup>2</sup> · 김경만<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>경북대학교 농산업학과, <sup>2</sup>경북대학교 식물생명과학전공)

벼(*Oryza sativa* L.)에서 Insertional 유래 MGI079 돌연변이 계통의 자색미에 대한 항산화 활성을 보기 위하여 폴리페놀, 플라보노이드, DPPH radical, 안토시아닌 및 색차계를 이용하여 분석하였다. 폴리페놀 함량에서 MGI079-2-1와 MGI079-2-6은 MGI079보다 1.3배에서 1.9배 이상 증가되었고, 플라보노이드에는 MGI079-2-1 MGI079보다 6.4배 이상 증가되었다. DPPH 자유기에는 MGI079-2-1이 MGI079보다 24.4배 이상 항산화력이 증대되었다. 안토시아닌 성분에는 MGI079-2-6은 MGI079보다 106.4배 이상 증가되었으며 흑남에 비해서는 1.4배 증가하였다. 색차계에서 Hunter's 값(L, a, b)은 안토시아닌(-5.64<sup>\*\*</sup>, 5.21<sup>\*\*</sup>와 -1.15)의 L, a에서 유의성이 있는 것으로 보였다. MGI079 돌연변이 계통의 미립 장폭비는 MGI079에 비해서 medium과 bold type으로 분리되었으며, 천립 중은 MGI079 (19.8 g)보다 돌연변이 계통들이 13.6~19.6 g으로 감소하였다. 아밀로스는 MGI079 보다 5.6~23.8% 증가하였고, 배유의 전분립 형태는 비정형 전분립 특성 등 차이를 보였다. Insertional 유래 MGI079 돌연변이 계통들의 항산화 활성 분석에서 MGI079-2-1와 MGI079-2-6은 MGI079와 흑남보다 항산화력이 높은 기능적 가치로 미립특성과 관련하여 색소 자원의 개발뿐만 아니라 신식품종 육성에 필요한 예비품종으로 실용화가 기대된다.