

GOVP1200513427

벼 건강기능성 품종 및 제품 개발
Development of Functional Speciality Varieties and Food
Products in Rice

서울대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “벼 건강기능성 품종 및 제품 개발” 과제 의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 9 월 20 일

주관연구기관명 : 서울대학교
총괄연구책임자 : 고 희 중
세부연구책임자 : 고 희 중
연 구 원 : 진 중 현
연 구 원 : 조 영 일
연 구 원 : 권 순 욱
연 구 원 : 함 태 호
연 구 원 : 권 준 수
협동연구기관명 : 경북대학교
협동연구책임자 : 강 미 영
연 구 원 : 이 연 리
연 구 원 : 남 연 주
연 구 원 : 유 경 아
협동연구기관명 : 아주대학교
협동연구책임자 : 남 석 현
연 구 원 : 최 선 필
연 구 원 : 이 지 혜

요 약 문

I. 제 목

벼 건강기능성 품종 및 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 목적

: 건강기능성 성분이 다량 함유된 다양한 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발하고, 특수미의 건강기능성 성분 동정과 실험동물을 통한 건강증진 및 약리효과 증명하고자 한다.

2. 필요성

○ 기술적: 우리나라의 벼 품종개량 기술은 수량성, 식미품질 등에서는 세계적인 수준이며 우수품종들이 다수 육성되어 있으나, 건강기능성물질을 다량 함유하는 다양한 특수미 품종 개발은 미흡한 실정이다. 또한 일부 개발되어 있는 특수미들의 건강기능성에 대한 생리·생화학적 구명과 임상효과 실험이 되어 있지 않아 이에 대한 연구가 시급하다.

○ 경제 산업적: 벼는 세계적으로는 물론 우리나라의 가장 중요한 식량공급원일 뿐 만 아니라, 경제적으로도 대단히 중요한 위치를 점유하고 있다 (우리나라 쌀생산액은 년 10조를 상회함). 그러나 WTO 체제하에서 쌀시장이 위협받고 있는 바 장차의 무한경쟁시대에 대비하여 우리쌀의 대내외 경쟁력을 향상시키고 부가가치를 제고하여 쌀산업의 이윤을 극대화하여야 하며 수출지향적인 연구개발을 서둘러야 한다.

○ 사회문화적 : 문명이 발달하고 생활이 풍요해지며 노령화사회로 진입함에 따라 질병의 양상도 변모되어 암이나 만성, 퇴행성 질환 즉 성인병으로 인한 사망률이 점점 높아지고 있다. 주곡식품인 쌀의 일상적인 소비를 통하여 암이나 성인병을 예방할 수 있다면 노령화사회에서 개개의 국민에게 돌아갈 부담을 감소시키는데 큰 역할을 할 것으로 판단되며, 우리나라의 식문화 발전 계승의 의의도 크다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발: 새로운 특수미 유전자원을 발굴하고, 특수미간 결합에 의한 다양한 계통들을 개발하며, 결과적으로 품종을 육성하여 출원한다. 또한 육성되는 특수미들을 사용하여 제품가공적 특성을 특성을 평가하여 상품으로 개발하고, 식품가공적 특성을 평가한다.

2. 특수미의 건강기능성 성분 동정과 실험동물을 통한 건강증진 및 약리효과 증명: 특수미의 영양성분과 식품적 가치를 평가하고, 동물실험에 의한 특수미의 생리

학적 및 기능적 가치를 평가한다. 특수미의 생리활성물질 분석법 확립하고 항암활성과 면역기능 조절 활성을 평가한다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구결과

(1) 건강기능성 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발

○ 특수미 신 유전자원 발굴 : 화선찰벼에 MNU를 처리하여 등숙이 진전되면서 내영과 외영 사이가 완전히 밀착되지 않고 벌어진 채로 등숙이 완료되는 split-hull 돌연변이 '74723'를 개발하였다. 또한 육성계통중 자연변이에 의해 74723과 유사한 split-hull 돌연변이 '16537'를 발견하여 고정시켰다. 특수미 유전자원을 발굴하던 중에 등숙후에도 현미가 녹색인 상태가 오래 지속되는 녹미 유전자원 합계41호, 길립녹미, 북경녹미, 생동찰을 발굴하였다

○ 특수미 계통 육성: 단일 특수미 계통과 특수미 특성이 조합된 20여 조합 228개의 다양한 계통들을 육성하였다. 이들은 금후 고정도를 높이고 각각의 기능성 성분 함량 및 다른 농업형질들을 검토하여 품종등록할 예정이다.

○ 유전분석: 계통74723의 split-hull 특성은 한개의 열성유전자에 의해 지배되었고, 계통16537의 특성은 양적형질의 유전특성을 보였지만 광의의 유전력은 높게 나타났다. 합계41의 녹미특성은 양적형질의 유전특성을 보였으며, 광의의 유전력은 0.51-0.92 이었다. ○ C3G 함량: 종피색의 질적형질 분리와는 다르게 양적형질의 특성을 보였으며 F2-F3 상관에 의해 구한 표준화된 유전력은 0.779이었다.

○ 특수미 품종보호출원 및 등록: 본 연구중에 1개의 품종 “서농6호(찰벼거대배아미)”를 품종보호 및 국가등록품종목록에 등재하였으며, 5개의 특수미품종 “서농8호(거대배아미), 서농9호(분상질미), 서농10호(당질미), 서농11호(분상질거대배아미), 서농12호(통일형 거대배아미)”를 품종보호 출원하였다.

○ 특수미의 제품가공적 특성 평가 및 상품개발: 거대배아계통의 발아현미 제조를 위하여, (주)신지가 (주)썬테크(대전 소재)와 생산장비를 시험제작하여 시범 생산에 성공하였다. 거대배아미를 현미로 상품화하였고, 잡곡 개념으로서 혼합16곡의 제품을 개발하였다. 또한 거대배아미 현미를 주원료로 하는 생식을 (주)성원유업 및 (주)오행생식과 협력하여 개발하였다. 홍국균 추출물과 식이섬유를 코팅한 시제품을 개발하였다.

○ 특수 가공미의 식품가공 적성: 발효쌀(홍국균, 상황버섯, 아가리쿠스, 동충하초)의 식미는 일반 백미에 비해 낮았으며, 식이섬유 코팅쌀의 경우는 유사하였다. 취반후의 물성도 불량하였다. 그 중 상황버섯쌀과 식이섬유코팅쌀은 첨가하면 제빵이 되었으나 기호도는 밀가루 100% 빵에 비해 혼합비율이 높을수록 저하하였다.

(2) 특수미의 식품영양 및 생리학적 연구

항산화 효과의 주성분인 폴리페놀 화합물 함량은 일반미에 비해 기능성 쌀에서 모두 높았으며, 홍국균 쌀이 가장 높았다. 발아에 의한 페놀성 화합물의 증가는 화청거대배아미에서만 뚜렷하였다. 피틴산의 함량은 상황버섯 쌀과 식이섬유코팅 쌀이 높았으나 전반적으로 기능성 쌀은 거의 비슷하였다. GABA의 함량은 상황버섯 쌀이 가장 높았다. 거대배아미 품종의 GABA의 함량이 일반 품종들보다 높았으나 발아에 따른 GABA의 증가율은 일반 품종의 쌀이 우수하였다.

DPPH에 대한 전자 공여능으로 항산화성을 측정한 결과, 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀의 활성이 가장 높았으며 기능성 쌀들은 전반적으로 일반미보다 항산화활성이 높았고, 거대배아미 품종이 일반품종에 비해서 우수하였다. 그러나 발아에 의한 항산화성의 증가율은 일반미 품종이 거대배아미보다 높았다.

기능성 특수미의 식이가 지질대사 개선에 미치는 영향을 조사한 결과, 총 콜레스테롤 농도는 홍국균 쌀 처리군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 일반미군과 상황버섯 쌀 식이에서 20% 증가하였고 홍국균 쌀 식이군에서도 유의적인 증가가 관찰되었다. 모든 실험군에서 HTR(HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤)이 대조군에 비해 높은 것으로 볼 때, 혈중 지질 강하에 효과적인 것으로 확인되었다. 또한 이와 같은 발아거대배아미군에서도 관찰되었다. 간의 TBARS함량 및 항산화효소인 Catalase, GSH-px, SOD의 활성을 측정한 결과도 대조군에 비해서 기능성 특수미 식이군이 전반적으로 낮았으며 특히 발아거대배아미가 유의적으로 낮았다. CAT 활성도는 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀 식이군에서 유의적으로 증가된 반면 GPx 활성도는 유의적으로 감소하였다. SOD 활성도는 홍국균 쌀 식이군에서 유의적으로 증가하였다. 홍국균 쌀은 혈장과 간조직의 지질과산화 생성물 수준을 유의적으로 저하시키는데 매우 효과적이라는 사실이 나타났고, 발아 거대배아미 식이가 혈청중의 GOT와 GPT값을 저하시켰고 특히 홍국균 쌀은 GPT값의 저하에 매우 효과적이었다.

기능성 특수미 식이의 당뇨개선효과를 조사한 결과, 발아거대배아미와 거대배아미는 장통과 시간이 짧으며, 분변고형물의 양을 유의적으로 증가시켰으며, 변의 수분보유량도 정상군들에 비해서 전반적으로 높았다. 분변 중성스테로이드의 함량도 발아거대배아미군 및 거대배아미군이 높게 나타났으며, 변으로 배설되는 담즙산의 함량 또한 유의적으로 높게 나타났다. 또한 당뇨동물의 공복시 혈당 수준을 유의적으로 낮추는 효과가 있었으며, 이당류 분해효소인 lactase, maltase, sucrase의 활성을 저해시킴으로서 혈당상승을 억제시키는 것으로 볼 수 있었다. 간 조직의 중성지방과 총콜레스테롤의 함량도 거대배아미와 발아거대배아미를 급여한 군에서 감소되는 현상이 나타났으며, catalases, SOD, GPX등 항산화 효소들의 활성도 높은 경향을 나타

내었고, GOT 및 GPT 활성도 억제효과 및 간 조직중의 지질 과산화물 억제효과도 관찰되었다. 한편 혈장 중 비타민 A, E 농도는 높게 나타났으며, 혈중의 중성지방과 총콜레스테롤 수준 및 동맥경화지수도 낮았다. 혈장중의 지질과산화물 수준도 발아거대배아미와 거대배아미의 경우 낮았다.

(3) 특수미와 기능성 쌀의 건강기능성 생리활성에 대한 검색과 평가

Linoleic acid 자동산화에 대한 억제활성은 홍국균쌀과 발아유색미가 가장 높은 반면, erythrocyte ghost cell membrane 지질의 과산화에 대한 억제활성은 발아거대배아미가 가장 높게 나타났다. Reducing power는 무발아유색미와 홍국균쌀, 발아거대배아미가 우수하였다. Superoxide anion에 대한 소거활성은 무발아유색미, 발아유색미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였고, hydroxyl radical에 대한 소거활성은 발아유색미, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였다. 세포 내 활성산소종에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아유색미, 무발아거대배아미, 발아현미 및 발아거대미가 우수하였다.

E. coli PQ37을 지시세포로 mitomycin C가 유도한 DNA 돌연변이에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 상황버섯쌀이 우수하였고, mitomycin C에 의한 산화적 DNA strand breakage에 대한 억제활성은 무발아유색미, 발아유색미, 발아거대배아미 및 발아현미에서 우수하게 나타났다.

종양형성의 첫 단계인 tumor initiation에 대한 억제활성을 V79 cell을 지시세포로 사용하여 조사한 결과, 발암원 4-NQO를 사용했을 때 상황버섯쌀, 무발아유색미, 홍국균쌀 및 아가리쿠스쌀의 활성이 우수하였다. LPS로 자극된 대식세포주 RAW264.7 세포의 NO 생성에 대한 억제활성은 홍국균쌀이 가장 우수하였고, MMP9 활성에 대한 억제능은 무발아유색미, 발아유색미, 무발아현미 및 홍국균쌀이 우수하였다. 비만세포주인 RBL-2H3의 histamine 방출에 대한 억제활성을 조사한 결과, A23187 및 IgE 자극 모두에서 동충하초쌀의 유의한 억제효과가 관찰되었으나 그 활성은 높지 않았다.

무발아거대배아미, 발아거대배아미, 동충하초쌀 및 홍국균쌀의 식이가 종양형성에 미치는 영향을 조사한 결과, 홍국균쌀은 유의하게 종양의 형성을 억제하였고 대식세포의 포식활성을 유의하게 활성화시키는 결과를 보여, 홍국균쌀이 대식세포의 활성화를 통하여 종양을 종양을 억제할 가능성을 보여주었다.

SUMMARY

Title: Development of Functional Speciality Varieties and Food Products in Rice

Background: Interests on healthy food are growing with the elevation of living standard worldwide. As a consequence, functional speciality rices have been focussed to meet the demand of rice markets. However, varieties for this purpose have not been developed yet and the functionality of speciality rices, which are mostly fermented rices with microorganisms and commercialized, has not been studied extensively.

Objectives: The present study aims to develop rice varieties and rice products having functional speciality to human health, and to investigate the biochemical components and properties of functional speciality rices with the verification of their functions through experiments with animals.

Summary of the Results

1. Development of rice varieties and rice products having functional speciality

Two split-hull mutant, 74723 and 16537, were induced through chemical mutagenesis using MNU on Hwasunchalbyeon and by natural variation, respectively. Green rices such as Hexi 41, Jilin nokmi, Beijing nokmi and sangdongchal were exploited in germplasms collected from worldwide. A number of speciality rice lines were bred through combining giant embryo, sugary endosperm, floury endosperm, colored rice, etc.

In split-hull mutant line (74723) induced by MNU, the expression of split-hull characteristics was stable under different temperatures and fertilizer application levels. The hulls of the mutant began to be split about 15 days after heading and stopped before yellow ripe stage. The ratio of split-hull in 74723 was over 30% on the average with variations along panicles and plants. The hull-splitting was mainly caused by the relatively smaller girth of hull compared to the original cultivar. The brown-rice weight

of the split-hull grains in the mutant was also higher than regular grains in the original cultivar. The F₂ populations derived from the crosses between the mutant line and regular cultivars were segregated into normal and split-hull plants fitting to 3:1 ratio. This indicates that the split-hull trait is controlled by a recessive gene. In the other mutant line (16537), hull-splitting was initiated about 15 days after heading in the field, which was significantly earlier in greenhouse. The ratio of split-hull in 74723 was over 95% on the average with little variations along panicles and plants. A split-hull was caused by relatively larger brown rice girth than hull girth. Therefore, the brown-rice weight of split-hull grains was significantly higher than those of non-split-hull grains. Split-hull trait in 16537 was segregated in a quantitative fashion in F₂ populations, indicating that the trait was controlled by polygenes. Broad-senses heritabilities of the trait were over 93%.

We selected high C3G rice varieties and made crosses between purple rices and between purple and white rices in order to investigate the inheritance mode of C3G concentration in segregating populations. All of the purple rices were found to have the same two dominant complementary genes for color pigmentation, accompanied with minor genes affecting the depth of color. The C3G concentration of brown rice exhibited continuous variations inclined toward the lower value in all of the F₂ populations. Several transgressants in C3G concentration were also found varying more or less depending on the crosses. There were significant correlations between C3G concentration and L (lightness) and b (yellowness) values which were measured by color difference meter. It was inferred that C3G concentration be controlled by additional genes besides two major genes conferring color pigmentation. Standardized heritability for C3G concentration estimated through selection experiment in F₂ and F₃ was significantly high suggesting that the selection for C3G concentration in early generations would be effective.

A variety, Sunong 6 (waxy giant embryo rice), was registered to the official catalogue of varieties in Korea, and five special quality lines, Sunong 8 (giant embryo rice), Sunong 9 (floury endosperm rice), Sunong 10 (sugary endosperm rice), Sunong 11 (floury endosperm rice with giant embryo), and Sunong 12 (Tongil type giant embryo rice), were applied for the registration of variety protection and the official catalogue of varieties in Korea. Agronomic and quality characteristics were investigated.

A system to produce germinated brown rice in a large scale using giant embryo rice was set up by Shinji Co. in cooperation with SunTech Co. The giant embryo rice is being merchandized

and rice products such as blended 16 cereal grains were developed. In addition, a raw grain product using giant embryo rice as a major component was developed in cooperation with SungwonYooup Co. and Ohangsangsik Co. A rice product coated with *Monascus ruber* extracts and dietary fiber was developed.

2. Nutritional and physiological studies on functional specialty rices

In this study, effects of the functional specialty rices on in vivo physiology was investigated through determination of the contents of physiologically active constituents and antioxidativity of the ethanolic extracts from the specialty rices, and evaluation of effect on improvement of lipid metabolism and diabetes.

Functional specialty rices have higher content of polyphenolic compound, the major constituents for expressing antioxidativity of natural products, than general wild type rice, among them, RMR(Rice fermented with *Monascus ruber*) has the highest content. Increase in phenolic compounds according to the germination process was most apparent for Hwachung giant embryo rice. RSW(Rice fermented with Basidiomycota) and Dietary fiber-coating rice have the highest content of phytic acid, although functional specialty rice varieties showed similar level of phytic acid content. RSW has the highest GABA content. Although giant embryo rice has the higher GABA content than general wild type rice, general wild type rice has greater rate of increase in GABA according to the germination process.

Antioxidative activity was assessed by determining electron donating activity to DPPH radicals. The results showed that RSW and RMR has the highest activity, although the activity of the functional specialty rices was higher than that of general wild type rice. The results also showed that the activity of the rice variety with giant embryo was overall higher than that of general wild type rice. However, general wild type rice has greater rate of increase in antioxidativity according to the germination process.

Dietary administration of functional specialty rices was performed to assess the impact on in vivo lipid metabolism, showing that RMR diet significantly decreases total serum cholesterol level. Compared to the control group fed with high cholesterol diet, HDL-cholesterol concentration in serum increased 20% by both wild type rice and RSW diets, and a significant increase in HDL-cholesterol level was also observed for the group fed with RMR diet. As observed for the highest HTR(HDL-cholesterol/total cholesterol)

values, specialty rices such as RMR and RSW were found to be effective in decreasing serum lipids contents. Such effect was also found in germinated giant embryo rice. Hepatic TBARS content and activities of antioxidative enzymes such as catalase, GSH-px, and SOD was also assessed, showing that functional specialty rice diets were operative to decrease these enzyme activities, of those specialtu rice diets, giant embryo rice diet was the most effective. Whereas significant increase in the CAT activity level was found in the group fed with RSW and RMR diets, the GPx activity level decreased significantly. We found that RMR effectively operates to decrease serum and hepatic lipid peroxidation products, and also that germinated giant embryo rice diet decreased serum GOT and GPT values, especially, RMR diet was effective to lower serum GPT value.

The study on the effects of functional specialty rice diets on the improvement of diabetes showed that germinated or non-germinated giant embryo rice diets endowed reduced intestinal transit time, but a significant increase in solid fecal amount with more water content compared to the control group. Germinated or non-germinated giant embryo rice diet resulted in producing feces with significantly high contents of neutral steroids, as well as bile salts. In addition, these diets were found to be effectively operate to lower blood sugar level in fasting state, which might be due to inhibition of hydrolytic enzymes for disaccharides, such as lactase, maltase and sucrase. Decrease in total contents of hepatic triglycerides and cholesterols was found in the group fed with germinated or non-germinated giant embryo rice diets, and decrease in hepatic antioxidation-related enzymes, such as catalases, SOD, GPX, etc., plus GOT or GPT activity values and hepatic lipids peroxidation products levels were also found in the same diet group. Dietary administration of germinated or non-germinated giant embryo rice endowed other physiological impacts, such as increase in serum vitamine A and E concentrations, decrease in serum triglycerides, total cholesterols, atherogenic index, and serum lipids peroxidation products level.

3. Screening and evaluation of physiological functionalities for health on specialty and functional rices.

In this study, antioxidant activity, antitumor activity and modulatory activity for immune responses were determined as the measure for physiological functionalities for health of specialty and functional rices, thereby evaluating their applicability to the functional food materials. As the measure of antioxidativity, inhibitory activity to both linoleic acid

autoxidation and peroxidation of erythrocyte ghost cell membrane lipid, reducing powers, scavenging activity to both superoxide anion and hydroxyl radical, together with endogenous reactive oxygen species were used to evaluate antioxidativity of the rice extracts. As the measure of antitumor activity, antimutagenic activity using SOS chromotest technique, inhibitory activity to oxidative DNA strand breakage, inhibitory activity to the cellular event for tumor initiation, as well as inhibitory activity to the *in vivo* tumor formation derived from implanted melanoma cells were employed. Modulatory action to immune responses were screened with focusing on the activities for NO and matrix metalloproteinase(MMP) generation, histamine release from mast cells, together with NO generation and phagocytosis of macrophages.

Whereas the inhibitory activity for linoleic acid autoxidation was highest for RMR(Rice fermented with *Monascus ruber*) and germinated pigmented rice, inhibition to peroxidation of erythrocyte ghost cell membrane lipid was found to be most apparent for germinated giant embryo rice. Reducing power was highest in non-germinated pigmented rice, RMR and germinated giant embryo rice. Non-germinated pigmented rice, germinated pigmented rice, RMR and RCM(Rice fermented with *Cordyceps militaris*) most effectively scavenged superoxide anions, and effective scavenging action to hydroxyl radical was found in germinated pigmented rice, germinated giant embryo rice, RMR and RCM. We also found that RCM, germinated pigmented rice, non-germinated giant embryo rice, germinated wild type brown rice and germinated giant embryo rice were highly active on scavenging of endogenous cellular reactive oxygen species.

When used *E. coli* PQ37 as a indicator for antimutagenicity assay, RCM, germinated giant embryo rice, RMR and RSW(Rice fermented with Basidiomycota) were found to be active, however, inhibitory action to mitomycin C-induced oxidative DNA strand breakage was greatest in non-germinated pigmented rice, germinated pigmented rice, germinated giant embryo rice and germinated wild type brown rice. We determined inhibitory activity for tumor initiation, the first step of multistage tumor development, using V79 cells as the indicator cell, showing that RSW, non-germinated pigmented rice, RMR and RAB(Rice fermented with *Agaricus blazei*) were highly effective in suppression of carcinogen 4-NQO-induced tumor initiation.

Inhibition of NO generation from LPS-stimulated macrophage was greatest when treated with RMR extract, and then suppressive ability to macrophage-derived MMP9 activity was the great in non-germinated pigmented rice, germinated pigmented rice, non-germinated wild type brown rice and RMR. We also determined inhibitory activity to

histamine release from mast cell line RBL-2H3. The result indicated significant inhibition of both A23187 and IgE-stimulated histamine release by the treatment of RCM extract, however, drastic inhibition was not observed. Then we investigated the impact of dietary administration of non-germinated giant embryo rice, germinated giant embryo rice, RCM and RMR on *in vivo* tumor formation, showing significant blockade of implanted tumor growth, as well as significant activation of phagocytosis of macrophages. The results suggested a possible action of RMR to suppress tumor development through activation of macrophage.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	13
Chapter 2. Review of the research progress	15
Chapter 3. Contents of the project and research results	19
Sec.1. Development of rice varieties and rice products having functional speciality	19
Sec.2. Nutritional and physiological studies on functional specialty rices	52
Sec.3. Screening and evaluation of physiological functionalities for health on specialty and functional rices	110
Chapter 4. Achievements and contribution to related fields	159
Chapter 5. Application plan of research results	163
Chapter 6. Information obtained during implementation of the project	164
Chapter 7. References	164

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	13
제 2 장	국내외 기술개발 현황	15
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	19
제1절	건강기능성 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발	19
제2절	특수미의 식품영양 및 생리학적 연구	52
제3절	특수미와 기능성 쌀의 건강기능성 생 리활성에 대한 검색과 평가	110
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	159
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	163
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	164
제 7 장	참고문헌	164

제1장 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

본 연구의 최종목표는 우리쌀의 부가가치를 제고하기 위하여 건강기능성 성분이 다량 함유된 다양한 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발하고, 특수미의 건강기능성 성분 동정과 실험동물을 통한 건강증진 및 약리효과 증명함에 있다.

2. 연구개발의 필요성

1) 기술적 측면

우리나라의 벼 품종개발 기술은 수량성, 식미품질 등에서는 세계적인 수준이며 우수품종들이 다수 육성되어 있으나, 건강기능성물질을 다량 함유하는 다양한 특수미 품종 개발은 미흡한 실정이다.

이미 본 연구진은 거대배아미, 당질미, 중간찰벼 등을 개발하여 예비분석한 결과 아미노산, 지질, 비타민 등 영양성분의 함량이 보통쌀에 비해 우수함이 입증된 바, 쌀의 부가가치 제고에 귀중한 재료가 될 것이나, 이 특수미들의 건강기능성 성분에 대한 생리.생화학적 구명과 임상효과 실험이 되어 있지 않아 이에 대한 연구가 시급하다. 이들 특수미는 일반미에 비하여 지질과산화 억제 및 활성산소 라디칼(Reactive Oxygen Species) 소거능력으로 대표되는 항산화활성과 항돌연변이활성 및 초기 간암억제활성이 월등히 우수 항산화성 물질이 풍부할 것으로 예상되며, 내재성 면역계의 주역인 섭식세포(phagocyte)의 비정상적인 활성화를 막고, 종양괴사인자(Tumor Necrosis Factor) 등의 싸이토카인의 분비를 조절하는 biological response modifier로 작용할 가능성이 크다. 따라서, 특수미에 함유된 항산화물질 가운데 대표적인 지용성 항산화물질인 tocopherol 과 oryzanol, 수용성 항산화물질인 페놀산의 함량을 평가하고, 함량과 항암 및 면역기능 증강활성과의 관련성을 조사할 필요가 있다.

면역계는 신경내분비계의 조절을 받고 있기 때문에 기능성 쌀의 생리활성물질 중에서 중추신경계에 대한 신경조절물질의 존재여부를 구명할 필요성이 있다. 이미 벼 과식물의 종자에 melatonin의 존재가 보고되어 있으므로 특수미나 기능성 쌀에 함유된 melatonin의 품종별 함량에 대한 평가와 더불어 동물성 melatonin 과의 기능적 유사성에 대해서도 조사할 필요성이 있다.

한편 특수미 품종들은 일반미에 비해서 생리활성 효과를 가지는 특수성분(식이섬유, 불검화물, 플라보노이드 화합물)이 다량 함유되어 있을 가능성이 크다. 또한 특수미를 발아 및 발효시키면 그 과정을 통해서 구성성분들의 변화가 예상되며, 그 결

과 탄수화물, 지질, 단백질대사와 관련된 효소 및 대사산물에 기인하는 다양한 생리활성 물질 생성도 기대되므로 이들의 다각적인 검색이 필요하다. 특수미가 보유하는 생리활성물질들이 고지혈증, 동맥경화 및 당뇨병의 예방치료에 어떠한 효과가 있는지 동물실험을 통한 영양 생리학적 검토가 필요하다. 본 연구진은 실험동물의 유지(관리)와 순환기질환과 관련된 지질대사변화에 대한 구체적인 측정분석기술이 체계적으로 갖추고 있어 이러한 연구를 효율적으로 수행할 수 있다.

또한 개발한 특수미들을 두 종 이상 결합시켜 품종을 육성함으로써 단독시 보다 월등히 우수한 건강기능성 쌀이 육성될 수 있으며 본 연구진에 의해 이미 특수품질이 결합된 계통육성이 착수되어 있다.

2) 경제 산업적 측면

벼는 세계적으로는 물론 우리나라의 가장 중요한 식량공급원일 뿐 만 아니라, 경제적으로도 대단히 중요한 위치를 점유하고 있다 (1999년 우리나라 쌀생산액은 10조 451억원이며 이는 농업생산액의 30.6%, GDP의 2.1%에 해당함). 식량안보이외에도 쌀을 생산하는 논의 공익적 기능은 년 13조 4천억원 (홍수조절, 지하수함양, 대기정화 등)이고, 쌀산업에 부수되는 농공업, 서비스업 등 국가 경제전반에 미치는 영향이 지대하다. WTO 협상이 진행중이지만 결과에 관계없이 2004년도 이후에는 쌀을 20만톤 이상 수입해야 하는 등 점차로 다가오는 국제무역의 무한경쟁 시대에 대비하여 우리쌀의 경쟁력을 향상시키고 부가가치를 제고하여 쌀산업의 이윤을 극대화하여야 하며 수출지향적인 연구개발을 서둘러야 한다.

식품에서 검색된 건강 기능성 생리활성은 다양한 식품의 성분들이 나타내는 활성의 총체적 발현이기 때문에 정제된 약물에서 보이는 과잉섭취로 인한 생체장해가 발생하지 않으며 제품의 개발에 신약개발과 같은 막대한 자금과 시간이 요구되지 않는 이점이 있으므로, 소자본으로 고부가가치가 보장되는 상품개발이 가능하다.

우리나라에도 여러 회사들이 특수미를 개발 시판하고 있으나, 쌀 표면에 영양성분을 코팅하거나 수확후 가공 처리를 달리한 제품 정도임. 수확후의 가공처리 만으로는 고건강기능성 쌀제품 개발에 한계가 있고 또한 소비자의 기호에도 부응하기 어려우므로 특수미 품종 자체를 다양화하고 이에 부가적으로 제품화기술이 수반되어야 소비자와 생산자를 모두 만족시킬 수 있다. 쌀에서 기능성식품 신소재의 개발을 통하여 의약과 식품의 중간형태로써 소비될 수 있는 식품산업분야를 창출하여, 식품산업계의 새로운 활력을 가져올 재료로서 고건강기능성 특수미의 이용방안을 검토할 필요성이 있다.

우리쌀의 경쟁력 제고를 위해 가장 필요한 것은 품질의 고급화이며, 건강기능성 물질이 강화된 벼품종을 육성하여 UPOV 체제하에서 종자와 쌀을 수출할 수 있도록

적극적으로 노력하여야 하고, 또한 특수미의 건강기능성 성분을 의약품화하여 수출의 길을 열어야 한다.

3) 사회 문화적 측면

문명이 발달하고 생활이 풍요해지며 노령화사회로 진입함에 따라 질병의 양상도 변모되어 암이나 만성, 퇴행성 질환 즉 성인병으로 인한 사망률이 점점 높아지고 있다. 일상적으로 섭취하는 식품의 고기능화에 의한 식생활 개선을 꾀하고자 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있다. 주곡식품인 쌀의 일상적인 소비를 통하여 암이나 성인병을 예방할 수 있다면 노령화사회에서 개개의 국민에게 돌아갈 부담을 감소시키는 데 큰 역할을 할 것으로 판단된다.

지방과다섭취, 과음 또는 복잡한 현대사회의 스트레스에 의해서 유도되는 고지혈증, 동맥경화증 등의 만성질환은 중장년기부터 급격히 증가하는 위험한 질환이므로 치료·예방대책 관리를 위해 지질대사 개선용 기능성식품 및 건강증진식품의 개발이 요구된다. 최근 유전자조작식품의 등장과 가공 편의식품의 범람으로 인해 천연 건강 기능성식품에 대한 수요가 급증하고 있으므로, 천연의 특수미 품종들을 보급하여 이러한 수요를 충족시켜야 하며, 제품화의 노력을 추가하여 상품으로서의 부가가치를 제고하여야 할 것이다. 주식으로 이용되는 쌀 및 쌀가공식품을 생리활성 효과가 우수한 기능성식품 품목으로 적극적으로 개발·이용함은 우리나라의 식문화 발전 계승의 의미에서도 의의가 크다.

제2장 국내외 기술개발 현황

1. 국내외 기술개발 현황

1) 국 내

우리나라의 특수미는 2004년 현재 147개의 보급 품종 중 17개의 품종이 가공용 대립(양조)미, 취반 또는 가공용 유색미, 향미, 고섬유질미 등으로 개발되어 있을 뿐이며, 본 연구진(서울대)에 의해서 거대배아미, 당질미, 분상질배유미 등의 특수미 (표1 참조)가 개발되었다. 이들 특수미들에 대한 예비분석 결과 거대배는 지질 함량, 토코페롤(비타민E) 함량, 라이신 함량 등이 월등히 높고, 고당미는 당분이 7~10%로 높음과 동시에 단백질·지질함량이 매우 높았고 호분층이 매우 두터웠음. 진분 조성 돌연변이들은 전분물성이 다양하게 변하였으며 이들 이외에도 고단백질 돌연변이 등을 확보하고 있다.

표1. 본 연구진이 개발한 특수미의 일부

계 통 명	아밀로스 함량 (%)	당 함량 (%)	배아 무게 (g/현미1000립)	주요 특성
화청벼	19.1	1.41	0.59	원품종
화청 ge ^s	-	-	1.90	거대배아
화청 du-1	7.0	-	-	중간찰벼
화청 du-2	7.1	-	-	“
화청 du-4	4.2	-	-	“
화청 du-6	5.9	-	-	“
화청 flo	17.1	-	-	분상질 배유
화청 wx	2.2	-	-	찰벼
화청 su-1	-	7.45	-	당질미
화청 su-2	-	10.15	-	당질미

지금까지 일부 유전자원 및 품종들에 대해 C3G, SOD 등 일부 항산화물질의 변이에 대해 검토한 바는 있지만 토코페롤이나 기타 건강기능성 성분 동정 및 약리효과 등에 대한 연구는 제한되어 있는 실정이며 더욱이 다양한 생리활성 성분들을 전제로 한 고건강기능성 쌀품종 육성에 대한 연구는 시도되지 못하고 있다. 일반쌀을 이용하여 발아 및 발효미의 영양 생리활성검정을 위한 연구 중 지질대사에 관한 연구로는 심장순환기 질환과 관련하여 HMG-CoA reductase, ACAT, CETP 등 효소저해제 탐색에 대한 연구가 본 연구진(경북대)에 의해서 이루어지고 있으며, 지질대사 연구용 transgenic mice를 확보하여 연구를 병행하고 있다.

특수미 가운데 발효처리된 유색미 조추출물에 혈관확장인자가 존재함이 한국식품개발연구원에서 연구 보고되어 있으나, 유색미 이외의 특수미 품종에 대한 연구는 전무하다. 민간요법에서 쌀의 면역계 과민반응에 대한 억제효능이 인정되고 있으나, 취반미 조추출물의 비반세포의 탈과립 억제활성만이 보고되어 있을 뿐, 내재성 면역 및 유도성 면역기능의 증진에 미치는 효과는 아직 체계적으로 조사되어 있지 않다.

국내에서 시판되는 특수미들은 특수가공미로 볼 수 있는 것으로서 일반쌀에 영양분을 코팅하거나 쌀을 배지로 균을 배양하던지 일반쌀을 발아시켜 상품화하고 있으며, 건강기능성 물질이 복합적으로 함유된 특수미 품종이 개발되어 있지 않기 때문에 상품원료로 이용하지 못하고 있다. 또한 시판되는 특수미들의 식품·영양·면역·신경기능 등 인체의 항상성 유지를 위한 생리활성 효과에 관한 다각적인 검토는 되지 않고 있다.

2) 국 외

일본에서는 이미 1995년 이전에 저아밀로오스, 고아밀로오스, 거대립, 소립, 향미, 거대배, 유색미 등에 대하여 유망한 24개의 품종을 선정하여 보급하고 있어

특수미 개발에 보다 적극적이지만 특수미 품종의 다양화에는 미진한 실정이다. 중국의 경우 흑미를 중심으로 특수미에 관한 연구가 수행되어져 왔으며 최근들어 향미 및 녹미(綠米) 품종의 개발에도 적극 투자하고 있다.

특수미 중 거대배아미의 발아에 따른 단백질대사와 관련된 효소 및 대사산물에 기인하는 생리활성물질인 GABA(γ -amino butyric acid)의 함량이 증가한다는 일본 농림수산청 식품연구소의 Outsubo 등의 연구가 있다. GABA는 생리활성 아민으로 호흡조절, 심장박동조절, 체온조절 등 신진대사를 원활하게 하는데 중요한 역할을 하며 Huntington's chorea 질환과 관련이 있는 신경전달물질이며, 이것의 신경화학적 역할로는 도파민, 아세틸콜린, 신경 peptide등과 상호작용하며 파킨슨병에의 영향이 검토되고 있는 물질이다. 또한 glutamic acid로 부터 GABA의 생성에 관여하는 효소인 GAD는 발아초기의 보리 배아와 뿌리에서 정제되어 연구되고 있는 효소인데, 본 연구에서 각종 특수미의 발아 및 발효에 따른 GABA함량 변화 및 GAD활성의 변화를 측정 검토함으로써 중추신경 조절효과가 구비된 기능성 신소재로서의 연구영역을 넓힐 수 있을 것으로 판단된다.

일본에서는 혈당강하 효과가 확인된 미강의 수용성식이섬유 및 xylooligo당을 분리정제하여 상품화하고 있으나, 일본이외의 국가에서는 미곡 부산물을 비롯한 곡류의 혈당 강하 효과에 대한 연구는 거의 없다. 이밖에 당뇨병 환자 치료를 위해 현재 경구 혈압강하제로 사용하고 있는 sulfonyl urea계와 biguanide계의 화합물은 생체 거부반응, 독성 등의 부작용이 문제시되고 있어서 천연물로부터 생산된 혈압강하물질이나 혈당강하효과를 가진 식품의 개발이 필요하다.

미국을 비롯한 외국의 경우 콜레스테롤 합성에 관여하는 효소인 HMG-CoA reductase의 저해제 개발에 성공하여 Lovastatin, pravastatin 등이 각각 1조원 이상의 매출을 보이고 있으며 또 다른 콜레스테롤 합성효소로써 squalene synthetase의 저해제를 탐색하는 연구가 시도되어 Merck사에 의한 Zaragozic acid 및 Glaxo사의 squalestatin 이 보고되고 있다. 콜레스테롤 흡수저해제로는 ACAT(Acyl CoA:cholesterol acyltransferase) 저해제 연구가 일본을 중심으로 활발히 진행되고 있으며, 이러한 연구는 생약부분에서는 이루어지고 있으나 식품에 대해서는 거의 없는 실정이다.

쌀의 생리활성은 주로 취반용 쌀겨에 포함된 페놀화합물의 일종인 ferulic acid와 관련 유도체의 항산화활성이나 암세포 증식억제활성에 대한 연구가 중점적으로 수행되어 왔으며, 발효처리된 쌀겨에 AIDS 바이러스의 증식을 억제하는 인자의 존재가 보고되어 있으나, 특수미를 대상으로 한 연구는 전무하다. 구미에서는 쌀의 배아에서 추출하여 약품화한 다양한 토코페롤, 토코트리에놀 정제들이 시판되고 있지만 이는 보통품종의 배아에서 추출한 것으로 그 추출효율이 높지 않으며, 그나마 우

리나라에서는 이에 대한 연구개발이 거의 되고 있지 않다.

생물공학적인 방법으로 베타카로틴 (비타민A) 성분이 강화된 gold rice가 스위스에서 개발되었고, 뒤이어 IRRI에서도 다수의 계통들을 개발하였으나 다른 품질이나 농업적 특성에 대해서는 알려진 바 없어 그 유용성에 대한 검토가 진행중이고 건강기능성에 대한 부분도 아직 미지의 상태이다.

2. 연구개발결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치

본 연구결과를 한마디로 요약하면 특수미를 품종화 및 상품화하였고 이들의 건강기능성을 생화학적으로 그리고 실험쥐를 이용 임상적으로 검증한 것이다. 특수미는 거대배아미, 당질미, 분질미 등이며 이들 중 거대배아미를 중심으로 일반 가공기능미와 비교하면서 건강기능적 특성을 집중 분석하였다. 전술하였듯이 건강기능성을 가지는 천연 특수미 품종을 육성하는 것은 국내에서는 최초이며, 외국에서도 일본에서 품종화한 거대배아미 외에는 아직 개발된 것이 없으므로 본 연구에서 개발된 품종들은 이 분야의 연구에 선도적 역할을 할 것이다. 또한 특수미 유전자들을 결합하여 2종 이상의 특성을 동시에 나타내는 계통들을 다수 육성하였는 바 이들은 천연 기능성쌀의 다양화에 크게 기여할 것이다. 본 연구에서 발굴해 낸 split-hull 돌연변이는 최초의 보고로서 제현의 효율을 높이는데 유용할 것으로 생각된다.

거대배아미는 토코페롤 및 오리자놀 함량, 항산화 활성이 높았고, 특히 GABA 함량은 월등히 높았다. 특히 실험쥐를 이용한 실험에서 콜레스테롤 함량을 낮추었고, 고지혈증 개선과 당뇨 증상 개선에 유의한 효과가 있었다. 항돌연변이 활성도 높았고 면역기능 증진에도 긍정적이었다. 이러한 결과는 배아가 월등히 커진 거대배아미와 주요 코팅미의 기능성을 증명한 것으로서 의의가 크며, 국제적으로 관련 연구의 활성화가 예상된다. 금후 국내외적으로 기능성 쌀의 인식이 제고될 것으로 보이며 시장이 확대될 것으로 판단된다.

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 건강기능성 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발

(제1세부과제)

1. 연구내용 및 방법

가) 건강기능성 특수미 품종 개발

○ 특수미 다양화계통 및 다수성 특수미 계통 육성: 특수미 유전자원의 추가 개발: 풍부한 유전자원을 보유하는 IRRI 및 중국 유전자원센터, 농촌진흥청 유전자원과 및 작물시험장 등과 협력하여 특수미 유전자원을 추가로 확보하였고, 새로운 유전자원은 화학돌연변이제를 처리하여 M2세대에서 선발 후 고정하였다. 이미 개발된 특수미들 (거대배아미, 고당질미, 분상질미, 중간찰미, 고단백미, 고섬유질미 등) 상호간 및 유색미 등과 교배하여 세대축진함으로써 조기에 고정하고 2개 이상의 특수미가 결합된 계통을 선발하였다. 육성되는 계통들은 협동과제에서 영양성분과, 건강기능성 성분들을 분석하였다. 계통육성과정에서 포장의 재배관리는 서울대 부속 농장의 표준방법에 준하였고, 육종연한 단축을 위하여 세대축진온실을 이용하였다.

○ 특수미의 유전분석: 새로이 개발된 특수미 유전자원에 대해서는 일반품종과 교배한 후대 분리집단 및 계통들에서 유전분리를 조사하고 분석하였다.

○ 특수미 계통들의 농업특성 평가 및 우수계통 선발: 다수성 및 다양한 품질이 결합된 특수미 계통들의 재배특성, 수량성 등을 평가하고 우수한 계통을 선발하였고, 선발된 고정계통들은 품종보호등록을 신청하였다.

나) 특수미의 부가가치 제고를 위한 제품화 연구

(주)신지는 본연구진과 협력하는 업체로서, 우리 연구팀이 개발한 품종의 가공적성을 제고하여 상품화를 통한 고부가가치 창출을 꾀하고 있다. 우선적으로 1차년도에는 서울대학교 식물생산과학부 식물육종연구실에서 육성한 서농6호(화청거대배아미)의 생산과 판매전략 수립, 도정 방법 개발, 상품성 제고에 역점을 두어 연구개발을 진행시켰고, 거대배아미를 이용한 발아현미 제조를 시도하였다. (주)신지는 경기도 안성 고삼농협에 서농6호(화청거대배아미찰벼)와 서농8호(화청거대배아미메벼)를 각각 계약재배하여, 조곡으로 2002년 서농8호 무농약재배 50톤, 2003년 서농6호와 서농8호 유기농재배 80톤을 각각 생산하였으며, 2004년에는 무농약재배로 서농6호와 서농8호를 각각 40톤씩 합계 80톤을 생산할 예정이다. 대량생산한 거대배아미 등을 원료로 시제품들을 개발하였다.

2. 연구결과 및 고찰

1) 특수미 신 유전자원 발굴

○ split-hull 돌연변이: 화선찰벼에 MNU를 처리하여 등숙이 진전되면서 내영과 외영 사이가 완전히 밀착되지 않고 벌어진 채로 등숙이 완료되는 split-hull 돌연변이 '74723'를 개발하였다. 또한 육성계통중 자연변이에 의해 74723과 유사한 split-hull 돌연변이 '16537'를 발견하여 고정시켰다 (그림1-1). 이들은 쌀보리와 같이 제현이 쉬운 특성이 있어 제현율을 높일 수 있는 변이체로 사용 가능하고, 제현이 용이하지 않는 특수미와 결합시키던지 다른 용도로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.



그림1-1. split-hull 돌연변이 계통 74723(좌)과 16537(우)

○ 녹미 유전자원: 특수미 유전자원을 발굴하던 중에 등숙후에도 현미가 녹색인 상태가 오래 지속되는 녹미 유전자원 합계41호, 길림녹미, 북경녹미, 생동찰등을 발굴하였다 (그림1-2).

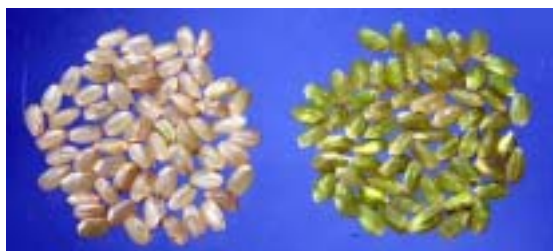


그림1-2. 일품벼 현미(좌)와 녹미인 합계41호 현미(우)

2) 특수미간 결합된 계통 육성 및 평가

특수미와 그들간 특성이 조합된 다수의 계통들을 육성하였다 (표1-1). 그림 1-3은 육성계통들의 종실 외관특성을 나타낸 것이다. 거대배아미는 배아가 보통 품종(새추청벼)에 비해 월등히 크고, 당질미는 종실의 두께가 다소 얇아졌음을 알 수 있다. 그러나 찰벼와 분상질배유, 흑미 등은 별 차이가 없다. 특히 대립겨

대배와 소립거대배 계통들을 육성하였는데, 이들은 소비자들의 다양한 기호에 맞게 품종으로 육성하고자 개발된 계통들이다. 금후 고정도를 높이고 각각의 기능성 성분 함량 및 추가 농업형질을 검토하여 품종등록할 예정이다.

표1-1. 육성된 특수미 계통

계통번호	교배조합	계통수	세대수	특수품질
200107-109	CB243/남풍ge	3	F3	고단백+ 거대배
200110-112	16013/남풍ge	3	F3	극소립거대배
200113-115	16013/IR24M	3	F3	극소립고단백
200122-126	흑진주/화청ge	5	F3	흑미+ 거대배
200156-161	화청su2/신선찰ge	6	F3	당질+ 거대배
200758-782	화청su2/화청flo	25	F4	당질+ 분질
200783-802	화청su2/화청ge	20	F5	당질+ 거대배
200803-809	화청flo/흑남	7	F5	분질+ 흑미
200810-817	길림흑미/화청ges	8	F5	흑미+ 거대배
200821-841	흑진주/화청ges	21	F5	"
200842-853	흑진주/화청flo	12	F5	흑미+ 분질
200854-868	화청su-2/흑도38	15	F5	흑미+ 당질
201020-1034	화청ge/화청flo	15	F5	거대배+ 분질
201501-506	EM90/남풍*3	6	BC2F12	Low amylose
201507-512	EM40/남풍*3	6	BC2F12	거대배
201513-518	남풍*2/CB243	6	BC1F11	Low amylose
201340-373	길림흑미/흑도38 외	34	F5	고 C3G
200170-188	합계41/일품 외	19	F3	녹미
200554-757	길림녹미/합계41 외	14	F3	녹미



그림 1-3. 육성중인 계통들의 쌀알 외관

3) 특수미의 유전분석

가. 개영 (split-hull) 돌연변이체의 유전분리

개영 돌연변이체는 계통 74723이나 16537 모두 포장에서는 개화후 15일 경에 영이 벌어지는 양상을 보였다. 16537의 경우에는 온실조건에서 현저히 개영이 빨라졌다.

표 1-2. 온실 및 포장, 보비와 소비 조건에서 개영이 시작되는 개화 후 일수

	74723				16537			
	Green house (A)	Field (B)	Medium N (A)	Low N (B)	Green house (A)	Field (B)	Medium N (A)	Low N (B)
Hull-splitting	14.8	16.7	15.7	17.2	11.5	16	14.7	14.2

initiation (DAF)								
Difference (A vs B)		ns		ns		**		ns
Percent split-hull (%)	48.7	30.0	39.4	31.1	98.0	95.0	96.0	95.0
Difference (A vs B)		ns		ns		ns		ns

** and ns : Significant at 1% level and not-significant, respectively.

DAF : Days after flowering.

등숙이 진전됨에 따라 개영되는 원인을 구명하기 위하여 변이계통에서 정상영화와 개영된 영화를 비교하고, 74723에서는 원품종과 변이체의 영화특성을 비교하여 나타낸 것이 표1-3이다. 표에 있듯이 74723계통은 원품종 또는 정상종자보다 개영종자에서 외영과 내영의 둘레가 현미의 둘레에 비해 유의하게 작아졌고 이것이 개영의 직접원인으로 나타났다. 반면 16537에서는 정상종자와 개영종자의 영의 둘레가 같은 반면 현미의 둘레가 커졌다. 즉 현미가 영에 비해 상대적으로 커졌기 때문에 개영된 것으로 보인다.

한편 유전현상을 보기 위하여 정상품종과 개영변이계통들을 교배한 F1 이삭에서 개영비율을 본 것이 표1-4이다. 74723이 교배된 F1들에서는 모두 정상적인 이삭특성들을 보여 74723의 개영은 열성유전자에 의해 지배됨을 알 수 있었다. 반면 16537조합 F1 이삭에서는 50% 이상의 개영율을 보였다. F2에서의 개영비율을 개체별로 조사하여 그 빈도분포를 조사한 결과 (표1-5, 그림1-4) 74723의 개영특성은 단순열성유전자에 의해 지배되는 것으로 나타나 이 열성유전자를 *sph(t)*로 명명하였다. 반면 16537의 경우에는 그림1-5에서 보듯이 연속변이를 보여 양적 유전을 하는 것으로 나타났는데, 유전력이 93-98%로 매우 높아 초기세대에서의 선발육종이 유효할 것으로 판단되었다.

표1-3. 정상영화와 비교한 변이체들의 곡립 특성

	74723			Hwa-sunchal (C)	A vs C	B vs C	16537		F ₂ plants ^{a)} (50% split-hull)	
	Split-hull grain (A)	Non-split-hull grain (B)	5.63				Split-hull grain	Non-split-hull grain	Split-hull grain	Non-split-hull grain
Lemma width	5.27	5.69	5.63				4.59	4.64	5.06	4.9
Difference		*		*	ns		ns			ns
Palea width	2.87	3.03	3.04				2.76	2.72	2.95	2.78
Difference		ns		ns	ns		ns			ns
Brown rice length	5.14	5.36	5.24				5.49	4.96	5.05	4.94
Difference		ns		ns	ns		*			ns
Brown rice width	2.84	2.99	2.94				2.55	2.33	2.64	2.5
Difference		ns		ns	ns		**			ns
Brown rice thickness	2.12	2.02	2.04				1.92	1.72	1.89	1.74
Difference		ns		ns	ns		**			*
Brown rice girth (A)	7.1	7.22	7.1				6.48	5.84	6.5	6.1
Difference		ns		ns	ns		**			**
Hull girth (B)	8.14	8.72	8.67				7.35	7.37	8.01	7.68
Difference		*		**	ns		ns			ns
(A/B)*100 (%)	87.1	82.9	82.9				87.0	79.4	81.2	79.4
Difference		*		**	ns		**			ns

a) F₂ plants of 16537/ Ilpumbyeo cross

* and ** : Significant at 5% and 1% level, respectively. ns : not-significant .

표 1-4. 정상품종과 변이계통과의 교배 F₁ 식물체의 개형 비율 (%)

♀ \ ♂	74723	16537	Ilpumbyeo	Hwa-sunchal	Koshihikari
74723	48.7	-	3	2	1
16537	-	98.0	70	84	69
Ilpumbyeo	0	54	1≤	-	-
Hwasunchal	1	75	-	1≤	-
Koshihikari	1	76	-	-	0

표 1-5. 74723 변이계통과 정상품종과의 교배 F1 및 F2에서 개형특성의 유전분리

Cross combination	Genera-tion	No. of plants		Total	X ² (3:1)	p
		Wild type	Split-hull			
74723	parent	0	50			
Hwasunchal	parent	50	0			
Koshihikari	parent	50	0			
Ilpumbyeo	parent	50	0			
74723 / Hwasunchal	F1	6	0	6		
74723 / Koshihikari	F1	6	0	6		
74723 / Ilpumbyeo	F1	6	0	6		
74723 / Hwasunchal	F2	169	63	234	0.59	0.5-0.1
74723 / Koshihikari	F2	211	60	271	1.18	0.5-0.1
74723 / Ilpumbyeo	F2	148	44	192	0.44	0.9-0.5

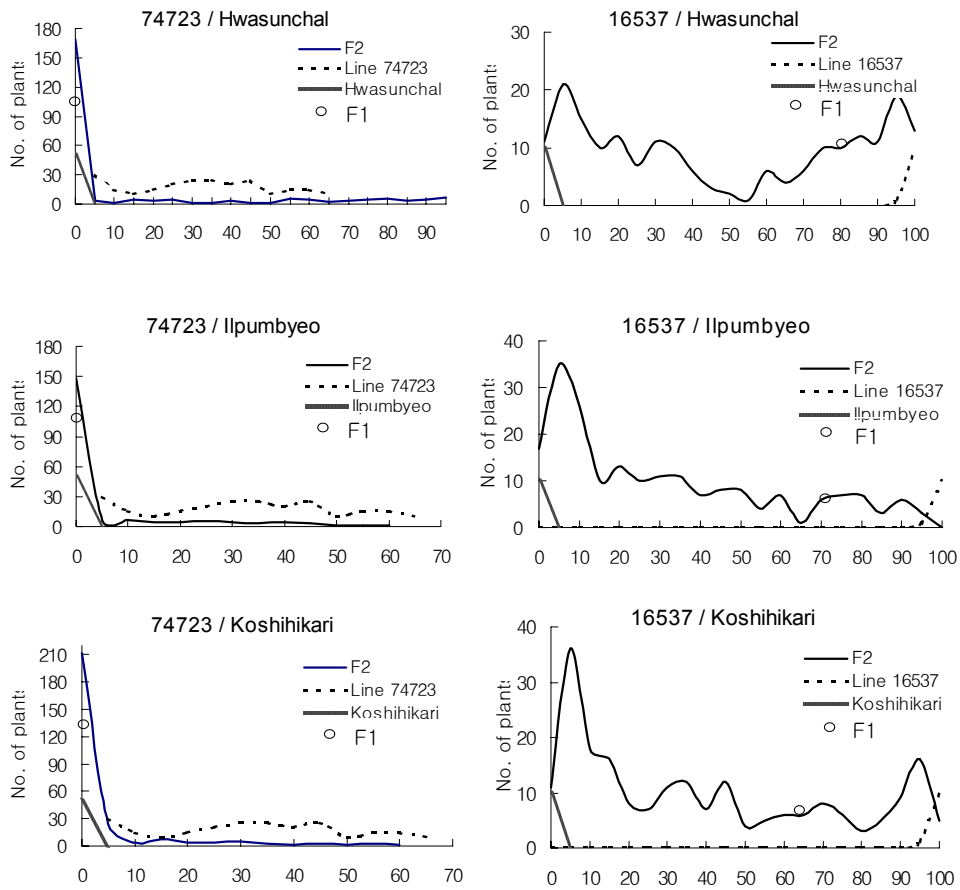


그림1-5. 개형변이 계통 74723과 16537을 정상품종과 교배한 F1 및 F2

에서 개체별 개영비율의 빈도분포

나. 녹미계통의 유전분석을 위한 특성 조사

그림1-6은 북경녹미-1의 출수 20일째부터 5일간격으로 채취한 등숙단계별 사진이다. 그림1-7는 녹미의 색도를 색차계를 사용하여 나타낸 그래프이다. 종자의 등숙에는 온도와 일조량이 크게 관여하기 때문에 동일 날짜에 출수한 이삭을 표본으로 사용하여야 하는데 소량의 종자만으로 실험하는 과정에서 녹미 색도의 변화가 일정치 않은 결과를 얻었으나 전체적으로는 날짜가 경과할수록 녹미의 색도가 떨어지는 양상을 관찰할 수 있었다. 그리고, 모두 출수 후 20일째에 가장 높은 색도를 보이는 것으로 관찰되었다. 그렇지만 출수45일째에도 녹미특성이 상당히 유지되는 것을 알 수 있었다. 또한 엽록소를 추출하여 spectrophotometer(JASCO STR-458)를 이용하여 흡광도를 측정하고 엽록소 검량법을 이용하여 엽록소 함량을 측정하였다.

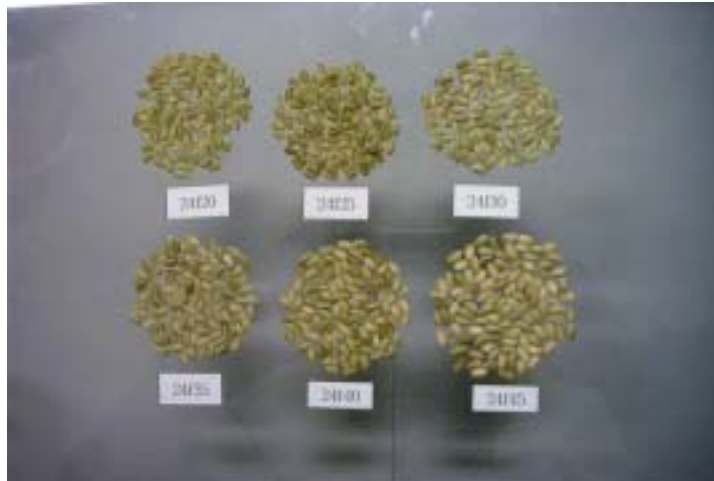
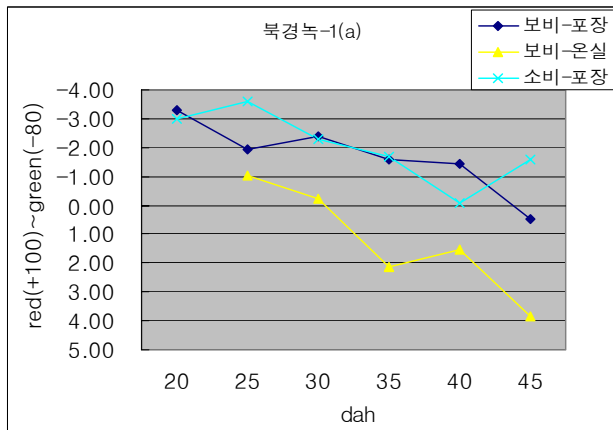
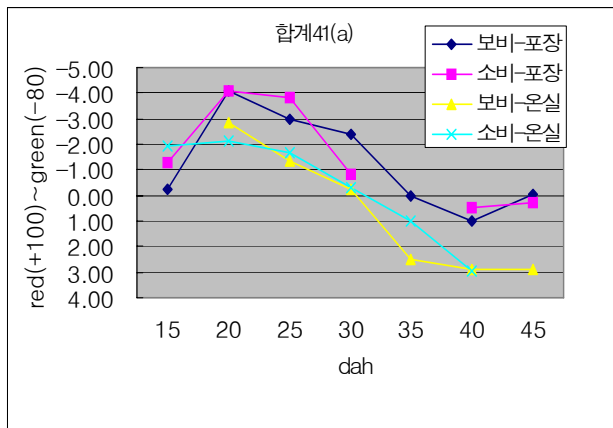
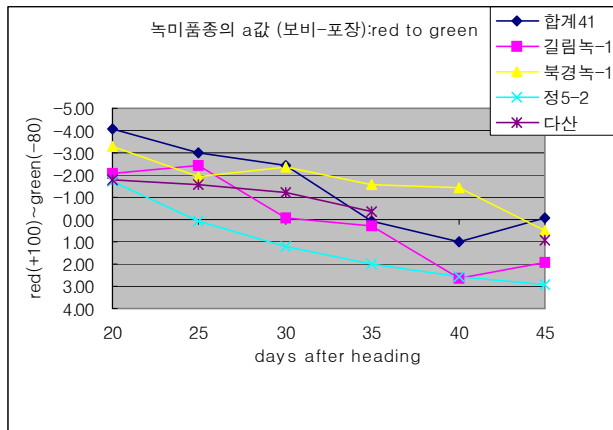


그림1-6. 등숙기간에 따른 북경녹미-1의 모습



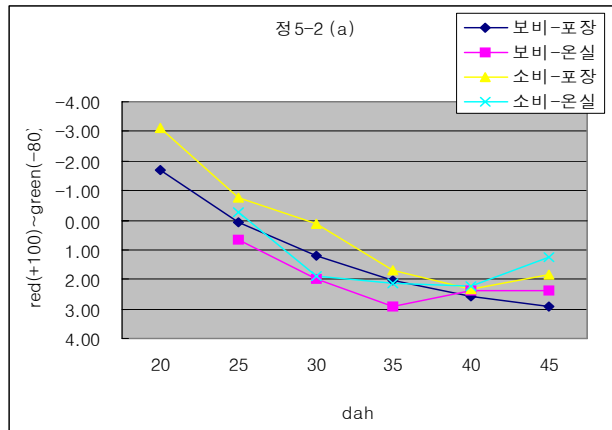


그림1-7. 녹미의 색차계 값 (a: from red to green red: +100 green: -80)

그림1-8은 spectrophotometer를 이용하여 측정한 복경녹미-1의 현미 엽록소 함량인데, 마찬가지로 출수 후 20일째에 가장 높은 색도를 보이고 있으며, 650nm의 파장에서 잘 관찰할 수 있음을 알 수 있었다.

복경 녹미 -1(보비)

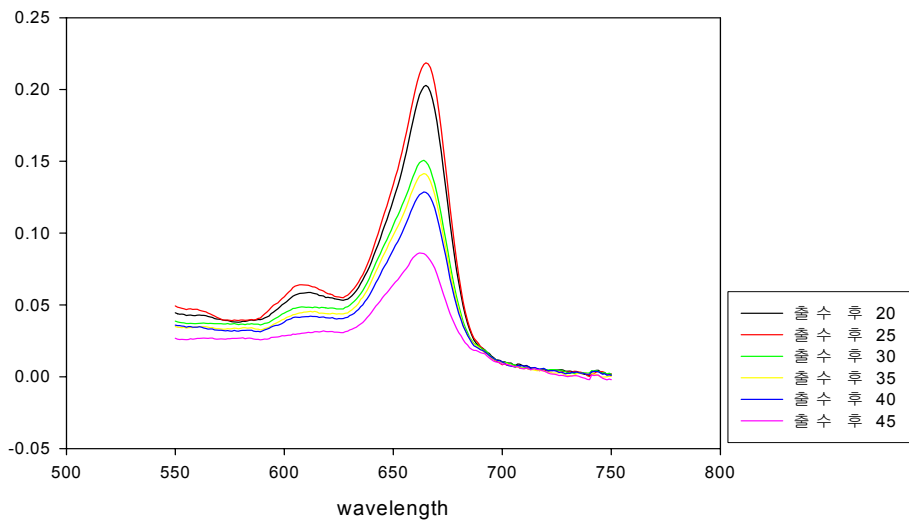


그림 1-8. spectrophotometer를 이용한 복경녹미-1의 흡광도

표1-6은 A_{663} , A_{645} 의 data를 이용하여 환산한 녹미로 선발된 여러 유전자원

들의 엽록소 a와 b의 함량이다. 대조품종인 다산벼에 비해 녹미 유전자원들의 현미 엽록소함량은 다소 변이는 있지만 월등히 높음을 알 수 있다.

표1-6. 출수후 40일된 녹미들의 chlorophyll함량(mg/l)

	chl a	chl b	chl a+ b
북경녹미-1(소비)	0.9636	0.8898	1.8528
북경녹미-1(온실)	0.9277	0.6859	1.6131
북경녹미-1(보비)	1.4213	1.1096	2.5301
합계41 (보비)	0.4410	0.2879	0.7287
길림녹미-1(보비)	0.1378	0.1376	0.2753
정 5-2 (보비)	0.4089	0.3357	0.7444
다산(보비 45일)	0.0873	0.1177	0.2049

$$\text{chlorophyll a(g/l)} = 0.0127 A_{663} - 0.00269 A_{645}$$

$$\text{chlorophyll b(g/l)} = 0.0229 A_{645} - 0.00468 A_{663}$$

$$\text{Total chlorophyll (a+ b, mg/l)} = 20.2 A_{645} + 8.02 A_{663}$$

다. 유색미에서 C3G 함량의 유전

유색미 유전자원들을 이용하여 C3G함량을 조사한 결과를 토대로 유전 분석을 실시하였다.

① 종피색의 유전분리

표1-7은 네가지 교배 조합 교배종자의 F₁ 및 F₂의 종피색을 조사한 결과이다. 흑자색미간의 교배조합인 “길림흑미/흑도38”과 길림흑미/LK1A-2-12-1-1" 조합 F₁과 F₂의 종피색은 모두 흑자색임. 흑자색미간의 교배조합에서 F₁과 F₂의 종피색이 분리를 안한다는 것은 각 교배조합의 모본과 부분에 관여 형질 유전자가 같다는 것을 의미함. 즉, 길림흑미, 흑도38, LK1A-2-12-1-1가 모두 동일한 유색미 유전자를 가지고 있는 것으로 판단되었다.

표 1-7. 교배조합 길림흑미/흑도38, 길림흑미/LK1A-2-12-1-1, 흑진주/화청 ges와 No2/흑별에서 종피색 분리비

Parent and cross	Genera- tion	Color of pericarp				χ^2	P
		Blackish puple	Dark brown	White	Total		
Jilinheigmi		5			5		
Heidao38		5			5		
Heugjinju		5			5		
No2		5			5		
LK1A-2-12-1-1		5			5		
Hwacheong ges ^s				5	5		
Heugbal				5	5		
Jilin/Heidao38	F ₁	All			4		
	F ₂	All			150	1:0	
Jilin/LK1A-2-12-1-1	F ₁	All			-		
	F ₂	All			150	1:0	
Heugjinju/Hwacheong ges	F ₁	All			3		
	F ₂	89	29	32	150	0.873 (9:3:4)	0.75 ~ 0.5
No2/Heugbal	F ₁	All			-		
	F ₂	87	34	39	150	2.14(9:3:4)	0.5 ~ 0. 25

흑자색미와 백미간의 교배조합인 “흑진주/화청ges” 와 “No2/Heugbal” 조합 F₂의 종피색 분리비는 9 : 3 : 4로 분리하였다(표1-7). Jung et al.(2000)등은 “흑진주/IR701078-AC3(백색미)” 조합에서 Park et al. (2000)등은 향미벼/흑진주 “조합에서 이와 같은 분리비를 보고한 바 있다. 이는 흑진주와 No2의 흑자색 종피 특성에 관여하는 유전자가 2개이며 이 유전자들은 보족적으로 작용한다는 것을 확인할 수 있었다.

② C3G 함량의 유전분리 및 유전력

흑자색미끼리의 교배조합 F₁ 종자와 F₂ 종자의 종피색은 모두 흑자색이었다. 하지만 분리세대인 F₂ 종자의 종피색을 색차계로 살펴보면 그림1-9에서와 같이 연속변이를 보였다. a 값과 b 값은 각 교배 조합에서 정규분포의 양상 또는 약간 아래쪽으로 치우친 양상을 볼 수 있었다. L 값의 경우 높은 쪽으로 치우친 양상을 보이는 데 이는 색차계 분석시 현미를 분쇄한 가루를 사용하여 종피의 값에 배유의 값이 더해졌기 때문으로 생각된다.

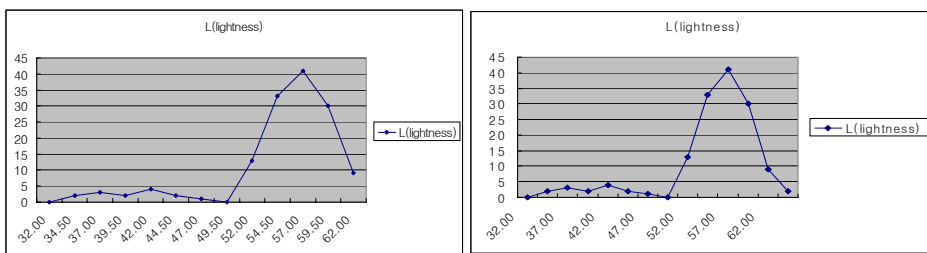
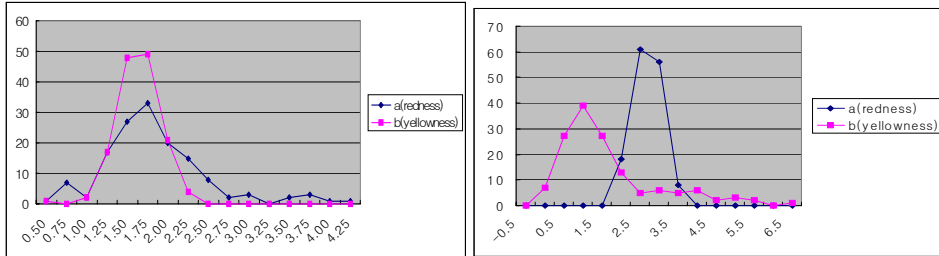
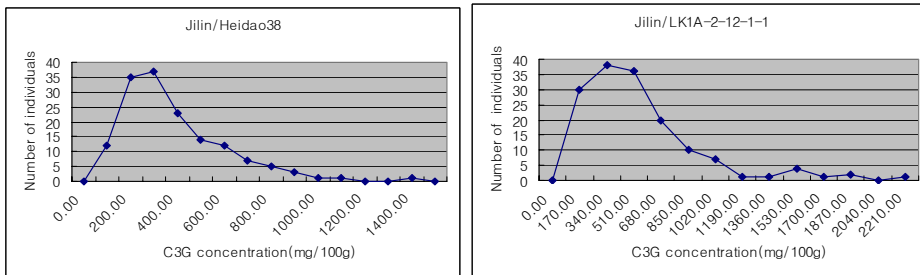


그림 1-9. 길림흑미/흑도38 (왼쪽), 길림흑미/LK1A-2-12-1-1(오른쪽) 조합에서 색차값 a, b(위) 와 L(아래) 의 분포도

흑미/흑미간 교배 조합인 “길림흑미/흑도38” 과 “길림흑미/LK1A-2-12-1-1” 의 조합에서 C3G 함량 의 분포도는 색차계와 마찬가지로 연속변이를 보였다 (그림 1-10). 즉 C3G 함량 형질이 다수의 유전자가 관여하는 하는 양적형질이였으며, 특히 “길림흑미/흑도38”, “길림흑미/LK1A-2-12-1-1” 조합에서는 두드러진 초월분리 현상을 보였다.



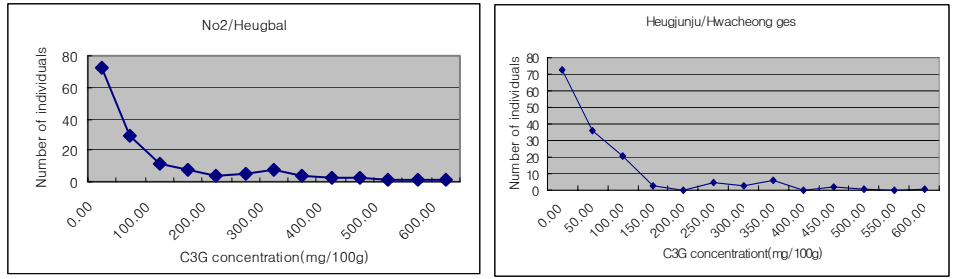


그림1-10. 흑미/흑미(위) 조합과 흑미/백미(아래) 조합 F₂ 집단의 C3G함량의 분포도

F₂에서 C3G 함량에 대한 넓은 의미의 유전력은 98~99%로(표1-8) 높게 나왔다. 이것으로 보면 C3G 함량에 대한 초기세대의 선발이 유효할 것으로 판단된다. 한편으로는 색깔의 분리가 질적형질로 나온 반면 C3G 함량은 연속변이를 보이는 것과 관련해서 미동유전자나 유전자간의 상호작용 등에 관해서는 추가적인 연구가 필요하다.

표 1-8. F₂ 집단에서 C3G함량의 광의 유전력(H_B)

Cross combination	H _B
Jilinheigmi/LK1A-2-12-1-1	99.8%
Heugjinju/Hwacheong ge ^s	98.3%
No2/Heugbal	99.9%

③ 색도와 C3G 함량간의 상관

색도계의 측정에서 C3G 함량은 색도계의 L(lightness), b(yellowness) 수치와 유의한 부의 상관을 보였고, a(redness)와는 조합별로 달랐다(표 1-9). 조합별로 보면 “길림흑미/흑도38” 조합에서 C3G함량은 명도, 적색도 및 황색도와 모두 고도로 유의한 부의 상관을 나타내었고, 색차계 각각의 명도, 적색도, 황색도 간에는 고도로 유의한 정의 상관을 나타내었다. “길림흑미/LK1A-2-12-1-1” 조합에서 C3G 함량은 명도와 황색도와는 유의한 부의 상관을 보여주었지만 적색도와는 유의하지 않았다. 색차계 각각의 값도 명도와 적색도, 명도와 황색도만 유의한정의 상관을 보여주었다. 이전의 연구에서는 F₂ C3G 함량과 색차계의 적색도 및 황색도간에 고도로 유의한 부의 상관을 보여주었다(Jung et al. 2000). 이것으로 보면 교배조합에 따라 명도와 적색도는 C3G와의 상관관계에 차이가

있지만 황색도는 C3G와 모든 경우에 유의한 부의 상관성이 있는 것을 알 수 있었다.

표1-9. 길림흑미/흑도38와 길림흑미/LK1A- 2-12-1-1 조합의 F₂에서
중피색 관찰 방법의 상관계수
(길림흑미/흑도38 조합)

Method	X1	X2	X3	X4
Color L(X1)		0.442***	0.582***	-0.553***
Difference a(X2)			0.373***	-0.331***
meter b(X3)				-0.653***
C3G (X4)				

(길림흑미/LK1A- 2-12-1-1 조합)

Method	X1	X2	X3	X4
Color L(X1)		0.020	0.756***	-0.697***
Differenc e a(X2)			0.139	-0.098
meter b(X3)				-0.678***
C3G (X4)				

L : lightness a : redness b : yellowness ** , *** : significant at the 1% and 5% level, respectively

④ C3G 함량이 높은 계통 선발

HPLC 분석과 색도계를 이용하여 C3G 함량이 높은 계통을 용이하게 선발 할 수 있었으며, 실제로 계통으로 세대가 진전되었다. 모본중 가장 함량이 높은 흑진주에 비해서 선발된 계통은 크게는 5배까지 차이가 났으며 “길림흑미/흑도38” 조합과 “길림흑미/LK1A-2-12-1-1” 조합에서는 모본인 길림흑미 보다 4 배에서 7배까지 차이가 난다. 이는 위에서 본 바와 같이 초월 분리에 의한 것이다. 또한 비록 광의의 유전력이어서 세대가 진전되면서 사라지는 유전력까지 계산하였지만 높은 유전력 값(표1-8)로 보아 C3G 함량이 높은 계통의 육성을 기대할 수 있다.

4) 특수미 품종보호출원 및 등록

본 연구중에 1개의 품종을 품종보호 및 국가등재품종목록에 등재하였으며, 5개의 특수미 품종을 보호출원하였다 (표1-10). 이들을 포장에서 재배하는 사진은 그림1-11이고, 출원품종들의 농업특성 및 품질특성은 표1-11에 나타나 있다.

표1-10. 품종보호 및 국가등재품종목록 출원한 품종 및 곡립외관

품종명	주요특징	등재/출원 번호	비고	현미외관
서농6호	찰벼거대배	1-1-2002-3	등재	
서농8호	거대배	2003-86	출원	
서농9호	분질	2004-99	출원	
서농10호	당질	2003-87	출원	
서농11호	분질거대배	2003-88	출원	
서농12호	거대배(통일형)	2004-100	출원	

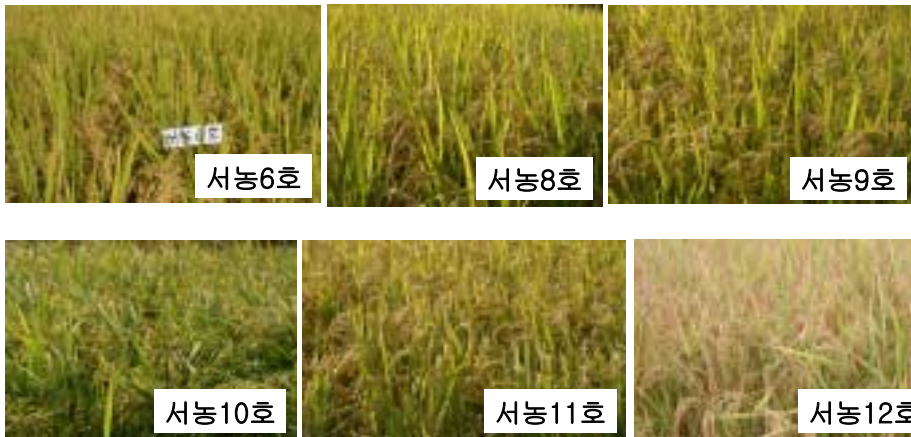


그림1-11. 서농6~12호의 포장 재배

표1-11. 서농 6, 8, 9, 10, 11, 12호의 주요 특성

(서농6호)

<p>1. 품종의 특성개요</p> <p>가. 형태적 및 생태적특성</p> <p>서농 6호는 중만생종으로서 출수 후 30일 정도면 종자성숙이 완료된다. 초형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 재배되는 일반 자포니카품종들과 유사하다. 잎과 줄기는 담록색으로 식물체와 종자에 안토시안닌 색소가 나타나지 않는다. 초장은 중장간형이며 수장은 20 cm 정도이며 이삭의 추출도는 양호하며 탈립은 잘 안되는 편이다. 종자의 까락은 거의 없으며 현미의 외형은 중단립종에 속한다. 서농 6호의 배유는 찰벼이며 배의 크기는 전체 현미크기의 1/3 - 1/2정도에 해당하는 아주 큰 거대배의 형태이다.</p> <p>나. 성능관련 주요특성</p> <p>서농 6호는 다른 재배특성은 원품종인 화청벼와 아주 유사하나 품질특성이 전혀 다른 거대배찰벼이다. 서농 6호는 찰벼로 아밀로스함량이 아주 낮으며 현미의 단백질함량이 원품종인 화청벼보다 높았으며 서농 6호의 아미노산성분을 상대적으로 비교할 때 원품종에 비해 lysine과 serine의 비율이 크게 나타났다. 그리고 배만을 따로 떼어내 건조시킨 배의 무게가 대조품종인 화청벼보다 3배이상 무거웠다. 그리고 서농 6호의 현미의 지질함량은 원계통인 서농 1호(찰벼)보다 증가하였으며 서농 6호의 지방산조성은 Oleic acid는 증가하고 Linoleic acid는 감소하였다. 서농 6호는 벼의 품질다양화를 위해 개발된 것으로 아직까지 거대배의 특성을 보이는 품종은 없으며 배를 이용한 다양한 쌀의 새로운 가공특성 및 미질향상에 이용가능성이 높다.</p> <p>IV. 품종의 성능 시험성적</p> <p>가. 생육관련 특성</p> <p>서농 6호는 중부지방에서 8월 26일 경에 출수하는 중만생종으로서 대조품종인 화청벼와 출수기가 거의 차이가 없다. 서농 6호의 간장은 94cm 정도의 중장간형으로 초장이 89cm 정도인 화청벼보다 약간 큰 편이다. 수장은 20 cm 정도로 화청벼와 차이가 없고 이삭수도 16개 정도로 화청벼와 차이가 없다. 이삭당 립수도 화청벼와 차이가 거의 없었고 현미의 립장과 립폭도 원품종인 화청벼와 차이가 없다. 그러나 서농 6호는 현미의 대부분이 배인 거대배찰벼인 까닭에 천립중은 18.9g으로 메벼인 화청벼보다 낮았으며 정조수량 역시 화청벼에 비해 낮게 나왔다.</p> <p>2. 품종의 성능 시험성적</p>

	출수기	간장 (cm)		수장 (cm)		수수 (No.)		수당립수 (No)		천립중 (g)		정조수량 (kg/ha)	
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수
화청벼	8/24	89	2.6	19.4	4.4	15.3	12.3	93.8	5.6	23.1	0.8	657	8.9
서농 6호	8/26	94.2	2.9	20.1	4.0	16.2	13.4	94.4	8.0	18.9	1.9	476	7.6

품종	벼알길이(mm)	벼알폭(mm)	현미길이(mm)	현미폭(mm)
화청벼	6.8	3.3	4.6	2.8
서농 6호	7.0	3.2	4.5	2.7

나. 성능관련 세부 특성
서농 6호의 가장 큰 특성은 배의 크기와 무게가 대조품종인 화청벼보다 무겁다는 것이다. 현미천립중은 비록 작지만 배의 천립중은 대조품종이 0.59g인 반면에 서농 6호는 1.9g으로 건조배의 천립중이 3배이상 무겁고 양이 많아 배의 이용가능성이 아주 높다고 볼 수 있다. 그리고 서농 6호의 현미 단백질함량이 8.5%로 대조품종인 화청벼의 6.8%보다 높았다. 서농 6호의 아미노산성분을 상대적으로 비교할 때 대조품종에 비해 serine과 lysine의 비율이 크게 증가하였다. 또한 서농 6호의 지질함량은 3.9%로 원계통인 서농 1호(찰벼)의 2.35%보다 증가하였으며 지방산조성중 서농 6호는 서농 1호(찰벼)에 비해 상대적으로 Oleic acid는 증가하고 Linoleic acid는 감소하였다.

품종	현미단백질(%)	건조배의 천립중(g)	현미 100g당 건조배의 무게(g)
화청벼(A)	6.8	0.59	3.3
서농 6호(B)	8.5	1.90	14.29
LSD .05	0.8	B/A(%) 322	B/A(%) 433

Name	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	NH3	Phe	Pro	Ser	Thr	Tyr	Val
화청	7.71	6.89	7.41	12.4	9.61	2.34	3.46	6.64	3.63	2.75	2.04	2.98	8.79	8.47	5.02	3.04	6.85
서농6호	7.86	6.62	7.64	12.3	9.85	2.49	3.38	6.63	4.18	2.12	1.59	3.21	8.70	10.0	5.00	2.34	6.14

Name	지질함량 (%/d.w.)	지방산 조성			
		Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic
서농 1호	2.35	20.64	1.7	38.7	38.96
서농 6호	3.90	21.22	2.67	42.16	33.95

(서농8호)

1. 종(種) 및 학명 : 벼(<i>Oryza sativa</i> L.)									
2. 품종명 : 서농 8호									
3. 식물체의 주요 형태적 특성 - 중만생종임. - 현미색은 담갈색임 - 벼의 형태가 거대배임 - 초장이 중간형으로 대조품종인 화청벼보다 약간 큰 편임 - 초형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 화청벼와 유사함 - 식물체와 종자에 안토시아닌 색소가 나타나지 않음 - 종자형 중원형으로 전체적인 종자크기가 화청벼와 차이가 없음 - 이삭에 까락이 거의 없는 편임									
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 - 대조품종인 화청보다 배가 아주 큰 거대배임 - 서농 8호의 거대배 형질을 지배하는 유전자는 ge 유전자임									
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) - 돌연변이 처리하여 선발한 후 계통육성을 지속적으로 실시하여 변이를 고정시켜줌 - 기본적인 농업형질인 출수기, 간장, 수장, 수수 등의 변이계수가 대조품종인 화청과 비교해서 차이가 거의 없음									
	출수기	간장(cm)		수장(cm)		수수(No.)		천립중(g)	
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수
화청벼	8/24	89	2.6	19.4	4.4	15.3	12.3	23.1	0.8
서농 8호	8/24	91.7	1.8	19.0	5.3	14.0	12.4	19.6	1.1
6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보									
6.1 미질특성									
- 서농 8호의 건조시킨 배의 무게가 대조품종인 화청벼의 배보다 3배이상 무거움 - 서농 8호의 현미의 단백질 함량은 대조품종인 화청벼 보다 높음 - 서농 8호의 현미 아미노산 조성은 대조품종인 화청벼보다 lysine은 1.22배 높아지고, tyrosine, methionine, serine은 각 0.86, 0.89, 0.90으로 다소 낮으나, 현미 100g당 아미노산 함량은 모든 아미노산량에서 화청벼보다 높음									
품종	현미단백질(%)		건조배의 천립중(g)		현미 100g당 건조배의 무게(g)				
화청벼(A)	6.97		0.59		3.3				
서농 8호(B)	7.85		1.90		14.29				
LSD .05	0.12		B/A(%) 322		B/A(%) 433				

(서농8호의 아미노산 및 지방산 조성)

아미노산	현미의 아미노산 조성(%)			현미 100g당 아미노산합량(mg)			
	화청벼	서농 8호	B/A	화청벼(A)	서농 8호(B)	B/A	
Alanine	6.72	6.72	1.00	492	598	1.22	
Arginine	6.60	6.91	1.05	483	615	1.27	
Aspartic	10.27	10.69	1.04	751	952	1.27	
Glutamic	20.75	20.57	0.99	1518	1830	1.21	
Glycine	4.38	4.41	1.01	320	393	1.23	
Histidine	1.79	1.79	1.00	131	159	1.21	
Isoleucine	3.11	3.26	1.05	228	290	1.27	
Leucine	8.44	8.24	0.98	617	734	1.19	
Lysine	3.06	3.73	1.22	224	332	1.48	
Methionine	1.98	1.76	0.89	145	157	1.08	
Phenylalanine	5.05	5.14	1.02	369	458	1.24	
Proline	3.01	2.97	0.99	220	264	1.20	
Serine	4.26	3.82	0.90	312	340	1.09	
Threonine	2.69	2.66	0.99	197	237	1.20	
Tyrosine	4.14	3.56	0.86	303	317	1.05	
Valine	6.14	6.33	1.03	449	563	1.25	
Ammonia	7.62	7.45	0.98	557	663	1.19	
<ul style="list-style-type: none"> - 서농 8호는 베의 비타민 함량이 화청벼와 대체로 비슷하나, 현미 전체의 절대량이 높고, 현미 100g당으로 환산했을 때 α-tocopherol은 화청벼보다 1.89배 높았음 - 서농 8호의 지질함량은 대조품종인 화청벼 보다 증가하였음 - 서농 8호의 지방산 조성은 대조품종보다 Palmitic acid와 Oleic acid는 증가하였고, Linoleic acid는 감소하였음 							
비타민	화청벼 배유의 비타민 함량(mg/100g)		베의 비타민 함량(mg/100g)		현미 100g당 비타민 함량(mg/100g)		
	현미	백미	화청벼	서농 8호	화청벼(A)	서농 8호(B)	B/A
비타민 B1 (Thianime)	0.265	0.229	109.22	113.08	3.861	16.386	4.45
비타민 B2 (Riboflabin)	0.041	0.017	0.421	0.474	0.054	0.103	1.91
Niacin	5.734	2.012	7.556	0.7460	5.794	5.981	1.03
비타민 E (Tocopherol)	-	-	2.195	0.952	0.072	0.136	1.89
품종	지질함량 (%/d.w.)	지방산 조성					
		Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic		
화청벼	3.8	13.9	3.8	39.9	39.7		
서농 8호	5.7	17.3	3.8	42.6	33.8		

(서농9호)

1. 종(種) 및 학명 : 벼(<i>Oryza sativa</i> L.)										
2. 품종명 : 서농 9호										
3. 식물체의 주요 형태적 특성 - 중만생종임. - 현미색은 흰색임. - 벼유의 형태가 분상질임 - 초장이 중간형으로 대조품종인 화청벼보다 약간 큰 편임 - 초형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 화청벼와 유사함 - 식물체와 종자에 안토시아닌 색소가 나타나지 않음 - 종자형 중원형으로 전체적인 종자크기가 화청벼와 차이가 없음 - 이삭에 까락이 거의 없는 편임										
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 - 대조품종인 화청에 비해 배유가 분상질임 - 서농 9호의 배유 분상질 형질을 지배하는 유전자는 flo 유전자임										
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) - 돌연변이 처리하여 선발한 후 계통육성을 지속적으로 실시하여 변이를 고정시켜줌 - 기본적인 농업형질인 출수기, 간장, 수장, 수수 등의 변이계수가 대조품종인 화청과 비교해서 차이가 거의 없음										
	출수기	간장(cm)		수장(cm)		수수(No.)		천립중(g)		
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	
화청벼	8/24	89.0	2.6	19.4	4.4	15.3	12.3	23.1	0.8	
서농 9호	8/23	95.0	2.1	20.8	6.0	17.0	12.0	20.8	2.0	
6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보										
6.1 미질특성 - 서농 9호의 경도는 대조품종인 화청벼보다 매우 낮음 - 서농 9호의 밀도는 대조품종인 화청벼보다 낮고, 종자무게가 가벼움 - 서농 9호의 아밀로스함량은 대조품종인 화청벼보다 낮음 - 서농 9호의 호응집성과 알카리 붕괴도는 대조품종인 화청벼와 차이가 거의 없음 - 서농 9호의 현미의 단백질 함량은 대조품종인 화청벼 보다 높음										
품종	경도(kg/grain)	밀도(g/cm ³)	아밀로스함량(%)	호응집성(mm)	알카리붕괴도(1.2%)	현미단백질(%)				
화청벼	7.2	1.45	19.1	58.5	4.8	6.97				
서농 9호	2.8	1.35	17.1	52.5	5.1	7.96				
LSD .05	0.72	0.08	0.88	18.96	0.76	0.12				
아밀로그래프										
품종	호화개시 온도(°C)	최고점도(BU)*	최저점도(BU)	최종점도(BU)	강하점도(BU)	응집점도(BU)	치반점도(BU)			
화청벼	67.5	630	545	785	240	155	85			
서농 9호	66.0	140	135	235	100	95	5			
* BU : Brabender Unit										
- 서농 9호의 알콜발효 과정이 대조품종인 화청벼보다 급속히 진전됨 - 서농 9호에 효모 처리 10후 알콜함량(15°C)은 7.6%로 6.9%인 화청벼보다 높았음										
품종	Fermentation Progress(Day)									알콜함량(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	10	
화청벼	18.3	17.4	17.0	16.5	16.0	14.9	13.8	12.0	6.8	6.9
서농 9호	15.0	14.0	13.6	12.5	11.9	11.1	8.8	5.7	4.8	7.6
* Note : Brix measurement = RI meter										

(서농10호)

1. 종(種) 및 학명 : 벼(<i>Oryza sativa</i> L.)									
2. 품종명 : 서농10호									
3. 식물체의 주요 형태적 특성 - 중만생종임 - 현미색은 담갈색임 - 배유의 형태가 당질임 - 초장이 중간형으로 대조품종인 화청벼와 차이가 없음 - 초형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 화청벼와 유사함 - 식물체와 종자에 안토시아닌 색소가 나타나지 않음 - 종자형 중원형으로 화청벼에 비해 장폭비가 다소 큰 편임 - 전체적인 종자크기가 화청벼와 차이가 없음 - 이삭에 까락이 거의 없는 편임									
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 - 대조품종인 화청에 비해 배유가 당질임 - 서농10호의 배유 당질 형질을 지배하는 유전자는 su-2 유전자임									
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함) - 돌연변이 처리하여 선발한 후 계통육성을 지속적으로 실시하여 변이를 고정시켜줌 - 기본적인 농업형질인 출수기, 간장, 수장, 수수 등의 변이계수가 대조품종인 화청과 비교해서 차이가 거의 없음									
	출수기	간장(cm)		수장(cm)		수수(No.)		천립중(g)	
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수
화청벼	8/24	89.0	2.6	19.4	4.4	15.3	12.3	23.1	0.8
서농 10호	8/31	90.0	2.0	21.5	4.0	14.0	12.4	17.1	0.4
6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보									
6.1 미질특성 - 서농 10호의 아밀로스함량은 대조품종인 화청벼보다 낮음 - 서농 10호의 호응집성은 대조품종인 화청벼와 차이가 거의 없음 - 서농 10호의 알카리 붕괴도와 현미의 단백질 함량은 대조품종인 화청벼 보다 높음 - 서농 10호의 경도는 대조품종인 화청벼보다 매우 낮음									
품종	아밀로스함량 (%)	호응집성 (mm)	알카리붕괴도 (1.2%)	현미단백질 (%)	경도 (kg/grain)				
화청벼	19.1	58.5	4.8	6.97	7.2				
서농 10호	15.0	66.5	5.8	7.83	3.1				
LSD .05	0.88	18.96	0.76	0.12	0.72				

(서농10호의 아미노산, 당함량, 아미노산 조성)

품종	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	NH3	Phe	Pro	Ser	Thr	Tyr	Val
화청벼	6.68	6.60	10.25	20.83	4.32	1.79	3.12	8.47	2.96	1.99	7.66	5.07	3.01	4.27	2.67	4.17	6.14
서농10호	6.81	6.02	10.78	20.21	4.31	1.77	3.37	8.57	3.57	2.00	7.02	5.16	3.06	4.51	2.92	3.60	6.33
- 서농 10호의 아미노산 조성은 대조품종인 화청벼와 차이가 거의 없음																	
품종	Glucose(%)			Sucrose(%)			Maltose(%)			Total							
화청벼(A)	0.99			0.65			1.02			2.67							
서농 10호(B)	2.65			0.93			2.48			5.98							
LSD .05	0.69			0.53			0.56			1.78							
A/B	2.68			1.43			2.43			2.24							
- 서농 10호의 유리당함량은 5.98%로 2.67%인 화청벼 보다 2.24배 증가하였음																	
- 서농 10호의 유리당 중 Glucose, Sucrose, Maltose는 각각 화청벼에 비해 2.68배, 1.43배, 2.43배 증가하였음																	
품종	배유 지질함량 (%/d.w.)	배유의 지방산 조성															
		Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic												
화청벼	2.9	13.7	3.8	40.0	39.8												
서농 10호	3.8	16.4	3.1	37.4	41.2												
- 서농 10호 배유의 지질함량은 화청벼보다 증가하였음.																	
- 서농 10호 배유의 지방산조성은 화청벼보다 Oleic acid는 감소하였고, Palmitic acid와 Linoleic acid는 다소 증가하였음																	

(서농11호)

1. 종(種) 및 학명 : 벼(<i>Oryza sativa</i> L.)
2. 품종명 : 서농11호
3. 식물체의 주요 형태적 특성 - 중만생종임 - 현미색은 흰색임 - 배의 형태가 거대배이고, 배유의 형태가 분상질인 분상질 거대배벼임 - 초장이 중간형으로 대조품종인 화청벼와 차이가 없음 - 조형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 화청벼와 유사함 - 식물체와 종자에 안토시아닌 색소가 나타나지 않음 - 종자형 중원형으로 전체적인 종자크기가 화청벼와 차이가 없음 - 이삭에 까락이 거의 없는 편임
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성 - 대조품종인 화청보다 배가 아주 큰 거대배임 - 대조품종인 화청에 비해 배유가 분상질임 - 서농11호의 거대배 형질을 지배하는 유전자는 ge 유전자임 - 서농11호의 배유 분상질 형질을 지배하는 유전자는 flo 유전자임

5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함)

- 돌연변이 처리하여 선발한 후 계통육성을 지속적으로 실시하여 변이를 고정시켜옴
- 기본적인 농업형질인 출수기, 간장, 수장, 수수 등의 변이계수가 대조품종인 화청벼와 비교해서 차이가 거의 없음

	출수기	간장(cm)		수장(cm)		수수(No.)		천립중(g)	
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수
화청벼	8/24	89.0	2.6	19.4	4.4	15.3	12.3	23.1	0.8
서농11호	8/21	85.7	1.3	17.0	5.9	14.7	15.7	16.5	0.9

6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보

6.1 미질특성

- 서농 11호의 건조배의 천립중은 대조품종인 화청벼보다 3배 이상 무거움
- 서농 11호의 경도는 대조품종인 화청벼보다 매우 낮음
- 서농 11호의 밀도는 대조품종인 화청벼보다 낮고, 종자무게가 가벼움

품종	건조배의 천립중 (g)	현미 100g당 건조배의 무게(g)	경도 (kg/grain)	밀도 (g/cm ³)
화청벼(A)	0.59	3.3	7.2	1.45
서농 11호(B)	1.90	14.29	2.8	1.35
LSD .05	B/A(%) 322	B/A(%) 433	0.72	0.08

- 서농 11호의 아밀로스함량은 대조품종인 화청벼보다 낮음
- 서농 11호의 호응집성과 53mm로 대체로 경질에 속했음
- 서농 11호의 알카리붕괴도(1.2%)는 대조품종인 화청벼와 차이가 거의 없음
- 서농 11호의 현미의 단백질 함량은 대조품종인 화청벼 보다 높음
- 서농 11호는 배의 비타민 함량이 화청벼와 대체로 비슷하나, 현미 전체의 절대량이 높고, 현미 100g당으로 환산했을 때 α-tocopherol은 화청벼보다 1.89배 높았음
- 서농 11호의 지질함량은 대조품종인 화청벼보다 증가하였음
- 서농 11호의 지방산 조성은 대조품종보다 Palmitic acid와 Oleic acid는 증가하였고, Linoleic acid는 감소하였음

품종	아밀로스함량 (%)	호응집성 (mm)	알카리붕괴도 (1.2%)	현미단백질 (%)
화청벼	19.1	58.5	4.8	6.97
서농 11호	17.3	53.0	5.1	9.19
LSD .05	1.55	2.15	0.76	0.12

품종	아밀로그래프						
	호화개시 온도(℃)	최고점도 (BU)*	최저점도 (BU)	최종점도 (BU)	강하점도 (BU)	응집점도 (BU)	치반점도 (BU)
화청벼	67.5	630	545	785	240	155	85
서농 11호	66.0	140	135	235	100	95	5

* BU : Brabender Unit

비타민	배의 비타민 함량(mg/100g)		현미 100g당 비타민 함량(mg/100g)		
	화청벼	서농 11호	화청벼(A)	서농 11호(B)	B/A
비타민 B1 (Thianime)	109.22	113.08	3.861	16.386	4.45
비타민 B2	0.421	0.474	0.054	0.103	1.91

(Riboflavin)					
Niacin	7.556	7.460	5.794	5.981	1.03
비타민 E (α -tocopherol)	2.195	0.952	0.072	0.136	1.89
지방산 조성					
품종	지질함량 (%/d.w.)	Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic
화청벼	3.8	13.9	3.8	39.9	39.7
서농 11호	5.7	17.3	3.8	42.6	33.8

(서농12호)

1. 종(種) 및 학명 : 벼(<i>Oryza sativa</i> L.)									
2. 품종명 : 서농 12호									
3. 식물체의 주요 형태적 특성									
<ul style="list-style-type: none"> - 중만생종임. - 현미색은 담갈색임 - 벼의 형태가 거대배임 - 초장이 중간형으로 대조품종인 남풍보다 약간 큰 편임 - 초형은 반개방형이며 지엽자세는 반직립형으로 남풍벼와 유사함 - 식물체와 종자에 안토시아닌 색소가 나타나지 않음 - 종자형 장원형으로 전체적인 종자크기가 남풍과 차이가 없음 - 이삭에 까락이 거의 없는 편임 									
4. 출원품종이 대조품종과 구별되는 특성									
<ul style="list-style-type: none"> - 대조품종인 남풍보다 배가 아주 큰 거대배임 - 서농 12호의 거대배 형질을 지배하는 유전자는 ge 유전자임 									
5. 출원품종의 균일성과 안정성을 기술(대조품종 포함)									
<ul style="list-style-type: none"> - 거대배 계통과 여교배 후 계통육성을 지속적으로 실시하여 변이를 고정시켜옴 - 기본적인 농업형질인 출수기, 간장, 수장, 수수 등의 변이계수가 대조품종인 남풍과 비교해서 차이가 거의 없음 									
	출수기	간장(cm)		수장(cm)		수수(No.)		천립중(g)	
		평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수	평균값	변이계수
남풍벼	8/24	72.0	2.6	19.4	4.4	10.3	12.3	17.9	0.8
서농 12호	8/24	66.7	1.8	19.0	5.3	11.0	12.4	14.3	1.1

6. 품종구별에 도움이 되는 추가정보

6.1 미질특성

- 서농 12호의 건조시킨 배의 무게가 대조품종인 남풍벼의 배보다 4배이상 무거움
- 서농 12호의 현미의 단백질 함량은 대조품종인 남풍벼 보다 낮음
- 서농 12호의 현미 아미노산 조성은 대조품종인 남풍벼보다 Methionine, tyrosine은 각 1.19, 1.07배 높고, serine, lysine은 각 0.97, 0.95으로 다소 낮으나, 현미 100g당 아미노산 함량은 모든 아미노산량에서 남풍벼보다 높음

품종	현미단백질(%)	건조배의 천립중(g)	현미 100g당 건조배의 무게(g)
남풍벼(A)	8.73	0.3	2.27
서농 12호(B)	8.66	1.20	9.09
LSD .05	0.12	B/A(%) 400	B/A(%) 401

(서농12호의 아미노산 및 지방산 조성)

아미노산	현미의 아미노산 조성(%)			현미 100g당 아미노산함량(mg)		
	남풍벼	서농 12호	B/A	남풍벼(A)	서농 12호(B)	B/A
Alanine	10.55	11.04	1.02	258	315	1.22
Arginine	6.79	6.86	1.01	259	313	1.21
Aspartic	4.46	4.43	0.99	170	202	1.19
Glutamic	14.08	13.89	0.99	538	635	1.18
Glycine	10.55	11.04	1.05	403	504	1.25
Histidine	2.12	2.15	1.01	81	98	1.21
Isoleucine	3.05	3.16	1.24	116	114	1.24
Leucine	6.86	7.19	1.25	262	328	1.25
Lysine	0.42	0.40	0.95	224	332	1.14
Methionine	2.79	3.31	1.19	106	151	1.42
Phenylalanine	1.40	1.48	1.06	53	67	1.26
Proline	3.70	3.46	0.94	141	158	1.12
Serine	4.65	4.52	0.97	177	206	1.16
Threonine	6.78	6.45	0.95	259	294	1.14
Tyrosine	1.18	1.26	1.07	45	57	1.28
Valine	5.98	5.86	0.98	228	267	1.17
Ammonia	17.80	17.05	0.96	680	779	1.15
- 서농 12호의 지질함량은 대조품종인 남풍벼 보다 증가하였음 - 서농 12호의 지방산 조성은 대조품종보다 Palmitic acid, Oleic acid, Linoleic acid, Stearic acid 모두 증가하였고, Oleic acid, Linoleic acid, Linolenic acid등 불포화 지방산이 많이 증가하였음						
품종	지질함량 (%/d.w.)	지방산 조성				
		Palmitic	Stearic	Oleic	Linoleic	Linolenic
남풍벼	2.20	14.86	1.83	24.50	27.62	1.83
서농 12호	2.27	19.85	3.03	37.73	36.51	1.99

5) 특수미 재료별 최적 가공방법 및 효율적인 제품생산체계 확립

가. 특수미의 제품가공적 특성 평가 및 상품개발

(1) 서농6호의 도정률 향상

(주)신지는 (주)쌍용기계산업에서 개발한 도정기(현재 시판중인 기계가 아니며 상품명은 미정)를 이용하여 서농6호와 대조품종인 추청벼를 각각 도정한 결과, 표1-12에서 보는 바와 같이 일반품종인 추청벼와 거대배아미의 도정정도가 비슷하여 도정이 잘 되었다는 것을 알 수 있는데, 육안으로도 충분히 확인할 수 있을 정도이다. 그러나, 더 과학적인 데이터를 얻기 위하여 기존의 도정기계와 비교할 것이다.

표1-12 (주)쌍용기계산업의 도정기를 이용한 거대배아미와 추청의 도정도 비교

	공시재료	정선율	제현율	현백율	도정율	설미율	잔싸라기율	왕겨 및 기타	미강 및 기타
서농6호	332.4g 100 %	331.5g 99.7 %	265.2g 79.8 %	243.2g 91.7%	243.2g 73.2%	4.8g 1.4%	0g 0%	62.4g 18.8%	22g 8.3%
추청	337.3g 100 %	336.5g 99.8 %	270.2g 80.1%	253.7g 93.9%	253.7g 75.2%	4.6g 1.4%	0g 0%	62.5g 18.5%	16.5g 6.1%

(2) 거대배아미를 이용한 발아현미 제조

거대배아계통의 발아현미 제조를 위하여, (주)신지가 (주)썬테크(대전 소재)와 생산장비를 시험제작하여 시범적으로 생산에 성공하였다. 발아현미 제조 장치를 간단히 설명하면, 직경 54센치, 높이 90센치 플라스틱 용기를 활용하여, 내부에 격자식 시렁을 만들고 시렁마다 부직포를 설치하고, 시렁 사이에 분무노즐을 설치하는 방법으로 온도와 습도를 조절하였다. (자료 미제출). 또, 거대배아미를 이용한 발아현미의 생산방법을 체계화하였는데, 과정을 요약하면 다음과 같다.

- 시렁 위에 거대배아미 현미를 10센치 정도로 깔음
- 온도 25도, 습도 90% 수준으로 관리
- 수시로 물을 살포함
- 하루 한번 정도 유산균액을 희석 살포하여 부패균 부착을 방지
- 2일째 수확(2mm 정도 발아)
- 3일째 수확(6mm 정도 발아)
- 전열선 위에 종이를 깔고 그 위에서 수확한 발아현미를 깔아 건조시킴

그 결과, 생산된 발아현미는 그림1-12에서 보는 바와 같이 2-6mm 정도 발아된 모양을 가지고 있다. 또한, 생산된 발아현미의 건강기능성을 분석하기 위하여 협동과제와 연구를 진행하였다.



그림1-12. 거대배아미를 이용하여 생산한 발아현미

(3) 거대배아미를 이용한 쌀 가공상품 개발

① 거대배아현미

거대배아미를 소비자들이 손쉽게 찾게 하기 위해, ‘서울대 식물육종연구실’의 과학기술의 산물이라는 점, 고영양이라는 점, 무농약 및 유기농의 친환경 제품이라는 점을 집중으로 부각하였다. 또, 고부가가치 농산물이라는 점을 감안하여 1kg 소포장으로 하였으며, 진공포장 및 지퍼백 포장을 하여 공기와의 접촉을 최소화하도록 하였다. 그리고 취반의 편리함과 식감을 개선하기 위해 ‘칭결미’로 제조하였다.

또, 거대배아현미를 구입할 경제적 계층이 고소득 계층임을 감안하여, 국내 주요 유명백화점 및 천연유기농매장, 인터넷전문매장 등에서만 판매하고 있다. 또, 기능성농산물의 장점을 적절히 소비자에게 전달하기 위해 뉴스와 교양프로 및 과학저널 등의 특수계층을 겨냥한 홍보활동과 도우미를 활용한 현장행사를 통해 소비자에게 직접적인 광고방식을 이용한 결과, 2004년 8월 현재 매월 3,000개 이상의 꾸준한 매출신장 효과를 갖게 되었으며, 국내 브랜드 기능성쌀 특수미 중 가장 고가격의 소비자층을 형성할 수 있게 되었다.



그림1-13. 상품화된 거대배아미(상품명:거대배아현미)의 외관

② 거대배아미혼합16곡

거대배아미도 특수미이므로 잡곡과 혼합하여 건강기능성 잡곡을 소비할 수 있도록 하였다. 소비자들이 ‘씻지 않고 취반하는’ 잡곡제품도 요구하고 있는 가운데, 거대배아현미의 판매촉진과 제품다양화를 위해 개발한 제품이다. 일반 잡곡과 거대배아현미 모두 유기농산물이며, 미리 어느 정도 불려 놓아 먹기 좋게 만들어 취반을 유리하게 하였다.

거대배아현미 25%, 발아현미 25%, 찹쌀,보리,흑미,수수 28%, 차조,기장 7%, 울무,적두,거두 8%, 속서리태,백태,떡태,약콩,강남콩 7%의 조성으로 되어 있어, 기능성 농산물을 통해 다양한 영양원을 공급받을 수 있도록 하였다.



그림1-14. 거대배아미를 포함한 혼합잡곡상품

③ 거대배아미생식

거대배아미를 분말로 하여, 고기능성 생식을 개발하였다. 우리 회사에게는 거대배아미를 찾을 소비자들을 고소득의 건강에 지대한 관심이 있겠지만, 그에

대한 정보를 정확히 전달하고 교육하며 지속적으로 소비하게 할 직접 유통망이 필요했다. 또한, (주)성원유업과 (주)오행생식의 입장에서는 각각 새로운 상품을 개발할 필요가 있었다.

(주)성원유업은 그날 착유한 우유를 모두 그날 소비하게 하는 직접유통망을 확보하고, 최고급우유를 배급하고 있기 때문에, 거대배아미를 구매할 소비자들을 접하기 쉬운 것이라고 예상하였다. 또, (주)오행생식은 우리나라에서 가장 오래된 생식회사로서, 다양한 곡류가공에 대한 노하우가 축적되었고 마찬가지로 충성고객을 많이 확보한 회사이기 때문에 소비자에 대한 접근성과 충성도가 높을 것으로 생각되었다.

거대배아미생식은 우리 회사의 거대배아미를 주원료로 하고, 오행생식에서 가공 및 포장하여, 성원유업에서 보급하는 체계로 유통되고 있다.



그림1-15. 거대배아미생식(상품명: 강성원생식)의 주원료와 제품

(4) 식이섬유강화쌀의 개발

(주)신지는 식이섬유를 강화한 코팅미를 개발하여 특허등록(제0401487호)하고 상품화하였고, 체내 콜레스테롤 수치 개선과 체중 감량에서 유의한 결과가 나왔고, 관련 물질의 함량도 유의하였다.

홍국추출물, 키토산올리고당, 폴리텍스트로스, 구연산 등을 코팅하여 부족한 식이섬유를 보충하도록 하며, 기존 기능성쌀이 가진 부족한 식감을 개선한 제품이다. 현재 (주)미미농수산이 생산 및 판매하고 있다.

이러한 제품들은 광고와 홍보의 영향력이 크기 때문에, 2001년부터 4회에 걸친 뉴스보도와 3회에 걸친 신문보도, 4회의 방송프로그램 방영을 하였다. 또, 유명백화점 등에서 꾸준한 판매촉진 행사를 시행하였다.



그림1-16. 식이섬유강화쌀(상품명:미미)의 외형 패키지

2. 연구결과 요약

(1) 특수미 신 유전자원 발굴

- 화선찰벼에 MINU를 처리하여 개영(split-hull) 돌연변이 74723을 유기하였고, 자연포장에서 개영돌연변이 16537을 발굴 확보하였다.
- 수집한 유전자원들 중에서 녹미 유전자원인 합계41호, 길림녹미, 북경녹미, 생동찰 등을 발굴하였다.

(2) 특수미 계통 육성

- 거대배, 당질미, 분질배유, 유색미 등을 조합하여 특수미 특성이 다양하게 조합된 계통들을 육성하였다.

(3) 특수미의 유전분석

- 개영돌연변이는 질소시비조건에는 영향받지 않았고, 온도에 의해서는 16537에서만 빨리 개영되는 특성을 보였다.
- 개영돌연변이에 대한 유전분석 결과 계통 74723은 단순열성유전자에 의해 지배되었고, 16537은 양적유전 특성을 보였다. 단순열성유전자는 sph(t)로 명명하였다. 16537의 F2에서의 광의의 유전력은 95% 높아서 초기세대에서의 선발이 유효할 것으로 판단되었다.
- 녹미특성은 유전자원간에 차이가 컸으며, 출수후 20일째 녹미특성이 가장 두드러졌으며, 45일경에도 유지되었다.
- 유색미(흑미)들의 유전분석 결과 공통적으로 2개의 우성보족유전자에 의해 결정되어지며, 색도의 농도에 minor gene들이 관여하는 것으로 나타났다.
- 유색미의 C3G 농도는 색도와는 F2의 분포가 다르게 낮은쪽으로 치우쳐져

있었으며 연속변이를 보여 색깔유전자 이외에 추가적인 유전자들이 관여하는 것으로 추정되었다. C3G 농도와 색도 L(명도) 및 b(황색도)와는 유의한 상관성이 있었으며, 유전력이 높았고, 초월분리 개체들을 다수 선발할 수 있었다.

(4) 특수미 품종보호출원 및 등록

- 특수미 서농6호(거대배아찰벼)를 품종보호 및 국가등재품종목록에 등재하였으며, 5개의 특수미품종, 서농8호(거대배아미), 서농9호(분질배유), 서농10호(당질배유), 서농11호(분질배유+거대배아미), 서농12호(통일형거대배아미)를 품종보호 출원하였다. 출원품종들의 농업특성 및 품질특성을 제시하였다.

(5) 특수미 재료별 최적 가공방법 및 효율적인 제품생산체계 확립

- 거대배아미를 이용한 발아현미 제조: 거대배아계통의 발아현미 제조를 위하여, (주)신지가 (주)썬테크(대전 소재)와 생산장비를 시험제작하여 시범 생산에 성공하였다.

- 거대배아미의 상품화 및 그를 이용한 쌀가공상품 개발 : 거대배아미를 현미로 상품화하였고, 잡곡 개념으로서 혼합16곡의 제품을 개발하였다. 또한 거대배아미 현미를 주원료로 하는 생식을 (주)성원유업 및 (주)오행생식과 협력하여 개발하였다.

- 홍국균 추출물과 식이섬유를 코팅한 시제품을 개발하였다.

제2절 특수미의 식품영양 및 생리학적 연구 (제1협동과제)

1. 연구내용 및 방법

가. 일반성분 분석

가-1. 조단백질 함량 ; KJELTEC AUTO SAMLER SYSTEM 1035 Analyser로 분석한다.

가-2. 수분정량 ; 적외선 수분측정기(Infrared Moisture Determination Balance FD-240)로 측정.

가-3. 조지방 정량 ; Soxhlet 법으로 측정한다.

가-4. 조회분 정량 ; 회화용기를 전기로에서 600℃로 3시간동안 가열한 후, desicator에서 냉각하여 항량이 된 회화 용기에 시료 3g을 넣고 전체 무게를 달고, 전기로에 넣어 600℃로 가열하여 시료가 백색(or 회백색)이 되도록 회화시킨 후 칭량한다.

가-5. 무기질 성분 분석 ; 시료들을 분말화하여, 원자흡광분광광도계(ICP)를 사용하여 정량한다.

나. 생리활성 물질의 정량 및 분석

나-1. 불검화물 중 레티놀, 토코페롤, 스티그마스테롤 함량 측정

▶ **시료의 추출**; 시료의 추출은 Anne 등(1999)의 방법에 의해 시료 600 mg에 0.1% BHT가 포함된 에탄올 6 ml를 넣고 85℃ 항온수조에서 5분간 반응시킨 후 80% KOH 120 μ l를 첨가하여 85℃ 항온 수조에서 10분간 saponification 시킨다. 여기에 찬 증류수 3 ml와 hexane 3 ml를 넣고 vortex한 후 1200g에서 10분간 원심분리하여 상층액만 15 ml의 찬 증류수가 담긴 분액 깔대기에 옮긴다. 침전물은 hexane으로 2번 더 추출하였으며 모여진 hexane층은 찬 증류수로 3번 더 씻어낸 후 0.45 μ m syringe filter로 여과하여 갈색 바이알에 담아 진공증발기로 건조시켜 HPLC 분석시까지 냉동 보관한다.

▶ **Standard curve의 retention time 설정**; Standard 물질인 Retinol, α -Tocopherol, Stigma-sterol은 Sigma사로부터 구입하였고 각각 1 μ g/ml, 50 μ g/ml의 농도로 제조후 HPLC로 분석하여 retention time을 구하였다. HPLC 분석 조건은 Waters Associate Model 244 HPLC로 column은 Bondapak C-18, UV 검출

기(292nm), 이동상 95% 메탄올, retention time 10분, flow rate 2.0 ml/min. 이었다. Retinol의 retention time은 2.54분, Stigmasterol은 4.51분, Tocopherol은 6.09분이었다.

▶ **Retinol, Tocopherol, Stigmasterol 함량 비교;** 전처리하여 둔 시료에 1 ml의 에탄올을 첨가하여 HPLC로 분석하고, 전체비검화물 중량에 대한 retinol과 tocopherol 각각의 중량비로 결정하였다.

나-2. 식이섬유 함량 : Prdsky-AOAC법인 효소중량법을 사용하였다. 시료를 tremayl로 호화시키고 amylo-glucosidase와 protease로 전분과 단백질을 가수분해시켜 제거한 후, 잔사의 단백질과 회분 함량을 제거한 것을 총 식이섬유소 함량으로 하였다.

나-3. Phytic acid 함량 : 시료(10 g)를 TCA에 녹여 얻은 현탁액에 염화 제2철을 작용시킨 후, 질산에 녹여서 KSCN을 첨가하여, 480nm에서의 흡광도를 측정한다.

나-4. Phenolic compound 함량 : 시료를 DMSO(10 mg/ml)에 녹여, 0.5 ml을 시험관에 취하고, 증류수 6.5 ml을 가한 후, Filin-ciocalteu's phenol reagent(Sigma F-9252)를 0.5 ml 첨가하고 실온에서 3분간 방치한다. Na₂ CO₃ 포화용액 1 ml와 탈이온수 1.5 ml를 첨가한 후 실온에서 1시간 방치한 후, 725nm에서의 흡광도를 측정한다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 galic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구한다.

나-5. GABA 함량 : 특수미 동결건조시료를 0.22 M Tris-HCl(pH 8.0)완충액에 현탁시킨 시료 100 μl에 2.2mM α-ketoglutaric acid, 30μM NADP, 8mM 2-MeSH, γ-amino acid, butyric acid, succinate semialdehyde dehydrogenase dehydrogenase 등을 포함하는 mixture soln.100μl를 첨가하여 38°C에서 30분간 반응시킨 후, 0.17 N NaOH 1 ml 첨가하여 60°C에서 15분간 반응시켜, 340nm에서의 흡광도를 측정함으로써 생성되는 NADPH 양을 정량한다.

다. 생리활성 기능(효과) 검정

다-1. 특수미 에탄올 추출물의 항산화 효과 검정

(1) **환원력 측정 :** Oyaizu의 방법을 사용하였다. Tube에 시료 200 μl와 0.05 M phosphate buffer(pH 6.6) 500 μl를 넣었다. 1% K₃Fe(CN)₆(Potassium ferricyanide, Sigma P-3667)를 500 μl씩 분주한 후 50°C에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후에 3분 동안 찬물에 냉각시키고 10% TCA(Trichloroacetic acid,

Sigma T-6399)를 500 μ l 넣고, 5,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 상층액 500 μ l를 취하여 deionized water 500 μ l와 0.1% FeCl₃(Ferric chloride, Sigma F-1513) 100 μ l를 넣은 후 700 nm에서 흡광도를 측정한다.

(2) DPPH에 대한 전자 공여능 측정 : Abs. EtOH 1 ml, 100 mM sodium acetate buffer(pH5.5) 990 μ l, 시료 10 μ l에 총 부피가 2.5 ml이 되도록 0.5 mM DPPH 용액(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Sigma chemical Co., USA, Abs. EtOH soln) 0.5 ml을 넣어 5초 동안 vortex하고 30분간 실온에서 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 시료 자체가 가지는 색으로 인해 DPPH 반응 후 흡광도가 높게 나타나 반응계 전체의 항산화 효과가 낮게 판정되는 오류가 생길 수 있어 0.5 mM DPPH 용액 0.5 ml 대신 100 mM sodium acetate buffer(pH 5.5) 0.5 ml을 넣어 총 부피를 동일하게 한 후 흡광도를 측정하였다. 그 값을 시료 control의 흡광도라 하였다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = \frac{1-(As-Asc)}{Ac} \times 100$$

(3) Linoleic acid를 이용한 지질과산화 억제능 측정 : Thiocyanate에 의한 항산화 활성은 Nakatani의 방법을 변형하여 실시하였다. Cap tube에 0.25 ml의 linoleic acid와 99% 에탄올 10 ml을 넣고 추출물 시료 0.2 ml을 첨가한 후 증류수로서 25 ml 되도록 한 다음 40°C에서 incubation하면서 일정간격으로 측정하였다. 이 반응용액에서 0.1 ml을 취하여 test tube에 넣고 75% 에탄올 4.7 ml, 30% ammonium thiocyanate 0.1 ml, 0.02M ferrous chloride(in 3.5% HCl) 0.1 ml을 vortex로 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 butylated hydroxy toluene(BHT)를 사용하였다. BHT는 시료첨가량의 1/10을 사용하였다.

다-2. 특수미 식이에 의한 고지혈증 대사 개선효과

(1) 실험재료 : 특수미 품종들의 일반성분분석은 A.O.A.C법에(1990) 의해서 수분은 상압가열건조법으로, 조단백질은 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhelt 추출법에 의해서 측정하였으며 회분 550°C에서 회화하였다. 식이섬유는 prosky -AOAC인 효소중량(enzymatic gravimetric procedure)으로 정량하여 분석하였다.

표2-1. Components of rice cultivates(%)

Cultivates	Mositure	Protein	Fat	Ash	Carbo- hydrate	Ditetary fiber
Rice	12.73	2	5.87	0.2	78.42	0.78
Brown rice	11.16	2.54	7	1.19	75.38	2.13
Giant embryo rice	12.20	2.64	7.24	0.72	72.85	4.35
Germination embryo rice	13.42	3.74	8.12	0.82	76.89	5.13

Cultivars	Crude protein	Crude lipid	Ash	Moisture	TDF	Carbo- hydrate
Normal rice	5.87±0.26	2.00±0.08	0.03±0.03	12.3±0.36	1.15±0.01	78.36
SW	7.19±0.11	1.29±0.03	0.22±0.01	6.3±0.16	3.36±0.18	81.63
FWMR	8.29±0.12	3.48±0.21	0.16±0.01	11.3±0.26	4.89±0.76	71.88

SW : Fermented with Basidiomycota (sangwhang), FWMR : Fermented with Monascus ruber

TDF : Total dietary fiber

(2) 실험식이 : 실험동물로는 생후 3주령 된 수컷 흰쥐(Sprague Dawley) 50마리를 바이오제노믹스(Bio Genomics Inc)로부터 구입하여 고형사료(삼양사)로 일주일간 적응시킨 후 체중이 93.6±3인 동물을 난괴법(randome complete block design)에 의해서 10마리씩 4군으로 분류하여 온도는 20-22℃, 습도는 50% 명암은 12시간 주기조명 사육하였으며 식이와 수분은 제한없이 자유롭게 섭취하도록 하였으며 체중은 일주일에 한번씩 측정하였으며, 식이조성은 다음과 같다.

표2-2. Composition of experimental diets

	Normal Control	Brown rice	Giant embryo	Germinated-giant embryo
Total Carbohydrate	65	65	65	65
Corn starch	16	-	-	-
sucrose	49			
From rice source ¹⁾		85.61	87.85	83.24
Total Protein	20	20	20	20
Casein	20	14.01	13.64	13.24
From rice source	-	2.87	3.82	4.27
Total Fat	5	5	5	5
Corn oil ²⁾	5	2.83	2.68	1.89
From rice source	-	5.99	6.36	6.76
Total Cellulose	5	5	5	5
Cellulose ³⁾	5	2.13	1.18	0.73
From rice source		2.87	3.82	4.27
Vitamin mix ⁴⁾	1	1	1	1
Mineral mix ⁵⁾	3.5	3.5	3.5	3.5
DL-methionine ⁶⁾	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline chloride ⁷⁾	0.2	0.2	0.2	0.2
Energy kJ	1611.6	1611.6	1611.6	1611.6

¹⁾ Ricegen Co. Seoul Korea, ²⁾ Dong Bang Oil Co. Seoul korea, ³⁾ Sigma Chemical Co. CMC(sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive fiber),⁴⁾ Vitamin Mix, AIN-76 (g/kg mixture): p-aminobenzoic acid 11.0132, ascorbic acid, coated(97.5%)101.6604, vitamin B₁₂(0.1% trituration in mannitol 2.9736, calcium pantotheate 6.6079, choline dihydrogen citrate 349.6916, folic acid 0.1982, inositol 11.0132, menadonione 4.9559, niacin 9.9119, pyridoxine HCl 2.2026, fiboflavin 2.2026, thiamin HCl 2.2026, dry vitamin A palmitate(500,000 U/g) 3.9648, dry vitamin D₃(500,000 U/g) 0.4405, dry vitamin E acetate(500 U/g) 42.2291, cor starch. Harlan TEKLAD Co.,⁵⁾ Mineral Mix, AIN-76 (g/kg mixture): Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O)500, sodium chloride (NaCl)74, Potassium citrate, monohydrate (K₃C₆H₅O₇ · H₂O)220, Potassium sulfate (K₂SO₄) 52, managanous carbonate(45-48% Mn) 3.5, ferric citrate(16-17% Fe)6, zinc carbonate (70% ZnO)1.6, cupric carbinat (53-55% Cu)0.3, potasium iodate(KIO₃)0.01, sodium selenite(Na₂SeO₃ · 5H₂O) 0.01, chromium potassum sulfate(CrK(SO₄)₂ 12H₂O) 0.55, fill up to 1000 with sucrose, Harlan TEKLAD Co.,⁶⁾ Sigma Chemical Co.(St. Louis Missouri, USA), ⁷⁾ Sigma Chemical Co.(St. Louis Missouri, USA)

Ingredients	Diet groups			
	Control	N-rice	SW-20	FWMR-20
Casein	20.00	15.21	15.04	14.70
Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30
Corn starch	15.00	—	—	—
Sucrose	49.00	—	—	—
Cellulose	5.00	4.06	3.73	3.39
Mineral mixture	3.50	3.25	3.27	3.27
Vitamin mixture	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20
Corn Oil	5.00	3.37	3.49	3.08
Cholesterol	1.00	1.00	1.00	1.00
N-rice powder	—	81.67	65.72	65.72
SW powder	—	—	15.31	—
FWMR powder	—	—	—	17.39
Total kcal	390	390	390	390

SW : Fermented with Basidiomycota (sangwhang), FWMR : Fermented with Monascus ruber

고콜레스테롤을 유발시키기 위해서 대조군 AIN-76식이에 1% 콜레스테롤을 첨가하였고 실험식이에는 균은 1% 콜레스테롤을 각각 첨가하여 사육하는 3개의 시험군을 두었으며 실험식이는 5주간 공급하였다. 체중의 변화와 사료효율 측정은 실험식이 개시일을 0 day로 하여 1주일마다 체중을 달아 실험식이 종료일 까지 동물의 체중변화 상태를 비교하였으며 실험기간동안 사료섭취량과 체중증가량으로부터 사료효율을 계산하였다.

(3) 채혈 및 조직의 채취 : 실험식이 급여가 5주가 되었을 때 동물을 18시간 절식시킨 후 1%농도 케타민을 체중 100g 당 0.2 ml 량으로 복강내에 주사하여 마취시킨 다음 개복 하였다.

헤파린(1000 unit/ml)처리가 된 주사기로 하대정맥에서 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈장을 분리한 다음 분석시까지 냉동 보관 하였다. 혈액을 채취한 다음 즉시 조직(간, 신장, 심장, 폐)을 적출하여 지방을 제거하고 PBS(phosphate buffered saline)로 여러 번 행군 후 가아제로 수분을 제거하여 칭량하였다. 간조직은 효소활성도 측정 및 조직지질정량을 위해 분리 수집하여 액체질소에 급냉 시킨 후 시료 분석시까지 -70℃에서 보관하였다. 또한 분변시료 분석을 위해 5주의 실험기간 중 마지막 3일 동안 분변을 수집하여 건조시킨 후 냉동

보관하였다.

(4) 혈중 지질농도 측정 : 혈중중성지방은 Bucolo방법(1973)에 준한 효소법(Bucolo & David 1973)에 의한 Kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다. 중성지방에 lipoprotein lipase을 작용시켜 glycerol과 지방산으로 분해시킨 후 glycerol kinase(GK)를 첨가하여 생성된 L-glycerol phosphate oxidase, amino-antipyrin과 peroxidase와 반응시켰다. 이때 생성된 quinone형의 색소를 550 nm에서 흡광도를 측정하여 glycerol표준용액과 비교하여 정량 하였다. 혈장 중 총콜레스테롤의 정량은 Allain등의 효소법을 응용한 측정용 시약(아산제약 kit)를 사용하였다.

혈중콜레스테롤은 에스테르 및 유리콜레스테롤 두 형태로 존재하므로 이들 모두를 정량하기 위하여 에스테르를 cholesterol esterase에 의해 지방산과 유리콜레스테롤로 전환시켰다 유리 콜레스테롤을 cholesterol oxidase에 의해 Δ^4 -cholesteone으로 바꾸어 peroxidase 및 기질인 H_2O_2 , phenol, 4-aminoantiprine을 혼합하여 적색으로 발색시키고 500 nm에서 흡광도를 측정하여 콜레스테롤 표준곡선과 비교하여 정량하였다.

HDL-cholesterol은 효소법(Finely1978)에 의한 kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다.

Dextran-sulfate-Mg(II)을 혈장과 반응시켜 혈장내 HDL fraction 제외한 LDL, VLDL을 침전시킨 후, 상층액을 검체로 사용하여 혈중의 총콜레스테롤과 같은 방법으로 500 nm에서 흡광도를 측정하고, 콜레스테롤 표준곡선과 비교하여 정량 하였다. 동맥경화지수(Atherogenic Index, AI)는 다음공식에 의해 계산되었다.(Yamajaki 1990). 계산식은 다음과 같다

$$AI = ([Total-C] - [HDL-C]) / [HDL-C]$$

(5) 변중 중성스테로이드 및 담즙산 함량 : 분변의 중성 중성스테롤 즉 coprostanol, cholesterol 정량은 Caubayco등에 의한 방법을 사용하였다. 건조된 분변을 막자사발에 갈아 1.5 g을 취한 후 intrernal standard 로서 0.4 mg 5 α -cholestane을 첨가하였다. 여기에 1 N NaOH(in 90% EtOH) 4 ml을 가하여 67 $^{\circ}$ C 항온수조에 1시간 mild cyclohexane으로 3회 추출하여 추출된 용액은 질소가스로 건조시킨 후 1 ml로 용해시켜 GC(SHIMAZU Japan)으로 정량 하였으며 GC 조건은 다음과 같다.

표2-3. GC conditional for fecal neutral sterol analysis

Items	Conditions
Column	ZB-5 Capillary column(0.25 μ m, 30m)
Detector	Flame ionization detector(FID)
Column Temperature	250 $^{\circ}$ C
Detector Temperature	300
Injector Temperature	300
Carrier gas	N ₂ gas
Attenuation	32

변종의 담즙산 함량은 Micheal의 방법을(1980) 보완한 효소법으로 측정하였다. 중성스테롤 추출과정에서 분리된 lower aqueous phase 에 10 N NaOH 1 ml 첨가하여 120 $^{\circ}$ C 고압을 가하여 esters를 알칼리성으로 가수 분해시켰다. 염산용액을 사용하여 시료용액의 액성을 pH 2로 산성화시키고 클로로포름: 메탄올(2:1)용액을 20 ml을 혼합하여 3000 rpm 5분간 원심 분리하였다. 이중 aqueous phase를 취하여 클로로포름 10 ml로 재추출한 후 vacumm evaporator로 용매를 휘발시켰다. 다시 클로로포름과 메탄올(2:1)용액 10 ml을 첨가하여 3000 rpm 5분간 원심분리 하여 그중 상층액 5 ml을 취해서 질소가스로 클로로포름을 휘발시켰다. 추출된 시료는 메탄올 : 증류수 (5 : 1) 용액 1 ml 녹인 후 다시 2배 희석하여 담즙산정량에 사용하였다.

희석한 시료에 200 mM glycine/NaOH buffer, 150 mM hydrazine hydrate, 100 μ M EDTA, 2.6 mM NAD를 포함한 반응시약 1ml 에 cholic acid를 표준용액으로 하여 추출한 시료와 함께 각각 50 μ l 취해 섞었다. 각 시료 및 표준용액을 포함한 시험관에 3 α -hydroxy steriod dehydrogenase 20 μ l를 첨가하여 1 시간 동안 상온에서 반응시켰다. 이어 20 μ l Triton X-100를 첨가하여 현탁물을 제거한 후 340 nm 흡광도를 구하였으며 표준시료와 비교하여 담즙산 함량을 구하였다

(6) 혈장중의 효소활성측정 : 혈장 GOT 및 GPT 측정으로 혈장의 GOT의 경우는 L- 아스파라긴산과 α -케토글루탈산을, GPT의 경우는 DL-알라닌과 α -케토글루탈산을 넣으면 혈장의 효소에 의해 기질이 피루빈산으로 바뀌며 이 피루빈산이 2,4-디니트로페닐 히드라진과 반응하여 0.4 N NaOH를 처리하면 비색으로 발색반응이 나타나고 이를 490-530 nm에서 흡광도를 측정하여 피루빈산 리튬의 표준에 비교하여 활성도를 측정하였으며 이 방법을 기초로 하여 상품화된 kit(아산제약)를 사용하였다. GOT와 GPT의 경우 간세포에만 존재하는 효소로서 간 조직이 손상이 되면 혈중으로 방출되는 특징을 가지고 있으므로 간 기능검사의 대표적인 예로 많이 사용되

고 있다. 따라서 GOT, GPT의 효소 역가가 혈장에서 높으면 간의 손상이 높다는 것이다.

(7) 간조직의 지질함량 분석 : 간 조직의 지질성분은 일정량의 변을 클로로포름: 메탄올 (2:1) (v/v)혼액을 가하여 마쇄균질화 하여 여과지로 여과한 후 액체질소로 건조한 후, Folch등의 수정된 방법으로 중성지방과 콜레스테롤 측정용 효소시액에 유화제로서 0.5% triton X-100와 3 mM sodium chelate를 혼합하여 발색시 일어나는 탁도를 제거하여 간 조직의 중성지방과 콜레스테롤농도를 550 nm와 500 nm에서 각각 흡광도를 측정하였다.

(8) 혈장 및 간 조직의 과산화지질 수준측정 : 혈장의 TBA reactive substance(TBARS)측정은 Taladgis방법에 따라 혈장 0.5 ml를 취해 5% trichloroacetic acid (TCA) 3 ml과 0.06M thiobarbituric acid(TBA) 1 ml을 넣어 혼합한 후 80°C 수욕에서 90분간 incubation하였다. 실온에서 식힌 후 2000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 취해서 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. Malondialdehyde(MDA) 표준용액은 tetramethoxypropane(TMP)를 가수분해하여 조제하였다. 즉 TMP 1 mmol을 100 ml의 0.01 N HCl 용액에 녹여 50°C water bath에서 60분간 가열한 후 실온으로 냉각시켜 가수 분해된 TMP용액 1 ml을 0.01 M Na₃PO₄ (pH7.0)buffer 100 ml에 희석시켜 MDA표준용액을 만들었다. MDA 표준용액의 흡수스펙트럼을 얻어 λ_{max} 에서 흡광도와 MDA의 extinction coefficient로부터 정확한 농도를 계산하였다. 조제된 표준용액은 혈장과 동일한 조건에서 반응시켜 TBA-MDA chromopore의 표준곡선을 얻고 이 곡선으로부터 TBA반응물질의 양을 MDA equivalent로 산출하였다.

이밖에 간, 신장, 심장 조직 중 TBA-reactive substance측정은 uchiyama와 Mihara의 방법에 의하였다. 0.5 g의 조직에 9배 부피의 0.01 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)를 넣어 균질화 한 후 0.5 ml을 취해 20 ml screw capped tube에 넣어 1% phosphoric acid 3 ml과 0.06 M TBA 용액 1 ml을 첨가하여 끓은 물에서 45분간 방치한 후 실온으로 식혔다. 이 혼합물에 n-butanol 4ml을 첨가하여 3000rpm에서 10분간 원심 분리 한 후 부탄올층을 취해서 535와 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 이들 흡광도의 차이로부터 TBARS의 양을 조직 무게를 g당 함량으로 계산하였다.

(9) 간 조직 중의 항산화효소 활성도 측정 : 간 조직 중의 효소원은 각각 동물의 동일간엽에서 2 g을 취하여 조직 1 g당 0.25 M sucrose용액을 5배가하여 glass

teflon homogenizer (Glascol, 099C K44, USA)로 균질화 하여 600×g에서 10분간 원심 분리한 후 상층액을 취하고 다시 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 미토콘드리아 분획을 얻었다. 그리고 상층액을 다시 105,000×g에서 1시간동안 초원심분리(Beckman Optima TLX-120, USA)하여 세포질 분획을 분리하였다. 미토콘드리아 분획은 0.25 M sucrose 용액을 현탁시킨 다음 다시 원심분리 시켜 얻은 침전물을 취하고 소량의 0.25 M sucrose 용액에 재현탁시켜 catalase활성 측정에 사용하였고 세포질 분획은 SOD와 GSH-Px 활성도측정에 이용하였다.

CAT 활성도는 Abei등의 방법으로 측정하였다. 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2.89 ml에 기질인 30 mM H₂O₂ 100 μl를 넣어 25℃에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 효소원 10 μl를 가하여 3 ml이 되게 하고 25℃ 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하여, H₂O₂의 흡광도 변화와 H₂O₂의 몰흡광계수로 H₂O₂의 농도를 구해 효소 활성도를 계산하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정은 세포질 분획은 지질을 침전시키기 위해 상층액 1 ml당 0.4 ml ethanol : chloroform(25:15)용액을 첨가하여 10,000×g에서 원심 분리하여 침전시킨 후 세포질과 가용성 단백질로 구성된 상층액을 얻어서 사용하였다. SOD 활성도는 알칼리 상태에서 pyrogallo의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund 방법으로(1974)으로 측정하였다. 즉 10 mM EDTA를 포함한 50 mM Tris HCl buffer(pH 8.6) 1.5 ml에 효소원 0.1 ml 와 15 mM의 pyrogallo 0.1 ml을 넣고 25℃에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 50 μl를 넣어 반응을 종결시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소 활성의 단위는 효소원을 넣지 않고 반응시킨 15 mM pyrogallo용액의 자동산화를 50% 억제하는 단백질 양으로 정하였으며 활성도 단위는 pyrogallo의 자동산화를 억제하는데 필요한 세포질 단백질에 대한 SOD unit로 하였다.

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도 측정은 Paglia의 방법(1967)에 따라 산화형 glutathione (GSSG)이 GR와 NADPH에 의하여 환원될 때 NADPH의 흡광도가 340 nm에서 감소하는 정도를 측정하였다. 즉 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.2) 2.6 ml과 30 mM GSH 0.1 ml을 넣고 6 mM NADPH용액 0.1 ml 에 6.25 μM H₂O₂를 넣은 뒤 25℃에서 5분간 반응시켰다. 여기에 세포질 분획 0.1 ml을 혼합하여 25℃에서 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성의 1단위는 1분간 1 nmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양을 나타내었다.

조직의 mitochondria와 cytosol 분획의 단백질 함량측정은 간 조직의 mitochondria와 cytosol 분획의 단백질 함량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준물질로 하여 Bradford 방법에 의해 정량하였다.

(10) 통계처리 : 모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 one way ANOVA에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 행하여 유의성을 검증하였다.

다-3. 특수미 식이에 의한 당뇨 개선효과

(1) 실험동물 및 식이 : 실험동물로는 생후 4주령 된 수컷 흰쥐(Sprague Dawley) 95마리를 바이오제노믹스(Bio Genomics Inc)로부터 구입하여 일정한 조건으로 (온도 : 20-22℃, 습도 : 50%, 명암 : 12시간 주기조명) 안정시킨 후 steel cage에서 고형사료(삼양사)로 평균체중이 280g 정도로 성장할 때까지 한 마리씩 사육한 다음 AIN-76 대조식으로 일주일간 적응시켰다. 당뇨군은 평균 체중과 혈당이 유사하도록 각 군당 15마리씩 5군으로 나누고 정상대조군은 평균체중이 유사하도록 각 군당 10마리씩 2군으로 나누었으며 실험기간은 당뇨유발 후 6주간이었고 실험기간 동안 식이와 수분은 제한 없이 자유롭게 섭취하도록 하였으며 식이는 매일 같은 시간에 공급하였고 분변은 매일매일 갈아주었다. 체중의 변화와 사료효율 측정은 실험식이 개시일을 0 day로 하여 1주일마다 체중을 달아 실험식이 종료일까지 동물의 체중변화 상태를 비교하였으며 실험기간동안 사료섭취량과 체중증가량으로부터 사료효율을 계산하였다.

표2-4. Composition of experimental diets

Ingredients	NC ⁸⁾ & DC ⁹⁾	NGE ¹⁰⁾	Diabetic			
			R ¹¹⁾	BR ¹²⁾	GER	GGER ¹³⁾
Total	65	65	65	65	65	65
Carbohydrate						
Corn starch	15.35	0	0	0	0	0
Sucrose	49.65	0	0	0	0	0
From rice source ¹⁾	0	89.22	82.88	82.93	89.22	84.54
Total protein	20	20	20	20	20	20
Casein	20	13.54	14.20	17.89	13.54	13.27
From rice source		6.46	5.80	2.11	6.46	6.73
Total Fat	5	5	5	5	5	5
Corn oil ²⁾	5	2.64	3.34	2.81	2.64	1.84
From rice source		2.36	1.66	2.19	2.36	3.16
Total cellulose	5	5	5	5	5	5
Cellulose ³⁾	5	1.18	4.35	2.13	1.18	0.73
From rice source		3.82	0.65	2.87	3.82	4.27
Vitamin mix ⁴⁾	1	1	1	1	1	1
Mineral mix ⁵⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
DL-methionine ⁶⁾	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline chloride ⁷⁾	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Energy kJ	1611.6	1611.6	1611.6	1611.6	1611.6	1611.6

¹⁾ Ricegen Co. Seoul Korea, ²⁾ Dong Bang Oil Co. Seoul korea, ³⁾ Sigma Chemical Co. CMC(sodium carboxyl methyl cellulose, non-nutritive, fiber), ⁴⁾ Vitamin Mix, AIN-76 (g/kg mixture): p-aminobenzoic acid 11.0132, ascorbic acid, 97.5%)101.6604, vitamin B₁₂(0.1% trituration in mannitol 2.9736, alcium pantotheate 6.6079, choline dihydrogen citrate 349.6916, folic acid .1982, inositol 11.0132, menadonione 4.9559, niacin 9.9119, pyridoxine HCl 2.2026, fiboflavin 2.2026, thiamin HCl 2.2026, dry vitamin A palmitate(500,000U/g) 3.9648, dry vitamin D₃(500,000 U/g) 0.4405, dry vitamin E acetate(500U/g) 42.2291, cor starch. Harlan TEKLAD Co., ⁵⁾ Mineral Mix, AIN-76 (g/kg mixture): Calcium phosphate, dibasic(CaHPO₄ · 2H₂O)500, sodium chloride (NaCl)74, Potassium citrate, mono -hydrate (K₃C₆H₅O₇ · H₂O)220, Potassium sulfat (K₂SO₄) 52, managanous carbonate, (45-48% Mn) 3.5, ferric citrate(16-17% Fe)6, zinc carbonate (70% ZnO)1.6, cupric carbinat (53-55% Cu)0.3, potasium iodate(KIO3)0.01, sodium selenite,

($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.01, chromium potassium sulfate($\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 0.55, fill up to 1000 with sucrose, Harlan TEKLAD Co.,⁶⁾ Sigma Chemical Co.(St. Louis Missouri, USA)⁷⁾ Sigma Chemical Co.(St. Louis Missouri, USA)

(2) **당뇨병의 유도** : 당뇨병을 유발시키기 위하여 streptozotocin(STZ, Sigma Chemical Co)을 이용하였는데 이는 췌장에 β -cell에만 특이적으로 작용하고 다른 기관에는 영향을 주지 않는 것으로 보고되어 있기 때문에 시험식이 급여하기 전 당뇨군의 동물에게 0.01 M citric acid buffer (pH 4.5) 용액에 용해시킨 streptozotocin(50mg/kg BW)을 대퇴부 근육에 1회 주사하여 중 정도의 당뇨병을 유발시켰으며, 당뇨병의 확인은 streptozotocin을 주사 24시간 후 공복상태에서 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 공복시 혈당 수준이 180 mg/dl 이상일 때 당뇨병이 유발된 것으로 간주하였으며 실험식이 5주째 공복시 혈당을 다시 측정해 당뇨병이 유지되고 있음을 확인하였다. 혈당측정은 혈당계(Acctrend GC, Boehringer Mannheim Germany)로 측정하였다.

(3) **당뇨증세의 측정** : 수분섭취량, 노배설량, 혈당을 측정하기 위해서 실험식이 5주째에 동물을 48시간 동안 한 마리씩 대사 cage에 수용하여 충분한 양의 물을 제한 없이 급여하였다. 수분의 급여량과 잔여량의 차이로부터 1일 평균 수분섭취량을 측정하였고 노배설량은 대사 cage로부터 수집된 소변의 총량을 배설량으로 계산하였고 혈당측정은 혈당계(Acctrend GC, Boehringer Mannheim Germany)로 측정하였다.

(4) **장 통과시간(Gastrointestinal transit time) 측정** : Marker로 사용한 carmine red (Sigma Chem Co, USA)를 0.5%의 농도로 실험식이에 첨가하여 실험식이 22 일째 급여하고 매 시간마다 marker의 변중 배설을 체크하였다. 실험식이 급여시간과 marker가 변중에 처음 나타나기까지의 시간간격을 장 통과 시간으로 하였다. 변중의 수분함량 및 조지방량의 측정은 실험식이 5주째 대사 cage에서 48시간 동안 배설되는 변을 하루 2회씩 수집하여 wet weight를 칭량한 후 냉동시켰다가 fume hood에서 향량에 달할 때까지 건조시킨 다음 dry weight를 칭량하고 wet weight와의 차이를 수분함량으로 하였으며, 변중의 조지방 배설량은 Soxhelt 추출법에 의해서 측정하였다.

(5) **경구 당부하검사(Oral glucose test OGTT)** : 실험식이 6주째 24시간 공복시킨 후 꼬리정맥에서 채혈하여 공복시 혈당을 측정한 후 50% glucose용액(0.1g

glucose/100 BW)을 intubation tube를 사용하여 경구 투여하고 30, 60, 120, 180 분에 꼬리정맥으로 채혈하여 혈당을 혈당계(Acctrend GC, Boehringer Mannheim Germany)로 측정하였다.

(6) **채혈 및 조직의 채취** : 실험식이 6주가 되었을 때 실험동물을 18시간 절식시킨 후 1%농도 케타민을 체중 100 g 당 0.2ml 량으로 복강내에 주사하여 마취시킨 다음 개복하였다. 헤파린 (1000unit/ml)처리가 된 주사기로 하대정맥에서 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하고, 분석시 까지 냉동보관하였다. 혈액을 채취한 다음 즉시 간, 신장, 심장, 폐, 소장, 대장을 적출하여 지방을 제거하고 냉장식염수로 여러 번 헹군 후 가아제로 수분을 제거하고 무게를 달고 냉동보관하였다.

(7) **이당류 분해 효소활성의 측정** : 장점막중의 maltase, sucrose 및 lactase활성은 Dahlqvist 방법에 의해서 측정하였다. 희생직후 소장 상부 10-60 cm사이를 잘라 open한 후 차게 냉장시킨 후 생리식염수로 깨끗하게 씻어 가아제로 수분을 제거하였다. 얼음 위에서 장점막을 microscope glass로 긁어서 무게를 달고 4배의 증류수와 함께 homogenizer로 균질화시켜 4℃ 7000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 취해서 효소활성을 측정하였다. 희석시킨 효소시료를 0.1 ml와 기질용액 0.056 M disaccharide solution/ 0.01 M sodium malate buffer (pH 6.0) 0.1 ml 을 시험관에 넣고 잘 혼합해서 37℃ 수욕중에서 60분간 반응시킨 다음 증류수 0.8 ml 첨가하고 2분간 끓는물에 담근 후 수돗물로 식혔다. 위의 시료용액을 0.5 ml을 시험관에 취하고 glucose oxidase용액을 3 ml 첨가된 후 37℃ 수욕중에서 60분간 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이당류 효소 활성도는 specific activity(unit of activity/g protein)로 나타내었으며 장점막의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 Bradford법에 의해서 정량하였다.

(8) **혈장의 항산화 영양소 (비타민 A &E) 농도 측정** : 혈장의 비타민 A &E 농도는 Bieri등의 HPLC방법에 의해 동시에 측정하였다. 혈장 200 μ l에 internal standard로서 α -tocopheryl acetata와 retinil actate를 각각 100 μ l씩 잘 섞는 후 HPLC용 heptane 200 μ l를 첨가하여 vortex하였다. 이것을 1500 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층 heptane만을 취하여 지질을 추출한 뒤 갈색 vial로 옮기고 0.45 μ m menbrance filter로 여과하여 질소가스로 건조시켰다. 건조된 지질추출물은 diethyl ether : methanol(1:3 v/v)혼합용액에 용해시킨 후 HPLC로 분석 정량하였다.

라. 특수미의 식품 가공적성 검정

라-1. 취반적성 : 발효쌀(동충하초, 상황버섯, 아가리쿠스, 홍국균, 식이섬유)을 각각 10%, 20%, 30%(w/w)씩 첨가하고 1.5 배 분량의 물을 첨가하여, oven에서 250℃에서 10분간 가열 후, 200℃에서 10분간 뜸 들여 취반한 발효쌀밥의 물성을 texture analyzer (model TA-HDi stable Micro system, England ; probe 30mm, distance threshold 5.0mm, test speed 0.5mm/s, post-test speed 5.0mm/s)로 측정하였으며, 힘-거리 곡선의 TPA(texture profile analysis) parameter로부터 경도, 탄력성, 응집성, 씹힘성 등의 물성을 각각 구하였으며, 2일 경과 후의 물성과 비교함으로써 저장에 따른 물성변화의 정도를 분석하였다.

라-2. 쌀빵 가공적성 : 밀가루에 각종의 발효쌀(동충하초, 상황버섯, 아가리쿠스, 홍국균, 식이섬유)을 각각 20%, 30%, 40%, 50% (w/w)씩 첨가하여 쌀빵을 제조하고, 제조된 쌀빵의 관능검사를 실시하였다. 관능검사는 정량적 묘사 분석(Quantitative Descriptive Analysis : QDA)방법을 사용하였고 검사에 사용된 특성의 강도 측정은 7점 선척도를 사용하였다. 평가내용은 기공의 균일성, 버섯향의 냄새, 질감, 폭신함, 껌성과 전반적인 기호도에 대해 각각 3회씩 반복적으로 실시하였다. 통계처리는 two-way ANOVA를 사용하였으며 다중범위검정 (Duncan's multiple range test)에 의해 유의성을 검정하였다.

2. 연구수행 결과 및 고찰

1). 특수미 함유 생리활성 성분

1-1. 불검화물 중 레티놀, 토코페롤, phytosterol 함량 비율 비교 : 본 실험은 쌀의 불검화물 성분 중 지용성비타민이면서 항산화 효과가 기대되는 생리활성 성분인 레티놀 및 토코페롤 그리고 혈중 콜레스테롤 수치를 낮추는데 효과적이라고 알려지고 있는 식물성 스테로이드인 스티그마스테롤의 함량 비율 특수미 품종간에 비교한 것이다. 발효쌀들은 다른 품종의 쌀들에 비해서 불검화물 중 레티놀 및 토코페롤의 비율이 높은 것을 알 수 있으며, 특히 토코페롤의 비율이 상당히 높은 것을 알 수 있다. 한편, 배아의 크기가 큰 만큼 지질의 함량이 많으리라 기대하였던 거대배아미의 경우에는 지용성 성분의 함량은 많지만 레티놀 및 토코페롤의 함량비는 오히려 일반쌀의 현미보다 못하다는 것을 알 수 있다. 그리고 일반미 및 거대배아미의 경우 발아와 더불어 식물성 스테로이드류의 하나인 스티그마스테롤의 함량비는 현저하게 증가하고 있음을 알 수 있다 (표2-5).

표2-5. 불검화물(레티놀, 토코페롤, phytosterol)의 조성 비교

시료 명	항 산화성 비타민		식물성 스테로이드
	Retinol (%)	Tocopherol (%)	Stigmasterol (%)
·현미	7.22±0.287 ^{cd}	3.75±0.101 ^f	1.35±0.026 ^e
·백미	4.33±0.375 ^a	0.59±0.013 ^{ab}	0.00±0.00 ^a
·발효쌀 ;	6.91±0.078 ^c		
·동충하초쌀	9.56±0.099 ^f	32.2±0.007 ⁱ	0.65±0.048 ^b
·상황버섯쌀	5.38±0.102 ^b	21.9±0.130 ^g	1.64±0.142 ^f
·아가리쿠스버섯쌀	10.82±0.727 ^g	30.3±0.784 ^h	0.878±0.042 ^c
·홍국균쌀		47.5±0.509 ^j	1.06±0.002 ^d
·식이섬유코팅쌀	8.83±0.676 ^{ef}	0.00±0.00 ^a	1.06±0.066 ^d
·거대배아미	4.22±0.028 ^a	0.786±0.05 ^b	1.63±0.072 ^f
·발아쌀 ;			
·일반미발아쌀	3.89±0.092 ^a	1.96±0.038 ^{ce}	3.06±0.004 ^g
·거대배아미발아쌀	8.16±0.123 ^{de}	2.73±0.148 ^e	3.39±0.040 ^h

1-2. 식이섬유 함량 : 특수미 품종별 식이섬유 함량은 거대배아미를 받아시킨 것이 가장 높았으며, 거대배아미>홍국균쌀>발아미의 순이었고, 백미를 고품배지로 제조한 버섯 발효쌀의 경우에는 식이섬유 함량이 현미와 유사한 수준이거나 오히려 낮았다. 그러나 백미보다는 상당히 높은 수준이었으며, 식이섬유 코팅쌀의 식이섬유 함량이 오히려 특수미들보다 현저히 낮았다 (표2-6).

표2-6. 식이섬유 함량 비교

시료 명	TDF (%) (total dietary fiber)	시료 명	TDF (%) (total dietary fiber)
·현미	3.96 ± 0.064		
·백미	0.78 ± 0.002	·식이섬유코팅쌀	1.78 ± 0.166
·발효쌀 ;		·거대배아미	5.23 ± 0.021
·동충하초쌀	3.25 ± 0.286	·발아쌀 ;	
·상황버섯쌀	3.98 ± 0.877	·일반미발아쌀	4.33 ± 0.020
·아가리쿠스버섯쌀	2.87 ± 0.051	·거대배아미발아쌀	6.13 ± 0.015
·홍국균쌀	4.84 ± 0.076		

1-3. Phytic acid 함량 : 최근에 발암 initiation 및 promotion을 억제하는 효과, 혈중 콜레스테롤치 억제효과 및 혈전 형성 억제효과, 지방간 억제, 면역기능의 강화 작용, 나아가서는 피부암, 유방암, 대장암 예방 등의 효과도 보고되고 있는 피틴산은 α -amylase, β -amylase, protease, β -galactosidase, lipase 등 각종 소화효소의 작용을 저해하는 것이 알려져 있기 때문에, 이 특성을 활용하여 비만방지와 당뇨병의 예방에 이용 가능성이 큰 물질이며, 폐수 중 유해금속의 침전제거, 산화방지와 안전성, 단백질의 응집성 등이 있어 다방면에서의 이용이 기대되는 물질이다. 이러한 생리활성 효과가 있는 피틴산의 함량은 거대배아미를 받아시킨 것이 가장 높았으며, 거대배아미>홍국균쌀>발아미의 순이었다. 그리고 백미를 고품배지로서 제조한 버섯 발효쌀의 경우에는 피틴산의 함량이 현미 보다 오히려 낮았다. 그러나 백미보다는 다량 함유하고 있었다 (표2-7).

표2-7. 피틴산 함량 비교

시료 명	Phytic acid 함량 (mg/g seed)	시료 명	Phytic acid 함량 (mg/g seed)
·현미	1.521 ± 0.064	·식이섬유쌀	1.420 ± 0.086
·백미	0.797 ± 0.002	·거대배아미	1.607 ± 0.101
·발효쌀 ;		·발아쌀 ;	
동충하초쌀	1.280 ± 0.086	일반미발아쌀	1.606 ± 0.092
상황버섯쌀	1.406 ± 0.077	거대배아미발아쌀	1.687 ± 0.105
아가리쿠스버섯쌀	1.312 ± 0.051		
홍국균쌀	1.341 ± 0.076		

1-4. Phenolic compound 함량 : 식물계에 널리 분포되어 있는 2차대사산물의 하나인 phenolic 화합물은 phenolic hydroxyl 기를 가지고 있기 때문에 단백질 및 기타 거대분자와 결합하는 성질이 있어서 비만억제 및 항산화효과 등의 생리활성 효과를 가지고 있다. 이에 특수미들에 함유되어 있는 총 phenolic compound의 함량을 측정 비교하였다. 일반적으로 식품에 함유되어 있는 phenolic 화합물은 아세톤 추출을 하기 때문에 본 연구에서도 아세톤 추출을 시도하였으며, 아울러 70% 에탄올 추출물도 동시에 검토하였다. 표에 나타내는 바와 같이 추출방법에 의해서 따라서 차이를 나타내는 특수미 품종도 있었다. Phenolic 화합물의 함량은 홍국균 배양쌀에 가장 많이 함유되어 있음을 알 수 있다 (표2-8).

표2-8. 페놀성 화합물 함량 비교

시 료	70% 에탄올 추출물		Acetone 추출물	
	OD at 720nm	페놀성물질 함량 ($\mu\text{g/ml}$)	OD at 720nm	페놀성물질 함량 ($\mu\text{g/ml}$)
현 미	0.3807±0.0056	71.05	0.601±0.0084	111.7
백 미	0.2699±0.0104	50.60	0.376±0.0054	70.21
식이섬유코팅쌀	0.2835±0.0131	53.12	0.498±0.0233	92.74
아가리쿠스버섯쌀	0.2764±0.0088	51.81	0.253±0.0067	47.47
상황버섯쌀	0.5498±0.0100	102.3	0.219±0.0147	41.20
동충하초배양쌀	0.4429±0.0212	82.54	0.422±0.0323	78.63
홍국균배양쌀	1.2474±0.0127	229.2	3.053±0.0759	558.4

1-5. GABA(γ -amino butyric acid) 함량 : GABA 함량은 거대배아미 품종들이 우수하였고 거대배아미를 발아시키면 함량이 더욱 증가한다. 백미에는 GABA의 함량이 낮고, 이러한 백미를 발효시키면 상황버섯쌀의 경우에는 거대배아미와 유사한 정도로 GABA의 함량이 증가하고 있다 (표2-9). 그러나 동충하초쌀의 경우에는 백미에 함유되어 있던 GABA가 거의 전분 없어지고 있음을 알 수 있다.

표2-9. GABA 함량 비교

시 료	GABA함량 (pm/g seed)		GABA함량 (pm/g seed)	
현 미	13.7±1.01	일반메품종	무발아	13.7±1.01
			발아	58.1±4.69
백 미	3.99±0.054	일반찰품종	무발아	4.47±0.097
			발아	35.8±2.64
식이섬유코팅쌀	6.63±0.128	거대배아미메품종	무발아	58.1±5.02
아가리쿠스버섯쌀	8.97±0.259		발아	129.0±12.8
상황버섯쌀	28.5 ±2..36	거대배아미찰품종	무발아	39.8±3.14
동충하초배양쌀	0.062±0.01		발아	121.2±10.2
홍국균배양쌀	8.23±0.302			

2) 특수미 에탄올 추출물의 항산화 효과

2-1. DPPH radical에 대한 전자공여능 : DPPH radical은 반응계에서 전자를 제공받으면 고유의 청남색이 옅어지는 특성이 있으므로 이러한 색차를 비색정량하여 시료의 전자공여능력의 측정에 이용한다. DPPH radical은 화학적으로 유도된 radical 이지 만, DPPH radical에 대한 전자공여능의 정도로서 측정되는 항산화 활성은 lipoxygenase에 의한 지방산화반응계에서의 항산화 활성 측정 결과와 잘 부합된다는 점에서, 간편하고 신뢰성이 높은 항산화 활성 측정 방법으로 널리 이용되고 있다. 발효미 아세톤추출물 및 에탄올 추출물들의 항산화 활성을 비교한 결과 (표2-10), 아세톤 추출분획의 경우에는 백미를 고품배지로 하여 홍국균을 발효시킨 쌀의 항산화 활성이 가장 높았으며,

상황버섯>아가리쿠스>동충하초쌀의 순이었다. 그리고 발효쌀의 경우 홍국균쌀을 제외하면 현미 보다 오히려 항산화 활성은 낮게 나타나고 있었다. 70% 에탄올 분획의 경우에도 유사한 경향을 나타내고 있었다.

표2-10. DPPH radical 전자공여능 비교

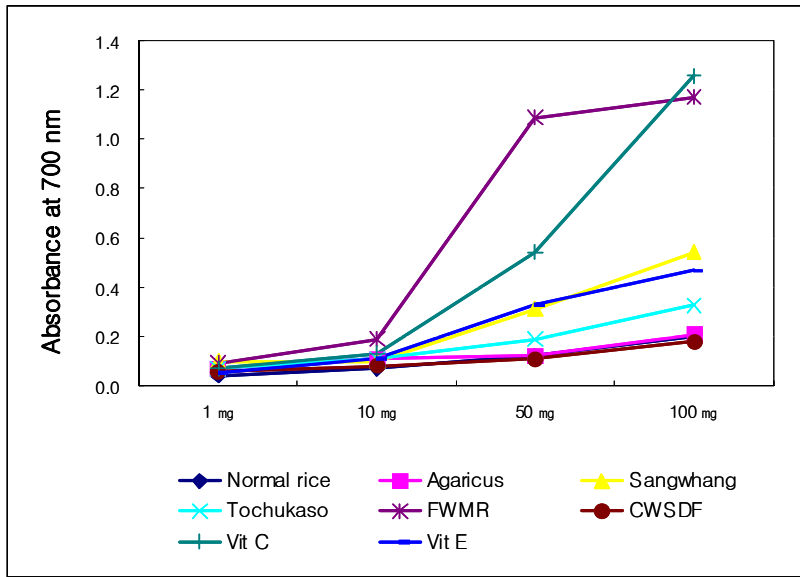
	Acetone 추출분획 항산화성(%)	70% 에탄올 추출분획 항산화성(%)
현미	28.31	43.01
백미	16.03	17.10
식이섬유강화쌀	24.31	28.10
아가리쿠스 쌀	20.26	22.83
상황버섯 쌀	25.89	69.21
동충하초 쌀	10.24	34.08
홍국균 쌀	89.89	84.60

		Conc.	OD at 517nm	%
Control			1.010±0.041	0
BHT		1%	0.137±0.002	86.04
		0.1%	0.763±0.007	23.62
Normal rice	Not-germination	2mg	0.624±0.054	33.27
		0.2mg	0.945±0.035	5.44
	Germinate for 3days	2mg	0.351±0.021	64.25
		0.2mg	0.841±0.029	15.74
Nampung giant embryo rice	Not-germination	2mg	0.595±0.037	40.09
		0.2mg	0.937±0.021	5.24
	Germinate for 3days	2mg	0.412±0.061	58.21
		0.2mg	0.915±0.032	8.41
Whachung giant embryonoc rice	Not-germination	2mg	0.744±0.050	25.34
		0.2mg	0.974±0.020	2.57
	Germinate for 3days	2mg	0.410±0.050	58.41
		0.2mg	0.893±0.015	10.59

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean \pm SE

한편 거대배아미 품종들은 일반 품종의 쌀에 비해서 에탄올 추출물의 전자공여능이 컸으며, 거대배아미 중에서는 남풍거대배아미 추출물의 전자공여능이 가장 컸고, 일반품종의 쌀에 비해서 2배 이상의 전자공여능을 나타내고 있었다. 이들 거대배아미 품종들은 본 연구와 동일한 조건에서 수행된 두류 중 검은콩, 쥐눈이콩, 팥 들(약 80% 정도)보다는 전자공여능이 낮지만 완두콩, 잡두, 나물콩 들(약 30%정도) 보다 전자공여 효과가 높았다. 그리고 이들 쌀을 3 일간 발아시키면 DPPH radical에 대한 전자공여 효과가 더욱 증가하고 있었으며, 그 증가 폭은 거대배아미 품종들 보다 오히려 일반미 품종의 경우 더 효과가 있었다. 거대배아미 품종 중에서 남풍거대배아미는 발아에 따른 전자공여효과가 그다지 증가하고 있지 않으나 화청거대배아미의 경우에는 발아에 따른 전자공여효과가 약 2배 이상으로서 발아에 따른 효과가 더욱 크게 나타나고 있었다.

2-2. 환원력 비교 : 항산화 성분들은 세포막지질이나 DNA의 손상에 의한 활성산소종 및 유리 기의 발생이나 작용을 차단하여 산화적 손상을 예방하는 것으로 알려져 있으며, 이렇게 활성산소 종이나 유리기에 전자를 공여하는 능력이 바로 환원력 이므로, 환원력을 측정하므로써 항산화 활성을 비교할 수 있겠다. 발효미 품종별 에탄올추출분획의 환원력은 모든 농도에서 일반미 품종보다는 발효미 품종들의 환원력이 높았으며, 홍국균쌀이 가장 높은 것을 알 수 있고, 상황버섯쌀 > 아가리쿠스쌀 > 동충하초 쌀의 순이었다 (그림2-1). 아세톤 추출분획의 경우에는 홍국균쌀의 환원력이 두드러지게 높았으며, 동충하초, 아가리쿠스, 상황버섯쌀 등의 순으로 환원력이 약간 높거나 같은 수준 이었다. 한편 거대배아미 품종 중에서도 indica 계통인 남풍 거대배아미와 japonica 계통인 화청 거대배아미 사이에서 발아에 따라 이렇게 환원력에 차이를 보이고 있음은, 항산화성에 기인하는 다양한 생리활성 효과가 기대되므로 이에 대한 보다 상세한 연구가 적극적으로 진행되어야 할 것 이라고 생각된다.



Extracts		Absorbance(700nm)	
		1.6mg/ml	3.3mg/ml
Normal rice	Not germination	0.753±0.0603	1.254±0.1034
	Germinate for 3days	0.308±0.0261	0.487±0.0593
Nampung giant embryo rice	Not germination	0.801±0.0604	1.338±0.1415
	Germinate for 3days	0.427±0.0202	0.757±0.0192
Whachung giant embryo rice	Not germination	0.284±0.0234	0.504±0.0217
	Germinate for 3days	0.837±0.1165	1.445±0.0751

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean± SE

그림2-1. 발효미 품종별 에탄올추출분획의 환원력

2-3. Linoleic acid 자동산화에 대한 지질과산화 억제효과 : Linoleic acid 자동산화 모델계를 이용하여 품종별 쌀 에탄올 추출물 시료 2 mg 및 0.1 mg에 대한 지질과산화물의 생성 억제효과를 측정하였다. 실험의 대조군으로서 합성 항산화제인 BHT를 사용하였다. *in vitro* 에서 지질 자동산화가 유발되는 것을 억제하는 효과는 일반품종의 쌀보다 거대배아미 품종들이 상당히 높았다. 그러나 발아에 의한

지질과산화 억제활성은 일반미 품종이 약 2배 정도의 상승하는데 비해서 거대배아미 품종은 상승효과가 거의 없었다.

표2-11. 지질 과산화물의 생성 억제효과

		Conc.	OD at 517nm	%
Control			1.074±0.292	0
BHT		1%	0.176±0.182	76.72
Normal rice	Not-germination	2mg	0.648±0.017	33.77
		0.1mg	1.099±0.092	19.21
	Germinate for 3days	2mg	0.088±0.006	84.91
		0.1mg	0.349±0.172	60.61
Nampung giant embryonoc rice	Not-germination	2mg	0.078±0.001	85.84
		0.1mg	0.610±0.385	36.31
	Germinate for 3days	2mg	0.071±0.025	86.49
		0.1mg	0.508±0.180	45.81
Hwachung giant embryonoc rice	Not-germination	2mg	0.135±0.028	80.54
		0.1mg	0.608±0.090	36.49
	Germinate for 3days	2mg	0.092±0.042	84.54
		0.1mg	0.218±0.166	72.81

Cultivars	Optical density (Abs. 517 nm)	%
Control		0
Vit.C		86.07
Normal rice	0.50±0.08	17.10
Fermented with Basidiomycota (Agaricus)	0.48±0.02	22.83
Fermented with Basidiomycota (Sangwhang)	0.22±0.03	69.21
Fermented with Basidiomycota (Tochukaso)	0.43±0.02	34.08
Fermented with Monascus ruber	0.66±0.03	84.60
Coated with soluble dietary fiber	0.47±0.02	28.10

Values obtained through triplicate experiments are expressed as mean± SE

한편 발효쌀의 경우에는 홍국균 쌀 > 상황버섯 쌀 > 동충하초쌀 > 식이섬유코팅 쌀 > 아가리쿠스 쌀 > 일반미 순으로 나타났다. 지질과산화 유도기간이 상황버섯 쌀은 10일, 홍국균 쌀은 14일 이상으로 BHT와 동등한 정도로 연장되었다. DPPH를 이용한 실험 결과와 마찬가지로, 다른 추출물에 비해 홍국균 쌀과 상황버섯 쌀은 매우 높은 항산화 활성을 나타내었다.

3) 특수미 식이에 의한 고지혈증 예방 및 치료효과

(1) 거대배아미

1-1. 동물의 성장상태 및 장기중량 : 5주간 실험식이를 급여한 흰쥐의 체중증가, 식이섭취량 및 식이효율은 표2-11와 같다. 체중증가량은 대조군에 비해서 발아거대배아미군 4.4% 체중이 감소하는 경향이 보였다. 하루 평균 식이섭취량은 대조군에 비해서 발아거대배아미군과 거대배아미군이 유의적인 차이를 나타냈다. 식이효율은 유의적인 차이는 없지만 대조군에 비해서 발아거대배아미군이 낮은 경향을 보였다. 식이섬유의 섭취는 분변부피를 증가시키고 질소화합물, 지질 및 탄수화물의 손실을 증가시켜 열량, 단백질 및 지질의 소화흡수율 저하를 유도하는데 이러한 효과는 혈청콜레스테롤농도가 저하에도 영향을 미칠 수 있다고 보고 되었다. 본 실험결과에서도 대조군에 비해서 발아거대배아미군과 거대배아미군에서 식이섭취량과 체중증가가 낮아지는 것으로 나타났으며 이것은 식이섬유소에 의해서 소화흡수율과 이용률이 저하됨을 제시하였고 이는 혈청콜레스테롤과 중성지질농도 저하에도 간접적인 영향을 미친것으로 사료된다.

표2-11. 5주간 실험식이를 급여한 흰쥐의 체중증가, 식이섭취량 및 식이효율

Group	Body weight			Food intake (g/day)	FER ²⁾
	Initial(g)	Final(g)	body weight gain (g/35day)		
Normal Control	97.60±1.55 ^{NS1)}	409.8±10.90 ^{NS}	312.3±10.31 ^{NS}	25.58±0.77 ^b	0.356±0.01 ^{NS}
Brown rice	94.49±3.39	403.8±8.30	309.4±7.98	26.41±0.72 ^b	0.355±0.01
Giant embryo	96.32±1.87	405.6±11.9	309.3±11.9	25.23±0.93 ^a _b	0.356±0.01
Germinated giant embryo	96.11±1.92	395.2±10.2	299.1±29.9	22.44±1.41 ^a	0.0353±0.01

Mean±SE(n=10), Values with different superscript in the same column are significantly different at p < 0.05. ¹⁾Not significant at α=0.05 by the Duncan multiple range test ²⁾Food efficiency ratio : weight gain divided by total feed intake during the experimental period.

체중 100 g당 간의 무게는 대조군에서 유의성 있게 높은 것은 콜레스테롤식이첨가에 의해 간의 비대해진 것이라고 추측되며 대조군에 비해서 발아거대배아미군이 22% 정도로 간의 비대가 억제되었으나 시험군간에 유의적인 차이는 없었다. 신장, 심장의 경우 대조군 대한 현미군 거대배아미군 및 발아거대배아미군이 유의적인 차이는 없다. 폐의 경우는 대조군에 비해서 현미군 거대배아미군 및 발아거대배아미군이 유의적으로 낮았다 (표1-12).

표2-12. Organs weight of the experimental rats (g/100g BW)

Group	Liver	Kidney	Heart	lung
Normal Control	4.59±0.272 ^b	0.80±0.024 ^b	0.38±0.013 ^{NS}	0.56±0.043 ^b
Brown rice	3.80±0.106 ^a	0.78±0.042 ^b	0.35±0.011	0.45±0.018 ^a
Giant embryo rice	3.55±0.091 ^a	0.75±0.228 ^{ab}	0.35±0.037	0.46±0.018 ^a
Germination giant embryo rice	3.57±0.075 ^a	0.71±0.024 ^a	0.35±0.048	0.45±0.013 ^a

Mean±SE(n=10), Values with different superscript in the same column are significantly different at p < 0.05.

1-2. 혈중의 지질농도 : 혈중중성지질, 총콜레스테롤, HDL-cholesterol의 농도 동맥경화지수는 Table 35과 같다. 혈중 중 중성지질농도는 식이의 지방량이나 대사 이상에 의한 고지혈증, 당뇨병, 지방간, 비만, 췌장염, 신장질환 및 갑상선기능저하증에서 증가하는 것으로 특히 심혈관계질환인 동맥경화, 고혈압, 심장병과 당뇨병 등의 진단지표로 사용되고 있는데 최근에는 고콜레스테롤혈증과 함께 고중성지질혈증 및 저 HDL-콜레스테롤혈증도 이들 질환의 주된 위험인자로 주목받게 되어 유럽과 미

국 등에서 새로운 임상지침이 설정되었다. 따라서 혈중 콜레스테롤 농도뿐만 아니라 전통적으로 고탄수화물 식사로 인해 당질성 중성지방농도를 감소시키기 위한 시도가 다방면에서 활발하게 전개되고 있으며 그 효과가 많이 보고되고 있다. 본 실험에서 혈중 중성지방농도는 대조군에 비해서 현미군 거대배아미군 발아거대배아미군으로 유의적인 차이는 없었다. 혈장의 총콜레스테롤 농도는 대조군과 시험군간에 유의적인 차이가 없었고 HDL-cholesterol수준은 대조군에 비해서 현미군 거대배아미군 발아거대배아미군이 각각 15%, 50%, 및 75%씩 유의적으로 높은 수준이었다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-cholesterol농도의 비율을 나타내 동맥경화의 위험척도를 나타내는 동맥경화지수는 대조군에 비해서 현미군, 거대배아미군 및 발아거대배아미군이 각각 6%, 43%, 및 57% 유의성 있게 낮은 값을 나타내었다 (표2-13).

표2-13. Effect of rice cultivars on serum levels of triglyceride, Total cholesterol,, HDL-cholesterol, and atherogenic index rats. (mg/dl)

Group	Total cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride	AI
Normal control	123.5±6.70 ^{NS}	19.27±0.86 ^a	66.55±6.36 ^{NS}	5.69±0.53 ^b
brown rice	119.9±5.20	22.10±1.45 ^a	64.70±2.70	5.33±0.76 ^b
Giant embryo rice	117.2±2.68	29.01±1.23 ^b	62.62±1.713	3.20±0.38 ^a
Germination giant embryo rice	113.1±10.05	33.69±1.93 ^c	62.87±5.147	2.41±0.32 ^a

Mean±SE(n=10), Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$. ¹⁾Not significant at $\alpha=0.05$ by the Duncan multiple range test

1-3. 변종의 중성스테롤 및 담즙산 함량 : 분변 중성스테롤 중 콜레스테롤 함량은 대조군에 비해서 발아거대배아미군이 유의성있게 증가하였고 coprostanol 함량은 대조군에 비해서 현미군, 거대배아미군, 발아거대배아미군이 높게 나타났으며 담즙산 배설기준은 대조군에 비해서 현미군, 거대배아미군, 발아거대배아미군이 각각 14%, 32% 41% 유의적으로 높게 나타났다 (표2-14). 담즙산 및 중성스테롤 배설의 증가는 간의 담즙산 합성을 촉진시키므로 간의 콜레스테롤이 감소되고 이는 간 세포막의 LDL-receptor를 활성화시켜 혈장콜레스테롤 농도를 감소시킨다.식이섬유는 소장에서 담즙산의 재순환을 저해하는데 이는 식이섬유가 장관에서 콜레스테롤 및 담즙산과 직접 결합함으로써 흡수가 억제되어 분변의 배설이 증가되는 것으로 알려져 있고, lignin과 cellulose등 겔을 형성하지 못하는 식이섬유소 뿐만 아니라 pectin guar gum 등과 같은 수용성 식이섬유소는 높은 점성으로 인해 지질 및 담즙산의 흡수가 저해가 증가된다고 한다. 본 실험에서도 대조군에 비해서 시험군에서 분변중

의 중성스테롤과 담즙산의 배설이 증가되는 것으로 나타났는데 이는 식이중 식이섬유소, 식물성 스테롤 등의 작용에 의하여 소장에서 콜레스테롤과 담즙산의 흡수가 저해된 결과로 추측된다.

표2-14. Effects of rice cultivates on fecal excretion of neutral steroids and total bile acid in rats

Group	Cholesterol (mg/g feaces)	Coprostanol (mg/g feaces)	Total bile acid (mg/g feaces)
Normal control	1.06±0.06 ^a	0.491±0.02 ^{NS}	41.84±1.14 ^a
Brown rice	1.27±0.05 ^{ab}	0.526±0.02	47.79±0.37 ^b
Giant embryo rice	1.42±0.28 ^{ab}	0.577±0.06	55.28±1.36 ^c
Germination giant embryo rice	1.77±0.27 ^b	0.622±0.02	59.15±0.90 ^d

1-4. 간조직 중의 지질함량 : 콜레스테롤 함량은 대조군에 비해서 시험군들이 유의적으로 감소하였고, 중성지질함량은 대조군이 유의적으로 높았다 (표2-15). 수용성섬유소를 섭취하였을 때 간장에 콜레스테롤함량은 저하된 반면에 oat bran의 섭취는 cellulose 섭취군에 비하여 간장내 콜레스테롤 농도가 유의하게 높은 것으로 나타나 섬유소의 종류에 따라 간장지질에 미치는 영향이 다른 것으로 보고되고 있다. 본 결과에서도 발아거대배아미, 거대배아미군에서 콜레스테롤과 중성지질을 저하시키며 동시에 간 기능을 보호하는 효과가 있는 것으로 추정된다.

표2-15. Levels of total-cholesterol and triglyceride in the liver of the rats fed experimental diets

Group	liver lipid (mg/0.5 g weight)	
	Total-cholesterol	Triglyceride
Normal control	55.00±0.652 ^d	37.41±0.193 ^b
Brown rice	50.16±0.385 ^c	36.83±0.094 ^a
Giant embryo rice	45.29±0.497 ^b	36.62±0.089 ^a
Germination giant embryo rice	42.43±0.495 ^a	36.66±0.097 ^a

1-5. 혈장중의 효소활성 : GOT활성은 대조군의 107 Karmen/unit/ml에 비해서

발아거대배아미균 74 Karmen/unit/ml로 유의성있게 GOT활성이 낮았다 (표2-16). 또한 GPT 활성은 대조군이 45 Karmen/unit/ml에 발아거대배아미균 32 Karmen/unit/ml로 GPT 활성이 유의성 있게 낮았다. GOT와 GPT 활성은 고지방식, 알콜 등으로 지방간이 유발되었을 때나 간 독성물질에 의해서 혈중효소활성도가 높아지게 되는데 고지혈증 식이에 식이섬유소를 첨가하였을 때 GOT와 GPT 활성이 저하되었고 수용성 식이섬유도 이 효소의 활성을 감소시킨다. 본 실험에서도 대조군에 비해서 발아거대배아미균이 GOT와 GPT 활성이 낮은 것은 식이섬유소의 지질 대사개선 효과뿐만 아니라 간 기능을 보호한다는 것을 추정할 수 있다.

표2-16. Activities of GOT and GPT in plasma of the rats fed the experimental diets

Group	GOT (Karmen/unit/ml)	GPT (Karmen/unit/ml)
Normal control	107.63±12.31 ^b	45.76±3.39 ^c
Brown rice	86.41±5.99 ^{ab}	41.84±1.82 ^{bc}
Giant embryo rice	83.51±4.59 ^c	38.37±1.31 ^{ab}
Germination giant embryo rice	74.28±6.68 ^a	32.50±1.61 ^a

1-6. 지질과산화물에 미치는 영향 : 지질과산화 정도의 지표로 TBA 반응물질을 MDA 당량으로 측정하는데 MDA는 지질과산화의 2차 분해산물로서 생체조직에서의 과산화적 손상의 생화학적인 지표로 사용되며 지질과산화물은 동맥경화증에서 혈관 변화를 가속화시켜 관상동맥질환에 기여하며 동시에 LDL을 변형시켜 동맥경화 병변에 기인한다고 알려져 있다. 혈장의 지질과산화물함량은 대조군에 발아거대배아미균이 유의성 있게 낮았으며 조직의 지질과산화물 함량도 심장을 제외하고는 전반적으로 대조군에 비해서 시험군들이 유의성 있게 낮았다 (표2-17).

표2-17. Levels of TBARS in plasma, liver, kidney and heart tissues

Group	Plasma (nmol/ml)	Liver	Kidney (nmol/g/tissues)	Heart	Lung
Normal control	77.9±19.6 ^b	65.4±1.80 ^d	99.7±2.34 ^c	60.5±6.98 ^{NS}	67.8±2.34 ^b
Brown rice	62.5±1.17 ^{ab}	56.5±2.00 ^c	76.6±1.71 ^b	54.7±6.65	44.7±1.71 ^a
Giant embryo rice	50.5±6.85 ^{ab}	51.9±1.35 ^b	47.9±1.70 ^a	48.4±3.11	42.1±1.70 ^a
Germination giant embryo rice	32.4±1.33 ^a	47.0±1.31 ^a	42.7±2.41 ^a	45.2±1.79	39.5±2.42 ^a

1-7. 간의 항산화 효소활성측정 : 간의 항산화 효소인 catalase는 거의 모든 호기성 생물에 존재하면서 H₂O₂를 H₂O로 무독화 시키는 효소로서 대조군이 1.95 μ mole/min/mg protein에 비해서 거대배아미군 112%, 발아거대배아미군 117%로 유의적으로 높았다 (표2-18). GPx는 주로 세포질과 미토콘드리아에 존재하며 환원상태에서 효소활성부위에 한 개의 셀레늄을 함유하는 항산화 효소로서 대조군이 0.18 nmole/min/mg protein에 비해서 거대배아미군 100%, 발아거대배아미군 388%로 유의적으로 높았다. SOD는 superoxide radical를 환원시켜 H₂O₂를 환원시키므로서 산소독으로부터 생체를 보호하는 효소로 대조군이 0.5 uint/mg protein에 비해서 거대배아미군 20%, 발아거대배아미군 44%로 유의적으로 활성이 높았다.

표2-18. Effect of rice cultivars on levels of antioxidative enzyme activities in liver

Group	Catalase (μ mole/min/mg protein)	Glutathione peroxidase (nmole/min/mg protein)	Superoxide dismantles (uint/mg protein)
Normal control	1.95 \pm 0.32 ^a	0.18 \pm 0.02 ^a	0.50 \pm 0.09 ^a
Brown rice	2.86 \pm 0.23 ^{ab}	0.25 \pm 0.04 ^a	0.44 \pm 0.08 ^{bc}
Giant embryoni9c rice	4.15 \pm 0.51 ^b	0.36 \pm 0.07 ^b	0.60 \pm 0.13 ^b
Germination giant embryo rice	4.23 \pm 0.86 ^b	0.88 \pm 0.17 ^c	0.72 \pm 0.25 ^b

(2) 버섯 발효쌀

2-1. 동물의 성장상태 및 장기중량 : 각 군 모두 실험식이에 잘 적응하였으며 실험 종료시 모두 양호한 상태였다. 실험식이를 5주동안 급여한 흰쥐의 일일 평균 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율은 표2-19에 나타난 바와 같이 쌀, 상황버섯 쌀, 홍국균 쌀의 첨가에 따른 각 군간의 유의적인 차이는 볼 수 없었다. 장기무게의 변화는 표2-20과 같다. 폐무게는 실험군간의 유의적 차이가 없었으며, 간과 심장의 무게는 대조군이 다른 실험군들에 비해서 높게 나타났고, 신장무게는 일반미군이 다른 군들에 비해 낮게 나타났으나 실험결과에 영향을 줄만큼 뚜렷한 차이는 아니었다. 따라서 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀의 보충이 고콜레스테롤 식이를 섭취한 흰쥐의 성장 발육에 미치는 영향은 없는 것으로 사료된다.

표2-19. Effects of functional rice powders on daily food intakes and body weight gains in rats fed high cholesterol diet¹

Groups	Feed intake	Body weight gain	FER
	(g/day)		%
Control	25.18 ± 0.64 ^{NS}	8.29 ± 0.24 ^{NS}	0.33 ^{NS}
Normal rice	27.05 ± 0.53	8.54 ± 0.25	0.32
SW-20	25.58 ± 0.80	8.44 ± 0.26	0.33
FWMR-20	25.96 ± 0.85	8.25 ± 0.28	0.32

¹Mean ± S.E. (n=10), ^{NS}Not significantly different among groups by Duncan's multiple range test at p<0.05 FER = Feed efficiency ratio = body weight gain / feed intake, SW-20 : Fermented with Basidiomycota (sangwhang) 20% FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%

표2-20. Effects of functional rice powders on organ weights in rats fed high cholesterol diet¹

Groups	Liver	Kidney	Heart	Lung
	g/100 g body weight			
Control	4.10 ± 0.11 ^b	0.76 ± 0.02 ^b	0.33 ± 0.01 ^b	0.47 ± 0.02 ^{NS}
Normal rice	3.80 ± 0.06 ^a	0.65 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.02
SW-20	3.81 ± 0.10 ^a	0.79 ± 0.03 ^b	0.25 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.03
FWMR-20	3.65 ± 0.10 ^a	0.77 ± 0.02 ^b	0.23 ± 0.01 ^a	0.46 ± 0.01

¹Mean ± S.E. (n=10), ^{ab}Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different among groups by Duncan's multiple test at p<0.05 ^{NS}Not significantly different among groups by Duncan's multiple range test at p<0.05 SW-20 : Fermented with Basidiomycota (sangwhang) 20%, FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%

2-2. 혈장 중의 지질 농도 변화 : 중성지방의 농도는 유의적인 차이는 없으나

홍국균 쌀 20% 첨가군이 가장 낮게 나타났으며, 총 콜레스테롤의 경우 홍국균 쌀 20% 첨가군이 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였다 (표2-21). HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 일반미군과 상황버섯 쌀 20% 첨가군은 증가하는 경향을 보였으며, 홍국균 쌀 20% 첨가군은 유의적으로 증가하였다. 모든 실험군에서 HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤 비율(HTR)이 대조군에 비해 높아짐으로써, 동맥경화 지수(A.I)는 낮게 나타났다. 본 실험결과 고콜레스테롤을 급여한 흰쥐에서 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀의 보충은 혈장 콜레스테롤, HDL-Cholesterol, HTR, A.I 수치에 긍정적인 변화를 유도하였고, 이러한 효과는 동맥경화와 같은 혈관계질환의 예방에 유효할 것으로 사료된다.

표2-21. Effects of functional rice powders on plasma lipid contents and atherogenic index in rats fed high cholesterol diet¹

Groups	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	HTR	A.I
	mg/dl			%	
Control	80.4±6.65 ^{NS}	122.9±7.39 ^b	15.9±1.38 ^a	13.2±1.17 ^a	7.10±0.88 ^a
Normal rice	83.9±5.46	118.6±3.14 ^{ab}	19.0±0.94 ^{ab}	16.1±0.73 ^{ab}	5.32±0.29 ^a
SW-20	80.5±3.93	112.7±2.08 ^{ab}	19.5±0.90 ^{ab}	17.4±0.91 ^b	4.87±0.30 ^a
FWMR-20	77.3±5.17	106.8±2.55 ^a	21.9±1.45 ^b	20.4±1.11 ^c	4.00±0.27 ^b

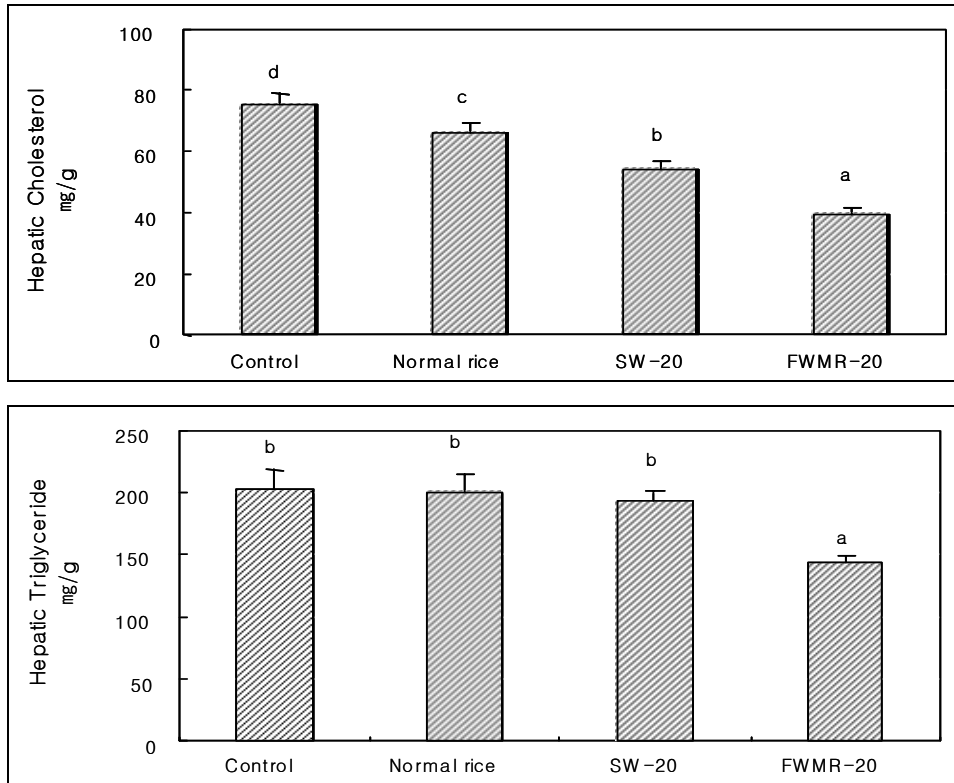
¹Mean ± S.E. (n=10), ^{ab}Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different among groups by Duncan's multiple test at p<0.05, ^{NS}Not significantly different among groups by Duncan's multiple range test at p<0.05. HTR = HDL-cholesterol / Total cholesterol

A.I(atherogenic index) = [(Total cholesterol)-(HDL-cholesterol)/(HDL-cholesterol)],

SW-20 : Fermented with Basidiomycota (sangwhang) 20% FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%

2-3. 간조직 중의 지질 농도 변화 : 간조직의 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 실험군이 유의적으로 감소하였으며, 일반미군 보다 상황버섯 쌀 20% 첨가군이 유의적으로 낮았으며, 상황버섯 쌀 20% 첨가군 보다 홍국균 쌀 20% 첨가군이 유의적으로 낮았다. 간조직 중성지방 농도는 홍국균 쌀 20% 첨가군에서는 유의적인

감소를 보였다 (그림2-2).



¹Mean \pm S.E. (n=10), ^{abcd}Means not sharing a common superscript are significantly different among groups by Duncan's multiple test at $p < 0.05$, SW-20 : Fermented with Basidiomycota 20%, FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%.

그림2-2. Effects of functional rice powders on hepatic lipids contents in rats fed high cholesterol diet¹

2-4. 간조직의 항산화 효소 활성화도 : 생체막이나 지단백질로서 존재하는 지질은 체내에서 발생하는 free radical의 공격을 받아 여러 종류의 과산화물을 형성하는데, 이 과산화물들과 분해산물들은 반응성이 높아 주변의 생체분자들의 구조와 기능을 변환시켜 여러 가지 만성질환을 초래하게 되는 것으로 알려지고 있다. Free radical 제거에 매우 중요한 역할을 하는 항산화 물질들로는 비타민 E, 비타민 A, 비타민 C,

glutathion 및 metallothionein(Sato 등, 1993) 등이 있으며 항산화 효소로는 CAT, GPx 및 SOD 등이 있다. SOD는 Superoxide radical을 환원시켜 H₂O₂로 전환시키며 이때 생성된 H₂O₂ 등은 GPx, CAT 등의 작용에 의해 H₂O로 전환되어 무독화됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호한다. 간조직의 항산화 효소 활성도는 Table 10과 같다. CAT 활성도는 일반미 군은 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였으며, 상황버섯 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군은 유의적으로 증가하였으며, 특히 상황버섯 쌀 20% 첨가군에서 높게 나타났다(표2-22). 반면 GPx 활성도는 실험군들이 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, SOD 활성도는 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 유의적으로 증가하였다. 본 실험결과 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀의 보충은 항산화 효소의 활성을 증가시켜 산화적 스트레스에 의한 조직의 손상을 완화시킬 수 있을 것이다.

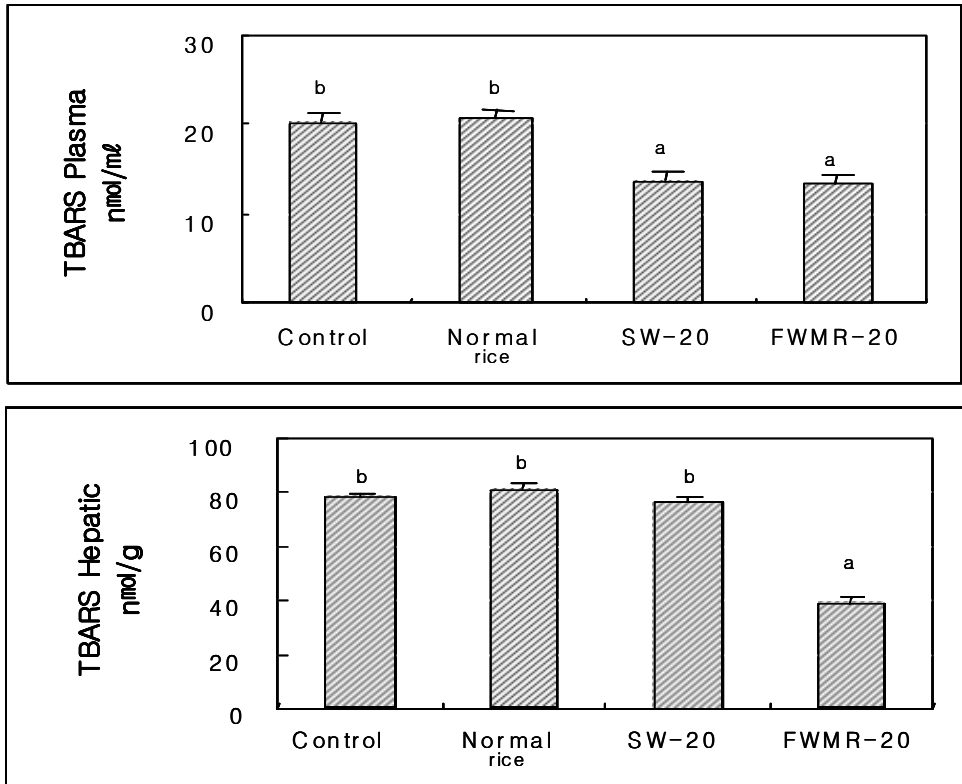
표2-22. Effects of functional rice powders on hepatic antioxidant enzyme activity in rats fed high cholesterol diet¹

Groups	CAT	GPx	SOD
	umol/min/mg protein	nmol/min/mg protein	unit/mg protein
Control	1.13 ± 0.03 ^a	15.81 ± 0.79 ^c	1.49 ± 0.05 ^a
Normal rice	1.22 ± 0.05 ^{ab}	13.69 ± 0.83 ^b	1.47 ± 0.06 ^a
SW-20	1.39 ± 0.06 ^{bc}	11.40 ± 0.62 ^a	1.58 ± 0.05 ^a
FWMR-20	1.27 ± 0.06 ^c	11.69 ± 0.56 ^{ab}	1.82 ± 0.07 ^b

¹Mean ± S.E. (n=10, ^{abc}Means in the same column not sharing a common superscript are significantly different among groups by Duncan's multiple test at p<0.05, SW-20 : Fermented with Basidiomycota (sangwhang) 20%, FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%, CAT : Catalase, GPx : Glutathione Peroxidase, SOD : Superoxidedismutase

2-5. 혈장 및 간조직의 과산화물 수준 : 지질과산화 정도의 지표로 TBA 반응물질을 malondialdehyde(MDA)당량으로 측정하였다. MDA는 지질과산화의 2차 분해산물로서 생체 조직에서의 과산화적 손상의 생화학적 지표로 사용된다. 지질 과산화물은 동맥경화증에서 혈관 변화를 가속화시켜 관상동맥 질환에 기여하며 동시에 LDL을 변형시켜 동맥경화 병변에 기여한다고 알려져 있다. 혈장 및 간조직의 과산화 생성물 수준은 <그림2-3>과 같다. 혈장의 과산화 생성물은 상황버섯 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 유의적으로 낮게 나타났으며, 일반미군에서는 비

슷한 수준이었다. 간조직의 과산화 생성물 수준은 일반미군, 상황버섯 쌀 20% 첨가군에서 대조군과 비슷한 수준을 보였고, 홍국균 쌀 20% 첨가군에서는 유의적으로 감소하였다.



¹Mean \pm S.E. (n=10), ^{ab}Means not sharing a common superscript are significantly different

among groups by Duncan's multiple test at $p < 0.05$, SW-20 : Fermented with Basidio-
mycota (sangwhang) 20% FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%

그림2-3. Effects of functional rice powders on plasma and hepatic TBARS levels

in rats fed high cholesterol diet¹.

2-6. **혈장 GOT 및 GPT 활성도 변화** : 일반적으로 GOT 및 GPT 활성도 증가는 만성 간염, 급성간염, 지방간, 알콜성 간염, 간암 등 간세포의 변성이나 괴사를 반영하며, 근육질환 및 심근경색 등의 등의 심혈관 질환에 의해서도 나타날 수 있다. 간 독성의 간접적 지표인 혈장 GOT 및 GPT 활성도는 일반미군, 상황벼쌀 쌀 20% 첨가군, 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 특히 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 GPT 활성도가 크게 감소하였다. 본 실험결과 상황벼쌀 쌀과 홍국균 쌀은 간독성에 대한 보호 효과를 가지는 것으로 사료된다.

2-7. **Fecal sterol 함량 변화** : 소장에서 흡수되지 않은 콜레스테롤은 그대로 혹은 장내세균에 의해 변화되어, 최종적으로 분변으로 배설된다. 이것은 담즙산(산성스테로이드)과 구별하여 중성 스테로이드(neutral steroid)라고 부른다. 대변 중의 주요 중성 스테로이드는 콜레스테롤, 세균에 의한 변화물인 coprostanol 및 coprostanone이다. 일일 분변 배설량은 실험군간의 차이가 없었다 (표2-23). 중성 지방의 변배설량은 상황벼쌀 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 유의적으로 높게 나타났으며, 반면 일반미군에서는 대조군에 비해 유의적인 차이는 없었으나 감소하는 경향을 보였다. 산성스테롤인 bile acid 함량 또한 상황벼쌀 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 유의적으로 증가하였으며, 특히 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 높게 나타났다. 총 분변 스테롤의 함량도 상황벼쌀 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군 모두에서 유의적으로 증가시키는 것으로 나타났다.

표2-23. Effects of functional rice powders on excretion of fecal acidic and neutral sterols in rats fed high cholesterol diet¹

Groups	Bile acid	Coprostanol	Cholesterol +	Neutral	Total Fecal
			Coprostanone	Sterol	Sterol
mg/day					
Control	17.6±0.42 ^a	5.92±0.37 ^a	128.7±1.89 ^{ab}	134.6±1.92 ^a	152.2±1.90 ^a
Normal rice	17.2±0.32 ^a	10.2±1.10 ^b	122.2±2.40 ^a	132.4±2.77 ^a	149.6±2.79 ^a
SW-20	21.4±0.76 ^b	17.0±0.55 ^c	131.6±3.13 ^b	148.6±3.00 ^b	170.0±3.30 ^b
FWMR-20	34.8±0.87 ^c	17.1±1.05 ^c	133.9±2.51 ^b	151.0±2.93 ^b	185.8±2.96 ^c

¹Mean ± S.E. (n=10), ^{abc} Means in the same column not sharing a common superscript

are significantly different among groups by Duncan's multiple test at $p < 0.05$, SW-20 : Fermented with Basidiomycota (sangwhang) 20%, FWMR-20 : Fermented with Monascus ruber 20%

3) 특수미(거대배아미 및 발아거대배아미) 식이에 의한 당뇨억제 효과

3-1. 실험동물의 성장상태 : 당뇨유발 6주 동안 실험동물의 체중변화, 식이섭취량과 식이효율은 표와 같다. 체중변화는 streptozotocin을 투여한 후 일반미의 정상대조군은 215g 거대배아미의 정상군은 157g의 체중증가를 보인 반면에 실험군인 당뇨대조군은 -33g의 체중감소를 보였고 당뇨백미군은 7g, 당뇨현미군은 23g, 당뇨거대배아미군은 30g, 당뇨발아거대배아미군은 32g의 체중증가를 나타내었다. streptozotocin을 투여하여 당뇨를 유발시킨 당뇨시험군은 정상대조군들에 비해 체중 증가가 적었으며 당뇨대조군에서는 -33g의 체중 감소현상이 나타났다. 이것은 당뇨병 상태에서 세포의 포도당 이용이 현저하게 저하되어 나타난 현상으로 보인다. 당뇨유발 후 백미, 현미, 거대배아미, 발아거대배아미를 식이로 섭취한 시험군들에서는 당뇨대조군에 비해 체중증가가 발생되었으며 백미 현미를 식이로 섭취시킨 군들에 비해 거대배아미나 발아거대배아미를 섭취시킨 군들이 체중증가가 높게 나타났으며 식이섭취량의 함량이 높은 식이를 섭취시킨 군일수록 체중증가가 높게 나타나 식이섭취소가 당뇨시험군에서는 체중손실을 방지하는 효과와 당뇨병증세의 호전효과가 있는 것으로 추정된다 (표2-24). 정상군들의 경우 일반미의 정상군에 비해 거대배아미의 정상군이 26.8%의 체중감소가 나타났으며 이것은 식이섭취소의 포만감으로 인한 체중감소로 보인다. 당뇨유발 후 식이섭취량은 정상군에 비해 당뇨시험군이 높게 나타나지만 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 이것은 당뇨증상인 다식(polyphagia)현상으로 보인다. 식이효율은 정상군들과 당뇨대조군에서 유의적인 차이를 보였다. 정상군에 비해 당뇨대조군의 식이섭취량이 많음에도 불구하고 계속적인 체중감소가 나타난 것은 당뇨에 의한 체내 대사의 퇴행적인 변화로 그 결과 식이효율이 감소된 것으로 보이며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군과 당뇨발아거대배아미군에서 식이효율이 높게 나타났다.

표2-24. Body weight change, food intake and feed efficiency ratio of the experimental rats

Group	Initial body weight(g)	Final body weight(g)	Body weight gain(g/42day)	Food intake (g/day)	FER ²⁾	Survival rate(%)
NC ³⁾	289.9±9.9 ^{NS1)}	504.3±34.81 ^e	215.6±30.14 ^e	25.59±5.99 ^a	0.194±0.01 ^f	100
NGER ⁴⁾	288.1±6.08	446.0±14.50 ^d	157.9±17.76 ^c	28.97±3.63 ^b	0.130±0.01 ^e	100
DC ⁵⁾	288.8±14.35	229.3±25.52 ^a	-33.0±21.99 ^a	33.83±3.01 ^{cd}	-2.4±0.00 ^a	60
Diabetic R ⁶⁾	292.4±14.43	299.6±14.0 ^b	7.19±9.44 ^b	32.19±5.84 ^c	0.005±0.00 ^b	53
Diabetic BR ⁷⁾	281.2±18.17	306.4±22.41 ^c	23.52±13.39 ^c	32.88±3.01 ^{cd}	0.017±0.01 ^c	73
Diabetic GER ⁸⁾	282.4±13.51	313.9±14.57 ^{bc}	30.68±11.55 ^c	34.10±1.76 ^d	0.021±0.00 ^d	86
Diabetic GGER ⁹⁾	280.2±29.35	313.0±21.06 ^{bc}	32.72±23.93 ^c	34.08±1.94 ^d	0.024±0.00 ^d	86

Mean±SE, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$. ¹⁾Not significant at $\alpha=0.05$ by the Duncans multiple range test, ²⁾Food efficiency ratio : weight gain divided by total feed intake during the experimental period., ³⁾Normal control ⁴⁾Normal germinated rice ⁵⁾Diabetic control ⁶⁾Rice ⁷⁾brown rice ,⁸⁾giant embryo rice ⁹⁾germination giant embryo rice

3-2. 장 기능에 미치는 영향 : 표2-25에서와 같이 장 통과 시간은 평균 17시간에서 8시간으로 정상군의 경우 정상군 17시간, 거대배아미 정상군이 14시간으로 3시간이 단축되었다. 당뇨시험군에서는 당뇨대조군의 장 통과 시간이 16시간에 비해서 당뇨백미군은 12시간, 당뇨현미군은 10시간, 당뇨거대배아미는 9시간, 당뇨발아 거대배아미는 8시간으로 단축이 되었다. 정상군의 경우도 일반미의 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 3시간의 단축되었으며 당뇨시험군에서도 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미가 7시간, 당뇨발아거대배아미가 9시간이나 단축된 것은 식이섭유소에 의해서 장통과 시간이 단축된다는 것을 추측할 수 있다. 장 길이중 소장의 길이는 정상군들의 경우 유의적인 차이는 없지만 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미는 17.2% 소장의 길이가 유의적으로 길었다. 대장의 경우 평균 15-17cm로서 각 시험군들간에 유의적 차이는 없었으나 당뇨발아거대배아미가 당뇨대조군에 비해서 4.3% 대장의 길이가 유의적으로 길었다.

표2-25. 식이가 장기능에 미치는 영향

Group(n)*	Gastrointestinal transit time(hr)	Small intestine length(cm)	Large intestine length(cm)
NC ¹⁾ (10)	17.40±0.96 ^g	108.8±10.18 ^a	15.83±0.98 ^{ab}
NGER ²⁾ (10)	14.40±2.21 ^f	117.1±11.10 ^{ab}	15.83±1.59 ^{ab}
DC ³⁾ (9)	16.25±0.86 ^e	115.5±7.51 ^{ab}	16.67±2.29 ^{ab}
Diabetic R ⁴⁾ (8)	12.0±1.51 ^d	118.1±14.85 ^{abc}	14.84±4.06 ^a
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	10.30±1.56 ^c	120.2±11.67 ^{bc}	15.63±2.70 ^{ab}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	9.08±1.50 ^b	127.0±5.46 ^{cd}	15.72±1.77 ^{ab}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	8.42±0.79 ^a	135.4±7.70 ^d	17.4±2.22 ^b

분변배설량, 분변중의 고형물량과 수분함량, 분변중의 조지방함량은 표2-26 과 같다. 분변 중의 총량은 정상군과 당뇨대조군, 당뇨시험군들 간의 유의적인 차이가 나타났다. 정상군에 비해서 거대배아미 정상군이 84% 유의성 있게 높았으며, 당뇨대조군은 정상군, 거대배아미 정상군에 비해 각각 180.9%, 52.6% 유의적으로 높게 나타났다. 당뇨시험군에서는 당뇨대조군에 비해 당뇨거대배아미가 21%, 당뇨발아거대배아미가 48.7% 무게가 유의적으로 증가하였다. 분변중의 고형물량은 정상군들의 경우 유의적인 차이가 나타나는데 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 82% 유의성 있게 높았으며 특히 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미가 10%, 당뇨발아거대배아미가 22% 무게가 유의적으로 증가하였다. 분변 중의 수분함량은 모든 당뇨군들이 정상군들에 비해 많은 경향을 나타냈다. 그리고 장 통과 시간과 분변 고형물의 양에는 역의 상관관계로 나타났다. 식이섬유소의 함량이 높은 쌀 품종인 발아거대배아미와 거대배아미는 장 통과 시간이 짧으며 분변 고형물의 양을 유의적으로 증가시켰으며 변의 수분보유량도 정상군들에 비해 당뇨실험군의 높았으며 당뇨시험군들중 당뇨발아거대배아미군과 당뇨거대배아미군 당뇨현미군이 전반적으로 높은 것은 식이섬유 자체의 수분흡수성이외에도 당뇨 쥐들의 수분섭취량이 정상군에 비해서 높은 것과 관계가 있다고 생각이 된다. 조지방 1일 배설량은 정상군의 경우 유의적인 차이가 있었는데 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 124% 조지방 함량이 유의성 있게 높았으며 당뇨대조군에 비해 당뇨현미군은 129%, 당뇨거대배아미는 141%, 당뇨발아거대배아미는 152% 조지방 함량으로 유의적으로 높게 나타났다. 이는 수용성식이 섬유들에 대해 보고되고 있는 혈중 지질강하작용의 원인이 되는 것으로 보인다.

표2-26. Effects of rice cultivars on total fecal weight, total fecal dry weight,

fecal water content, fecal crude fat excretion in normal and diabetic rat

Group(n)*	Total fecal wt(g/day)	Total fecal dry wt(g/day)	Fecal water content(%)	Fecal crude fat excretion(mg/day)
NC ¹⁾ (10)	0.35±0.11 ^a	0.25±0.09 ^a	25.98±11.3 ^a	25.38±0.53 ^a
NGER ²⁾ (10)	0.64±0.10 ^b	0.47±0.08 ^b	26.54±10.9 ^a	57.75±3.73 ^{bc}
DC ³⁾ (9)	0.98±0.14 ^d	0.67±0.11 ^c	30.68±12.4 ^{ab}	24.26±0.74 ^a
Diabetic R ⁴⁾ (8)	0.78±0.21 ^c	0.53±0.14 ^b	30.90±6.17 ^{ab}	22.60±1.78 ^a
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	1.01±0.21 ^d	0.69±0.15 ^c	30.11±16.3 ^{db}	55.66±1.05 ^b
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	1.19±0.16 ^e	0.74±0.13 ^c	37.23±9.45 ^{bc}	58.63±0.23 ^{bc}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	1.46±0.21 ^f	0.82±0.08 ^d	42.65±8.59 ^c	61.25±0.28 ^c

Mean±SE. * number of animals, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$., ¹⁾Normal control ²⁾Normal giant embryo rice ³⁾Diabetic control ⁴⁾Rice ⁵⁾brown rice, ⁶⁾giant embryo rice ⁷⁾germination giant embryo rice

3-3. 당뇨병에 미치는 영향 : 실험식이 5주째에 측정된 실험동물의 수분섭취량은 정상군들의 경우 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 정상군들에 비해 당뇨대조군이 수분 섭취량증가가 나타났다 (표2-27). 당뇨시험군 내에서는 당뇨대조군에 비해 당뇨거대배아미군 당뇨발아거대배아미군이 수분섭취량이 감소하였다. 뇨 배설량은 정상군들의 경우 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 정상군들에 비해 당뇨대조군이 유의적으로 높게 나타났으며 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군 당뇨발아거대배아미군이 감소하였다. 35일 경과 후 혈당은 당뇨대조군은 정상군들에 비해서 높게 나타났으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨현미군, 당뇨거대배아미군, 당뇨발아거대배아미는 혈당이 감소하였다. 본 실험결과 당뇨 쥐가 정상 쥐에 비해서 수분섭취량, 소변배설량, 혈당이 유의적으로 높게 나타났다. 당뇨병의 주요증세가 다갈(polydipsia), 다뇨(polyuria), 다식(polyphagia), 고혈당일 때 pectine 등을 급여하였을 때 어느 정도 당뇨병 증세호전효과가 있음을 나타내어 거대배아미와 발아거대배아미를 급여한 군에서 당뇨병 증세호전효과가 있음을 알 수 있다.

표2-27. Water intake, urine volume and blood glucose in normal and diabetic rat >

Group(n)*	water intake (g/day)	urine volume (ml/day)	Blood glucose (mg/dl)
NC ¹⁾ (10)	28.54±6.065 ^a	11.61±2.290 ^a	151.33±8.38 ^a
NGER ²⁾ (10)	37.69±10.79 ^a	15.58±1.795 ^a	146.4±9.46 ^{ab}
DC ³⁾ (9)	208.4±29.37 ^e	180.6±10.08 ^d	295.9±127.9 ^b
Diabetic R ⁴⁾ (8)	194.4±28.41 ^{cd}	170.76±23.29 ^c	250.5±188.8 ^{ab}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	200.8±26.21 ^{de}	162.9±23.19 ^c	235.3±190.3 ^{ab}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	184.5±20.13 ^{bc}	147.9±21.42 ^b	236.6±1133.2 ^{ab}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	179.0±27.15 ^b	146.10±35.87 ^b	231.2±104.4 ^{ab}

Mean±SE * number of animals, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$., ¹⁾Normal control ²⁾Normal giant embryo rice ³⁾Diabetic control ⁴⁾Rice ⁵⁾brown rice

⁶⁾giant embryo rice ⁷⁾germination giant embryo rice

3-4. 당질대사에 미치는 영향 : 당뇨쥐의 내당능(glucose tolerance)에 미치는 경구 당부하검사에 의해 관찰된 결과, 공복시 혈당은 정상군들중 일반미의 정상군은 128mg/dl, 거대배아미정상군은 127mg/dl 비해서 당뇨시험군들은 428-323mg/dl에 이르는 고혈당치를 보였다 (표2-28). 당뇨유발대조군과 당뇨백미군은 높은 혈당치를 보인 반면에 당뇨거대배아미와 당뇨발아거대배아미의 공복시 혈당은 낮았다. 포도당 섭취 후 30분에는 모든 당뇨시험군들이 정상군에 비해서 높은 혈당수준을 보였으며 당뇨거대배아미, 당뇨발아거대배아미, 당뇨현미가 당뇨대조군에 비해서 낮은 혈당수준을 나타내었다. 60분 후에는 모든 군의 혈당 수준이 감소하기 시작하였고 120분 후에는 정상대조군에 비해 당뇨대조군이 여전히 유의적으로 높은 수준이었고 당뇨시험군에서는 당뇨거대배아미, 당뇨발아거대배아미가 낮은 수준이었고 180분에는 당뇨대조군, 당뇨백미에 비해서 당뇨발아거대배아미, 당뇨거대배아미, 당뇨현미가 유의적으로 낮은 수준을 보였다. OGTT의 결과에서 당뇨발아거대배아미, 당뇨거대배아미, 당뇨현미의 급여가 당뇨동물의 공복시 혈당 수준을 유의적으로 낮추는데 효과가 있음을 알 수 있다.

표2-28. Oral glucose tolerance test in normal and diabetic rats (mg/dl)

Group(n)*	Fasting	30min	60min	120min	180min
NC ¹⁾ (10)	128.8±12.2 ^{aA}	155.3±11.31 ^{aB}	170.3±9.18 ^{aC}	146.0±9.39 ^{aB}	141.7±14.06 ^{aB}
NGER ²⁾ (10)	127.4±11.6 ^{aA}	160.7±24.94 ^{aC} _D	172.7±23.73 ^{aD}	150.4±16.29 ^{aB} _C	136.2±12.43 ^{aBC}
DC ³⁾ (9)	428.1±5.7 ^{dB}	486.9±46.82 ^{dB}	437.6±72.69 ^{dB}	382.6±70.61 ^{aA}	367.8±6.24 ^{aA}
Diabetic R ⁴⁾ (8)	366.9±86.6 ^{cAB}	424.5±69.27 ^{cB}	339.5±90.73 ^{bA}	311.5±61.97 ^{bA}	299.0±72.51 ^{bA}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	339.3±32.2 ^{cAB}	377.3±48.70 ^{bB}	349.7±80.56 ^{bA} _B	321.3±75.11 ^{bA} _B	291.2±58.67 ^{bAB}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	289.3±83.3 ^{bA}	343.0±58.51 ^{bA}	295.0±57.10 ^{bA}	299.2±94.98 ^{bA}	270.9±84.49 ^{bA}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	323.0±45.5 ^{bcAB}	367.2±51.56 ^{bB}	322.7±26.98 ^{bA} _B	317.0±56.42 ^{bA} _B	263.1±77.84 ^{bAA} _B

Mean±SE * number of animals, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$, ¹⁾Normal control ²⁾Normal giant embryo rice ³⁾Diabetic control ⁴⁾Rice ⁵⁾brown rice, ⁶⁾giant embryo rice ⁷⁾germination giant embryo rice

3-5. 소장점막의 이당류 분해효소 활성 : 소장내의 당의 흡수와 혈당상승과의 관계에 발아거대배아미와 거대배아미가 미치는 효과를 알아보려고 소장 용모막의 lactose, maltose, sucrose의 활성도를 관찰해본 결과, lactase활성은 정상군들의 경우 유의적인 차이가 없으며 당뇨대조군은 정상군들에 비해 534.9% 거대배아미정상군 비해서 203.2% 유의성 있게 증가하였다 (표2-29). 당뇨시험군에서는 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군, 당뇨발아거대배아미군이 감소되었다. Maltase활성은 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 당뇨대조군은 정상군에 비해 124.4%, 거대배아미 정상군에 비해 118.3% 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨현미군 당뇨거대배아미군 당뇨발아거대배아미군이 감소되었다. Sucrase활성은 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 당뇨유발대조군은 정상군에 비해 116%, 거대배아미 정상군에 비해 117.5% 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군 비해서 당뇨현미군과 당뇨발아거대배아미군이 감소되었다. 이와 같이 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 lactase, maltase, sucrase활성이 현저하게 증가되었지만 당뇨대조군에 비해 당뇨현미군, 당뇨거대배아미군, 당뇨발아거대배아미군에서 활성의 감소가 나타났으며, 이 결과 발아거대배아미 거대배아미 현미 등이 소장점막부분의 lactase, maltase, sucrase의 활성을 저해시킴으로서 혈당상승을 억제시키는 것으로 추측된다.

표2-29. Effect of rice cultivars on lactose, maltose and sucrose activities of small intestine in normal and diabetic rats

Group(n)*	Lactose (unit/g protein)	Maltose (unit/g protein)	Sucrose (unit/g protein)
NC ¹⁾ (10)	13.75±0.66 ^a	171.6±6.90 ^a	136.2±3.35 ^a
NGER ²⁾ (10)	28.79±42.19 ^{ab}	176.5±22.68 ^a	135.2±20.03 ^a
DC ³⁾ (9)	87.30±22.19 ^c	385.3±77.81 ^b	294.2±90.83 ^b
Diabetic R ⁴⁾ (8)	42.86±3.26 ^b	323.4±55.27 ^b	228.0±29.29 ^{ab}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	26.96±3.91 ^{ab}	181.5±22.48 ^a	195.7±36.72 ^{ab}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	23.25±2.77 ^{ab}	193.6±10.51 ^a	206.8±14.23 ^{ab}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	19.04±1.70 ^{ab}	155.9±56.71 ^a	198.3±15.96 ^{ab}

Mean±SE * number of animals, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$, ¹⁾Normal control ²⁾Normal giant embryo rice ³⁾Diabetic control ⁴⁾Rice ⁵⁾brown rice ⁶⁾giant embryo rice ⁷⁾germination giant embryo rice

3-6. 혈중지질농도 : 동맥경화는 당뇨병환자에 있어서 가장 흔한 합병증이다. 당뇨병에서 가장 빈번하게 관찰되는 지질대사이상은 혈중중성지방과 콜레스테롤의 증가, HDL-콜레스테롤의 감소 및 LDL-콜레스테롤의 조직으로의 이동속도의 감소를 들 수 있으며 이와 같은 지질대사의 이상으로 인해 당뇨병환자에 있어서 혈관계합병 질환의 발병율은 정상인에 비해서 2-5배 높게 나타난다. 이들 질환은 당뇨로 인한 사망의 70-80%를 차지한다고 한다. 정상군들 및 당뇨 쥐의 혈액내 중성지방은 정상군과 거대배아미정상군이 유의적인 차이는 없었고 당뇨대조군이 정상군들에 비해서는 유의적으로 증가되었고 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에(124.43 mg/dl) 비해서 당뇨발아거대배아미군(86.34 mg/dl) 유의적으로 감소되었다 (표2-30). 이러한 결과는 당뇨대조군에서 중성지방이 현저히 증가되는 것은 당 대사이상으로 acetyl COA가 축적이 되고 지방합성이 증가되어 혈액 중에 총 지질과 중성지방이 증가한다는 보고 등과 일치하나 당뇨거대배아미군, 당뇨발아거대배아미군에서 혈청지질이 유의적으로 낮아진 것은 식이섬유소에 의해서 중성지방이 감소되어진 것으로 보인다. 혈중 콜레스테롤함량은 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 12.4% 유의적으로 감소되었

고 당뇨대조군이 거대배아미정상군에 비해서는 25.1% 유의적으로 증가하였다. 당뇨 시험군간에는 당뇨대조군(112.3 mg/dl)에비해서 당뇨현미군(95.58 mg/dl), 당뇨거대 배아미군(87.45 mg/dl), 당뇨발아거대배아미군(90.47 mg/dl)이 유의적으로 감소하였다. 당뇨대조군에서 혈중 총콜레스테롤증가는 VLDL의 합성과, VLDL의 대사산물인 LDL의 생성증가가 혈중 콜레스테롤 높이는 원인중의 하나로 보고있다. 혈중 HDL-콜레스테롤은 정상군의 경우 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 15.8% 유의적으로 증가되었고 당뇨대조군이 거대배아미정상군에 비해서는 16.5% 유의적으로 감소하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미군은 23%유의적으로 증가하였다. 동맥경화발병의 지표인 동맥경화지수는 정상군의 경우 정상군에 비해서 거대배아미정상군이 34.5% 유의적으로 감소되었고 당뇨대조군이 일반미 정상군에 비해서 32.5% 유의적으로 증가하였고 정상군에 비해서는 91% 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨현미군은 34%, 당뇨거대배아미군은 48.8%, 당뇨발아거대배아미군은 53.2% 유의적으로 감소하였다. 당뇨유발에서 증가되어진 동맥경화지수가 발아거대배아미, 거대배아미를 급여함으로서 감소되는 것은 중성지방의 감소와 HDL-콜레스테롤의 증가의 결과로 본다. 본 실험결과 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미군과 당뇨거대배아미군이 혈중중성지방과 총콜레스테롤수준이 낮은 수치를 나타내는 것은 식이섬유소들이 당뇨병상태에서 지질대사 개선에 효과가 있다고 추측이 된다.

표2-30. Effect of rice cultivars on serum levels of triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol and atherogenic index in noamal and diabetic rats. (mg/dl) >

Group(n)*	Triglyceride	Total cholesterol	HDL-cholesterol	AI
NC ¹⁾ (10)	108.8±3.50 ^c	102.5±3.59 ^{bc}	44.62±0.46 ^a	1.20±0.09 ^{bc}
NGER ²⁾ (10)	99.31±5.21 ^{bc}	89.74±6.34 ^a	51.67±0.39 ^{bc}	0.78±0.12 ^a
DC ³⁾ (9)	124.4±3.35 ^d	112.3±2.68 ^c	43.13±0.41 ^a	1.59±0.07 ^d
Diabetic R ⁴⁾ (8)	105.1±2.77 ^c	103.2±5.77 ^{bc}	43.39±2.87 ^a	1.47±0.14 ^d
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	100.1±9.36 ^{ab}	95.58±5.21 ^{ab}	45.12±0.49 ^a	1.04±0.12 ^{bc}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	91.36±1.36 ^{ab}	87.45±2.20 ^a	47.81±0.32 ^{ab}	0.81±0.04 ^a
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	86.34±2.99 ^a	90.47±16.35 ^a	53.06±2.29 ^c	0.74±0.05 ^a

Mean±SE * number of animals, Values with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$. ¹⁾Normal control ²⁾Normal giant embryo rice ³⁾Diabetic control ⁴⁾Rice ⁵⁾brown rice ⁶⁾giant embryo rice ⁷⁾germination giant embryo rice

3-7. 분변 중성스테로이드 및 담즙산배설에 미치는 영향 : 하루에 배설되는 콜레스테롤의 경우 유의적인 차이가 나타났는데 정상군에 비해서 거대배아미 정상군이 84%로 유의적으로 증가하였으며 정상군과 거대배아미 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 각각 180.9%, 52.6%로 유의적으로 증가하였으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군 21.5%, 당뇨발아거대배아미군 48.6%로 유의적으로 증가하였다 (표2-31). 하루에 변으로 배설되는 coprostanol 경우도 유의적인 차이가 나타났는데 정상군에 비해서 거대배아미 정상군이 82.2%로 유의적으로 증가하였으며 당뇨대조군이 일반미와 거대배아미 정상군들에 비해서 각각 161%, 43.2%로 유의적으로 증가하였으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨현미군 2.5%, 당뇨유발거대배아미군 10.6%, 당뇨유발발아거대배아미군 22.3%로 유의적으로 증가하였다. 하루에 변으로 배설되는 담즙산의 경우 정상군들의 경우 유의적인 차이가 없었으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미군 39%로 유의성 있게 증가하였다. 담즙산은 콜레스테롤로부터 합성되는 물질로서 변의 담즙산 함량과 대장암의 발생기전에는 상관관계가 있으며 이에 담즙산은 결장암의 촉진인자로 담즙산이 많이 배설이 되면 대장암의 위험도 낮춘다고 할 수 있다. 따라서 본 실험

결과를 보면 발아거대배아미나 거대배아미에 수용성 식이섬유소가 담즙산과 직접 결합하여 이들의 배설을 증가시킴으로서 담즙산과 중성스테로이드의 체내 콜레스테롤 전환을 촉진시켜 혈장의 콜레스테롤을 저하시키는데 효과적인 것으로 생각이 든다.

표2-31. Effects of rice cultivars on fecal excretion of neutral steroids and bile acids in normal and diabetic rat >

Group(n)*	Cholesterol (mg/g faeces)	Coprostanol (mg/g faeces)	Total bile acid (mg/g faeces)
NC ¹⁾ (10)	0.351±0.11 ^a	0.259±0.09 ^a	25.98±11.39 ^a
NGER ²⁾ (10)	0.646±0.10 ^b	0.472±0.08 ^b	26.54±10.98 ^a
DC ³⁾ (9)	0.986±0.14 ^d	0.676±0.11 ^c	30.68±12.48 ^{ab}
Diabetic R ⁴⁾ (8)	0.782±0.21 ^c	0.535±0.14 ^b	30.90±6.17 ^{ab}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	1.014±0.21 ^d	0.693±0.15 ^c	30.11±16.35 ^{db}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	1.198±0.16 ^e	0.748±0.13 ^c	37.23±9.45 ^{bc}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	1.466±0.21 ^f	0.827±0.08 ^d	42.65±8.59 ^c

3-8. 간 조직 중의 중성지방 및 콜레스테롤 함량 : 간 조직의 중성지방 및 콜레스테롤함량을 측정결과는 표2-32와 같다. 간 조직의 중성지방은 정상군의 경우 유의적인 차이는 없었으며 당뇨대조군(20.30 mg/g)은 정상군들에 비해서 유의적으로 감소하였고 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해 당뇨발아거대배아미군이(35.13 mg/g) 증가되었다. 총콜레스테롤함량은 정상군의 경우 유의적인 차이가 없었으며 당뇨대조군은 정상군, 거대배아미정상군에 비해서는 각각 23.3% 28.5% 유의적으로 증가되었다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군, 당뇨발아거대배아미군이 각각 37.1%, 37.3%, 유의적으로 감소되었다. 당뇨대조군의 간 조직에서 콜레스테롤 수치가 증가되는 것은 Lim, Kim,(1994) Choi(1991)의 보고에서처럼 STZ투여로 인한 인슐린 분비가 저하되면서 정상적인 당대사가 원활히 일어나지 않아 acetyl-CoA 축적으로 인한 지방합성이 증가하여 간장내 지질이 축적되고 심한 변성이 일어나는 것으로 알려져 있다.

표2-32. Effects of rice cultivars on hepatic triglyceride and cholesterol normal and diabetic rats

Group(n)*	Triglyceride	Cholesterol
NC ¹⁾ (10)	34.72±4.46 ^{bc}	13.74±1.88 ^a
NGER ²⁾ (10)	39.65±4.21 ^{bc}	13.39±1.16 ^a
DC ³⁾ (9)	20.30±2.80 ^a	21.83±2.24 ^b
Diabetic R ⁴⁾ (8)	26.41±2.71 ^{ab}	17.70±2.65 ^{ab}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	27.41±12.23 ^{ab}	16.98±1.87 ^{ab}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	31.99±11.23 ^{bc}	14.25±1.79 ^a
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	35.13±1.72 ^{bc}	13.68±1.84 ^a

3-9. 간 조직 손상에 관한 분석 : GOT 및 GPT 활성도 측정은 간과 심장세포에 만 존재하는 효소로서 간 조직이 손상이 되면 혈중으로 방출되는 대표적인 간 기능 검사로 이용되므로 혈장에서 GOT 및 GPT 효소의 역가가 높으면 간 손상이 크다는 것을 알 수 있다. 간 독성척도중 하나인 GOT 및 GPT 활성도 측정은 Table 표 2-33과 같다. GOT 활성도의 경우 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 정상군(87.23 Karmen/unit/ml), 거대배아미정상군(78.66 Karmen/unit/ml)에 비해서 당뇨대조군(120.21 Karmen/unit/ml)이 유의적으로 증가하였고 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨거대배아미군(81.71 Karmen/unit/ml), 당뇨발아거대배아미군(78.57 Karmen/unit/ml) GOT 활성도가 낮았다. GPT 활성도의 경우는 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 104.5%, 156%로 유의적으로 증가하였고 당뇨시험군간에는 당뇨대조군(64.89 Karmen/unit/ml)에 비해서 당뇨현미군(48.28 Karmen/unit/ml), 당뇨거대배아미군(41.58 Karmen/unit/ml) 당뇨발아거대배아미군(41.10 Karmen/unit/ml) GPT 활성도가 낮았다. 혈장 GOT 및 GPT 활성도 저하는 당뇨대조군에 비해 당뇨발아거대배아미와 당뇨거대배아미군에서 간의 손상이 어느 정도 억제된다는 것을 알 수 있다.

표2-33. Effect of rice cultivars on plasma in GOT, GPT activities in normal and diabetic rats

Group(n)*	GOT(Karmen/unit/ml)	GPT(Karmen/unit/ml)
NC ¹⁾ (10)	87.72±3.401 ^{ab}	31.73±3.14 ^{ab}
NGER ²⁾ (10)	78.66±2.837 ^a	25.34±2.39 ^a
DC ³⁾ (9)	120.2±10.11 ^c	64.89±6.23 ^e
Diabetic R ⁴⁾ (8)	102.7±5.02 ^b	57.69±3.64 ^{de}
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	88.0±2.45 ^{ab}	48.28±4.23 ^{cd}
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	81.71±5.44 ^a	41.58±4.64 ^{bc}
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	78.57±3.59 ^a	41.10±5.94 ^c

3-10. 조직중의 지질과산화물 측정 : 생체 내 지질과산화물은 DNA를 손상하며 발암, 돌연변이, 유전자의 손실 및 노화의 기전으로 알려져 있다. 이러한 과산화적 손상의 지표가 되는 혈장, 뇨, 간, 신장, 심장조직의 TBARS 함량이다. 실험식이 6주 후 혈장과 뇨 중의 지질과산화물 함량이다. 혈장중의 지질과산화물 수준은 정상군들의 경우는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 당뇨대조군은 정상군에 비해서 23.8% 거대배아미정상군에 비해서 31.6%로 유의적으로 증가하였다 (표2-34). 당뇨대조군에 비해서 당뇨시험군간에는 낮아지는 경향을 나타내었다. 뇨중 지질과산화물 함량을 1일 체중 100g당 배설량으로 계산한 경우 정상군의 경우 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 당뇨대조군이 정상군에 비해서 331%, 거대배아미정상군에 비해서 325%로 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미 20.7%로 유의적으로 감소하였다. 뇨중 지질과산화물 함량을 크레아티닌 기준 배설량으로 계산하면 정상군에 비해 당뇨대조군이 유의적으로 높은 값을 보였으며 당뇨시험군에서는 발아거대배아미, 거대배아미 현미가 유의적으로 낮았다. 뇨중 지질과산화물의 증가는 체내에서 비정상적으로 증가된 지질과산화물을 제거하려는 보상기전으로서 신장의 기능 항진에서 기인한 것으로 결국 뇨중의 지질과산화가 증가되었다는 것은 당뇨 상태에서 체내에 지질과산화가 증가되었다는 것을 제시한다고 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 일반적으로 당뇨병 환자들에게서 지질과산화물이 증가되다거나 당뇨 쥐에서 과산화적 손상에 의해 지질과산화물이 축적이 되고 간의 lipase의 활성이 저하되어 혈청 중 중성지방수준이 증가된다는 것과 유사한 결과이다.

표2-34. Levels of TBARS in plasma and urine of normal and diabetic rats

Group(n)*	Plasma (nmol/ml)	Urine	
		(nmol/100 gBW/d)	nmol/mmol creatinine
NC ¹⁾ (10)	38.90±0.81 ^a	82.11±3.48 ^a	2.22±0.17 ^a
NGER ²⁾ (10)	36.59±0.90 ^a	83.18±3.50 ^a	3.60±0.18 ^b
DC ³⁾ (9)	48.18±4.06 ^c	353.9±27.3 ^d	4.13±0.24 ^c
Diabetic R ⁴⁾ (8)	44.84±1.77 ^b	339.4±12.8 ^{cd}	4.08±0.29 ^c
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	44.88±1.09 ^c	326.7±12.7 ^{bcd}	3.65±0.24 ^b
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	43.13±1.19 ^{bc}	296.3±11.6 ^{bc}	3.74±0.58 ^b
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	42.56±1.38 ^{bc}	280.4±16.8 ^b	3.65±0.15 ^b

표2-35는 조직중의 지질과산화물가를 나타낸 것으로 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 유의적으로 높은 과산화물가를 보였으며 당뇨시험군에서는 발아거대배아미와 거대배아미가 유의적으로 낮은 과산화물가를 보였다. 간의 경우 정상군들간에는 정상군(116 nmol/g tissue)에 비해서 거대배아미정상군이(110 nmol/g tissue) 유의적으로 감소하였고 당뇨대조군(219 nmol/g tissue)이 정상군들에 비해서 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에서는 당뇨대조군에 비해서 당뇨백미군(198 nmol/g tissue), 당뇨현미군(182 nmol/g tissue), 당뇨거대배아미군(174 nmol/g tissue), 당뇨발아거대배아미군(174 nmol/g tissue) 유의적으로 감소하였다. 신장은 정상군들의 경우 정상군(135 nmol/g tissue)에 비해서 거대배아미정상군(128 nmol/g tissue)이 유의적으로 감소하였고 당뇨대조군(334 nmol/g tissue)은 정상군(135 nmol/g tissue)과 거대배아미정상군(128 nmol/g tissue)에 비해서 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨백미군(316 nmol/g tissue), 당뇨현미군(284 nmol/g tissue), 당뇨거대배아미군(276 nmol/g tissue), 당뇨발아거대배아미군(273 nmol/g tissue) 유의적으로 감소하였다. 심장의 경우 정상군들의 경우 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 정상군(65 nmol/g tissue)과 거대배아미정상군(67.31 nmol/g tissue)에 비해서 당뇨대조군이 유의적으로 증가하였다. 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨백미군(73 nmol/g tissue), 당뇨현미군(69 nmol/g tissue), 당뇨거대배아미군(64 nmol/g tissue) 당뇨발아거대배아미군(64 nmol/g tissue) 유의적으로 감소하였다. 이와 같이 STZ 당뇨군에서 지질과산화물함량이 증가하는 것은 생체 막 지질에서 PLA2의 활성이 증가로 arachidonic acid cascade가 향진이 되어 활성산소 생성이 증가된다.

표2-35. Levels of TBARS in liver, kidney and heart tissues of normal and diabetic rats

Group(n)*	Liver(nmol/g tissues)	Kidney(nmol/g tissues)	Heart(nmol/g tissues)
NC ¹⁾ (10)	116.80±1.343 ^b	135.26±2.501 ^b	65.78±1.343 ^a
NGER ²⁾ (10)	110.43±1.283 ^a	128.53±3.182 ^a	67.31±7.050 ^a
DC ³⁾ (9)	219.81±1.279 ^f	334.23±1.1326 ^f	101.16±10.19 ^b
Diabetic R ⁴⁾ (8)	198.08±2.112 ^e	316.19±1.689 ^e	73.68±6.912 ^a
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	182.98±1.412 ^d	284.16±1.140 ^d	69.20±5.768 ^a
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	174.69±1522 ^c	276.84±1.211 ^c	64.63±2.389 ^a
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	174.08±1.521 ^c	273.89±1.895 ^c	64.98±1.251 ^a

3-11. 혈장 중 항산화 비타민 A 와 E의 농도 : 혈장 중 항산화 비타민 A와E의 농도는 표2-36과 같다. 혈장중의 비타민 A농도는 정상군의 경우 유의적인 차이가 없었다. 당뇨대조군에 비해서 당뇨시험군간에서 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 혈장 중 비타민 E의 농도는 정상군의 경우 유의적인 차이가 없었으며 당뇨시험군간에서는 당뇨발아거대배아미군은 108.8% 유의적으로 높게 나타났다.

표2-36. Effects of rice cultivars on plasma levels of vitamin A and vitamin E

Group(n)*	Vitamin A($\mu\text{g}/\text{dl}$)	Vitamin E($\mu\text{g}/\text{dl}$)
NC ¹⁾ (10)	12.54±0.95 ^{abc}	396.3±37.93 ^b
NGER ²⁾ (10)	17.26±3.96 ^c	419.7±68.91 ^b
DC ³⁾ (9)	7.81±0.63 ^{ab}	168.8±27.98 ^a
Diabetic R ⁴⁾ (8)	6.05±0.68 ^a	187.1±16.08 ^a
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	8.40±0.97 ^{ab}	220.0±51.07 ^a
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	10.15±0.93 ^b	232.0±18.16 ^a
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	8.83±0.91 ^{ab}	352.5±31.48 ^b

3-12. 간 조직 중의 항산화 효소의 활성변화 : 당뇨 쥐의 간조직항산화효소인 catalase, GPx, SOD효소의 활성에 미치는 영향은 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 당뇨대조군에 비해서 당뇨시험군간에서 높아지는 경향을 나타내었다 (표2-37). GPx는 주로 세포질과 미토콘드리아에 존재하며 환원상태에서 효소

활성부위에 한 개의 셀레늄을 함유하는 항산화 효소로서 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 당뇨대조군이 정상군에 비해서 57.1% 거대배아미정상군에 비해 44.7% 유의적으로 감소하였고 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미군은 72.6%로 유의적으로 높게 나타났다. SOD는 superoxide radical를 환원시켜 H₂O₂를 환원시키므로서 산소독으로부터 생체를 보호하는 효소로 정상군들의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미는 14.1% 유의적으로 높게 나타났다. 이와 같이 streptozotocin을 투여한 당뇨대조군에서 catalase, GPx, SOD활성이 감소된 현상은 당뇨 쥐에서 불포화 지방산이 함량이 높은 생체 막이 산화적 스트레스에 민감하여 지질과산화가 촉진되므로서 세포소 기관들이 산화적 손상이 가속화되어 효소활성이 저하된 것으로 보이며 당뇨시험군에서 기능성 쌀에서 효소활성이 당뇨대조군에 비해서 큰 것은 배아부분에 함유하고 있는 토코페롤 때문이라고 생각이 된다.

표2-37. Effect of rice cultivates on hepatic antioxidant enzyme activities

Group(n)*	Catalase (μ mole/min/mgprotein)	Glutathione peroxidase (nmole/min/mg protein)	Superoxidedismutase (uint/mg protein)
NC ¹⁾ (10)	1.76 \pm 0.14 ^{ab}	1.46 \pm 0.30 ^b	1.68 \pm 0.10 ^{bc}
NGER ²⁾ (10)	1.92 \pm 0.14 ^b	1.51 \pm 0.17 ^b	1.92 \pm 0.11 ^{bc}
DC ³⁾ (9)	0.97 \pm 0.06 ^a	0.834 \pm 0.09 ^a	1.20 \pm 0.18 ^{ab}
Diabetic R ⁴⁾ (8)	1.02 \pm 0.07 ^{ab}	0.986 \pm 0.18 ^{ab}	0.95 \pm 0.13 ^a
Diabetic BR ⁵⁾ (10)	1.53 \pm 0.12 ^{ab}	1.37 \pm 0.13 ^{ab}	1.03 \pm 0.25 ^a
Diabetic GER ⁶⁾ (13)	1.63 \pm 0.16 ^{ab}	1.38 \pm 0.17 ^{ab}	1.14 \pm 0.25 ^a
Diabetic GGER ⁷⁾ (13)	1.66 \pm 0.52 ^{ab}	1.44 \pm 0.15 ^b	1.37 \pm 0.08 ^b

4) 특수미의 가공적성

4-1. 특수미(홍국균, 머섯 배양쌀 및 식이섬유 코팅쌀)의 취반적성 : 특수미의 일상적인 섭취를 위해서는 취반시 백미 또는 현미와 일정비율로 섞어서 섭취하는 것이 바람직할 것이다. 실제로 이들 발효쌀의 제조업체에서는 10~20% 정도 백미와 혼합하여 취반하여 섭취할 것을 권장하고 있다.

발효쌀 및 코팅쌀을 백미와 10, 20%, 30%의 비율로 혼합하여 취반한 후 식미검정을 실시한 결과, 밥을 지었을 때의 윤기 및 색에 대한 기호도는 식이섬유 코팅쌀을 제외한 모든종류의 발효쌀에서 낮게 나타났다 (표2-38). 한편 냄새는 상황버섯쌀의 경우 20%까지 혼합하여 취반하여도 기호도가 백미와 같은 정도이었다. 점도는 상황버섯 쌀의 경우 10% 첨가시 까지는 백미와 유사한 정도의 기호도를 나타내고 있었으며, 식이섬유 코팅쌀의 경우에도 30%까지 첨가하여도 백미와 유사한 정도의 기호도를 보이고 있었다. 아가리쿠스 버섯쌀의 경우에는 혼합하여 지을수록 단맛의 정도가 증가하는 경향이 있었다.

표2-38. 홍국균, 버섯발효쌀 및 식이섬유 코팅쌀의 취반에 대한 식미검정

	윤기	색	냄새	점도	단맛	까칠한 정도	전반적인 기호도
백미	7.71±1.11 _{ef}	7.77±1.25 _e	7.06±1.68 _c	7.35±1.37 _d	7.35±1.58 _{ab}	7.94±1.44 _f	7.47±1.01 _d
동충하초10%	6.88±1.45 _{cdef}	7.24±1.39 _{cde}	6.82±1.81 _{bc}	6.24±1.95 _{abcd}	6.77±1.92 _{ab}	6.82±1.63 _{bcdef}	6.59±1.28 _{cd}
동충하초20%	6.41±1.46 _{bcd}	6.35±1.80 _{bcd}	6.65±1.80 _{bc}	5.94±1.71 _{abc}	5.65±2.29 _a	6.12±1.90 _{abc}	5.77±1.89 _{bc}
동충하초30%	5.88±1.32 _{abc}	6.18±1.38 _{bc}	6.29±1.65 _{bc}	6.18±1.47 _{abcd}	5.65±1.87 _a	6.41±1.33 _{abcd}	5.24±1.30 _b
상황버섯10%	6.65±1.41 _{bcd}	6.77±1.44 _{bcde}	7.18±1.43 _c	7.24±1.56 _{cd}	6.53±1.84 _{ab}	7.12±1.45 _{cdef}	5.71±1.83 _{bc}
상황버섯20%	6.18±1.59 _{abc}	6.41±1.28 _{bcd}	7.18±1.02 _c	6.12±1.73 _{abcd}	6.00±1.77 _a	6.53±1.63 _{abcde}	5.71±1.31 _{bc}
상황버섯30%	5.94±1.14 _{abc}	6.29±1.16 _{bcd}	6.29±1.86 _{bc}	5.71±2.09 _{ab}	6.12±1.36 _a	6.18±2.04 _{abc}	5.77±1.60 _{bc}
아가리쿠스10%	6.82±1.38 _{bcd}	7.12±1.62 _{cde}	6.88±1.90 _{bc}	6.53±2.09 _{bcd}	7.12±1.41 _{ab}	6.77±1.52 _{bcde}	5.59±1.87 _{bc}
아가리쿠스20%	6.00±1.32 _{abc}	6.41±1.28 _{bcd}	6.77±1.82 _{bc}	5.94±1.75 _{abc}	7.00±1.50 _a	6.53±1.28 _{abcde}	5.94±1.68 _{bc}
아가리쿠스30%	5.77±1.03 _{ab}	6.41±1.33 _{bcd}	6.65±1.54 _{bc}	6.47±1.46 _{bcd}	10.1±17.3 _{0^b}	6.41±1.33 _{abcd}	5.47±1.81 _{bc}
식이섬유10%	7.77±1.15 _{ef}	7.41±1.37 _{de}	6.77±1.75 _{bc}	6.41±2.15 _{abcd}	5.97±2.46 _a	7.59±1.37 _{cdf}	7.47±1.38 _c
식이섬유20%	7.41±1.28 _{def}	7.24±1.30 _{cde}	6.53±1.77 _{bc}	7.24±1.48 _{cd}	6.94±1.56 _{ab}	7.94±0.75 _f	7.35±1.87 _c
식이섬유30%	7.88±1.17 _f	7.29±1.61 _{cde}	6.88±1.32 _{bc}	7.35±1.17 _c	7.29±1.45 _{ab}	7.65±1.37 _{ef}	7.29±1.93 _c
홍국균10%	6.24±1.39 _{abc}	6.18±1.70 _{bc}	6.47±0.80 _{bc}	5.82±1.59 _{ab}	5.12±1.93 _a	5.41±1.70 _a	3.24±1.39 _a
홍국균20%	5.88±1.22 _{abc}	5.88±1.58 _{ab}	5.65±1.58 _{ab}	5.41±1.42 _{ab}	4.77±2.20 _a	5.65±1.77 _{ab}	3.59±1.97 _a
홍국균30%	5.29±1.90 _a	5.06±1.82 _a	4.94±2.08 _a	5.12±1.58 _a	3.71±1.90 _a	5.41±1.18 _a	2.53±1.55 _a

식이섬유 코팅 쌀을 혼합하여 취반하는 경우, 단맛의 항목 이외의 항목에 대해서는 대체로 백미로 지은 밥과 유사한 정도의 기호도를 나타내고 있었다. 전반적인 기호도는 식이섬유 코팅 쌀의 경우를 제외하고는 모두 낮은 수치를 나타내고 있었으며, 특히 홍국균 쌀을 혼합하여 취반한 경우 기호도가 가장 낮았다. 이러한 결과들은 아마도 군사체의 증식에 따른 발효와 더불어 다양한 생리활성 물질의 생산이 어느 정도 이루어졌는지 모르겠지만, 발효와 더불어 쌀의 주성분인 전분입자의 형태가 붕괴되고, 전분의 이화학적 특성이 없어지면서 결국 전분질 식품으로서의 식품학적 가치는 상실된 결과라고 생각한다. 이러한 경향은 발효쌀을 분말화하여 제빵적성을 검토했던 경우에도 부정적인 결과를 얻었던 예비실험의 경우와도 같은 맥락이었다.

또한 취반 후 24시간 후의 물성을 보면 현미와 식이섬유코팅쌀의 경우에는 혼합비율이 증가할수록 경도가 단단해지고 있으나, 발효쌀들의 경우에는 혼합비율이 증가할수록 덜 단단해지고 있음을 알 수 있다 (표2-39). 그리고 이러한 경향은 취반 후 시간이 경과 할수록 크게 나타나고 있었다. 이러한 이유는, 발효쌀의 경우, 고체배지에 해당하는 쌀 전분입자의 형태가 거의 없어지고 전분분자의 형태로 존재하기 때문에 전분의 호화 및 노화의 과정에서 노화에 대한 저항성이 증대되었기 때문인 것으로 사료된다. 특수미들을 적당한 비율로 혼합 취반 후의 경도 이외의 다른 물성들도 경도에 준하는 경향을 보이고 있었다. 결국 전분질 식품인 쌀이기 때문에 전분입자의 호화 및 노화상태가 취반시 또는 취반 후 저장에 따른 물성의 변화에 가장 큰 영향을 미치고 있음을 다시 한번 확인할 수 있었다.

표2-39. 취반후의 물성 변화

<취반 24시간 후의 물성>

시 료	혼합 비율	hardness	adhesiveness	spinginess	cohesive- ness	gumminess	chewiness
백미	100%	8.56±11.58	-63.33±4.25	0.68±0.08	0.26±0.04	33.37±15.83	22.16±9.61
	10%	137.40±5.47	-81.86±16.15	0.84±0.08	0.31±0.03	41.09±2.38	30.90±2.42
	20%	147.67±15.79	-87.79±11.67	0.85±0.03	0.32±0.01	42.99±5.28	36.23±7.64
현미	30%	158.69±9.50	-117.49±15.91	0.75±0.06	0.28±0.01	50.13±3.28	42.53±1.40
	10%	144.90±18.81	-106.56±11.80	0.74±0.05	0.29±0.02	41.73±7.89	31.23±7.68
식이 섬유 코팅쌀	20%	178.40±5.87	-113.64±8.77	0.69±0.03	0.28±0.02	49.50±2.25	34.07±2.93
	30%	186.25±4.37	-121.71±7.59	0.72±0.01	0.28±0.01	51.41±2.81	36.96±1.57

동충하초 버섯쌀	10%	148.73±21.50	-105.43±4.65	0.79±0.04	0.28±0.01	35.01±11.49	22.58±9.71
	20%	147.35±10.04	-96.65±10.74	0.79±0.05	0.28±0.03	28.25±11.14	27.77±9.33
	30%	137.74±17.49	-79.20±13.15	0.86±0.03	0.30±0.02	44.28±4.02	32.23±8.07
아가리 쿠스 버섯쌀	10%	151.08±37.77	-99.65±10.74	0.79±0.07	0.27±0.02	41.08±12.12	37.80±2.09
	20%	136.15±9.59	-99.65±10.66	0.82±0.03	0.30±0.02	39.14±1.36	31.53±1.13
	30%	71.14±3.56	-79.15±9.41	0.74±0.04	0.23±0.02	16.69±1.89	12.36±1.96
상황 버섯쌀	10%	162.81±10.11	-94.66±2.19	0.76±0.10	0.26±0.01	38.47±6.56	48.27±8.19
	20%	146.50±3.56	-97.81±1.80	0.85±0.04	0.31±0.03	51.13±1.86	39.76±13.58
	30%	135.35±1.32	-111.73±10.29	0.83±0.05	0.30±0.02	47.69±14.10	29.30±7.78
홍국균 배양쌀	10%	205.36±0.17	-114.21±0.47	0.71±0.07	0.26±0.01	37.93±7.23	51.30±2.17
	20%	143.27±21.54	-94.21±0.97	0.82±0.04	0.31±0.00	62.73±0.55	27.35±7.83
	30%	138.41±4.89	-74.48±9.45	0.66±0.05	0.25±0.02	34.19±4.14	22.61±4.38

<취반 48시간 후의 물성>

시료	혼합 비율	hardness	adhesiveness	springiness	cohesive- ness	gumminess	chewiness
백미	00%	156.8±4.47	-84.3±5.78	0.82±0.04	0.30±0.03	78.6±16.61	64.4±14.56
	10%	219.2±27.42	-58.2±17.18	0.90±0.02	0.33±0.02	79.1±16.45	70.8±14.17
	20%	228.6±10.68	-83.2±23.49	0.92±0.003	0.36±0.04	81.4±9.07	74.8±8.31
현미	30%	278.5±47.62	-122.8±9.47	0.84±0.05	0.33±0.02	90.2±9.40	76.2±2.26
	10%	169.1±38.13	-71.6±6.38	0.73±0.02	0.25±0.01	42.2±7.27	30.8±4.57
	20%	202.1±5.64	-116.4±8.27	0.86±0.005	0.29±0.02	52.5±11.73	45.1±10.20
식이 섬유 코팅쌀	30%	267.1±13.56	-77.1±31.60	0.75±0.10	0.28±0.03	81.9±13.59	62.3±17.41
	10%	158.4±26.18	-68.7±36.59	0.83±0.03	0.29±0.002	48.3±16.79	40.5±15.32
	20%	119.9±6.44	-58.7±17.85	0.63±0.09	0.21±0.03	33.7±6.76	21.6±7.47
동충 하초 버섯쌀	30%	65.0±0.09	-36.8±4.10	0.59±0.05	0.20±0.01	28.5±4.97	17.0±4.37
	10%	245.8±22.30	-87.4±0.36	0.78±0.09	0.28±0.02	62.6±15.20	49.2±16.70
	20%	145.1±2.16	-59.4±3.91	0.81±0.07	0.27±0.02	39.5±0.66	32.0±2.32
아가리 쿠스 버섯쌀	30%	69.0±2.31	-29.3±8.25	0.58±0.01	0.20±0.01	25.4±4.48	14.7±2.78
	10%	173.8±8.72	-83.8±2.25	0.78±0.05	0.28±0.02	48.9±5.47	38.3±6.55
	20%	71.8±13.52	-49.9±23.58	0.59±0.07	0.18±0.01	31.5±12.37	19.8±13.27
상황 버섯쌀	30%	61.7±4.88	-37.8±5.11	0.59±0.07	0.20±0.01	29.2±5.59	16.6±5.27
	10%	199.4±51.94	-77.1±31.60	0.73±0.04	0.25±0.01	39.8±14.65	29.3±5.51
	20%	160.6±43.66	-68.4±25.88	0.70±0.04	0.24±0.02	40.3±7.07	27.5±8.61
홍국균 배양쌀	30%	145.7±18.93	-68.9±10.75	0.64±0.03	0.20±0.01	43.6±8.57	27.9±6.30

4-2. 발효미의 쌀빵 가공성 비교

발효 쌀의 경우 쌀 전분입자 형태의 소실 때문인지 전분질 식품으로서의 물성을 상실하고 있었기 때문에 이들 발효쌀을 각각 제분하여 쌀빵 가공성에 대한 검정을 실시하였다. 본 실험에서 발효쌀의 종류로 사용하였던 동충하초쌀 및 아가리쿠스 버섯쌀은 제빵성이 상당히 나빠서 제조할 수가 없었으며, 표에 제시하는 바와 같이 상황버섯쌀의 경우에는 20% 첨가하여 제조할 경우 제빵성이 양호하였다. 그리고 식이 섬유코팅쌀도 20% 첨가의 경우에는 제빵성이 양호하였다 (표2-40).

표3-40. 특수미의 제빵특성

시료	혼합 비율 (%)	기공의 균일성	냄새	질감	폭신함	씹힘성	기호도
밀가루	100	5.20±0.19 ^g	5.33±0.15 ^{fg}	5.13±0.18 ^g	5.67±0.17 ^f	4.67±0.16 ^g	5.87±0.15 ^h
상황버섯쌀	20	5.07±0.19 ^{fg}	5.73±0.15 ^g	4.00±0.18 ^{de}	4.13±0.17 ^d	4.27±0.16 ^{fg}	5.07±0.15 ^g
	30	4.33±0.19 ^{de}	5.00±0.15 ^{ef}	4.87±0.18 ^g	5.00±0.17 ^e	3.67±0.16 ^{de}	4.67±0.15 ^{fg}
	40	4.13±0.19 ^{cde}	3.80±0.15 ^d	3.93±0.18 ^{de}	3.20±0.17 ^c	4.20±0.16 ^{fg}	4.00±0.15 ^e
	50	3.67±0.19 ^{bc}	3.80±0.15 ^d	4.73±0.18 ^g	3.07±0.17 ^c	2.93±0.16 ^c	2.47±0.15 ^c
식이 섬유 코팅쌀	20	5.13±0.19 ^{fg}	5.27±0.15 ^f	5.07±0.18 ^g	5.07±0.17 ^e	4.40±0.16 ^{fg}	5.53±0.15 ^h
	30	4.40±0.19 ^e	5.07±0.15 ^f	4.67±0.18 ^{fg}	4.40±0.17 ^d	4.00±0.16 ^{ef}	4.47±0.15 ^f
	40	3.53±0.19 ^b	4.60±0.15 ^e	4.20±0.18 ^{ef}	4.60±0.17 ^{de}	4.47±0.16 ^{fg}	4.00±0.15 ^e
	50	3.47±0.19 ^b	3.73±0.15 ^d	3.00±0.18 ^c	3.27±0.17 ^c	3.47±0.16 ^d	3.40±0.15 ^d
홍국균 배양쌀	20	4.60±0.19 ^{ef}	2.60±0.15 ^c	3.60±0.18 ^d	2.20±0.17 ^b	2.60±0.16 ^c	2.67±0.15 ^c
	30	3.80±0.19 ^{bcd}	2.13±0.15 ^b	2.13±0.18 ^b	2.33±0.17 ^b	2.13±0.16 ^b	1.80±0.15 ^b
	40	2.00±0.19 ^a	1.13±0.15 ^a	1.27±0.18 ^a	1.47±0.17 ^a	1.40±0.16 ^a	1.13±0.15 ^a
	50	1.80±0.19 ^a	1.07±0.15 ^a	1.60±0.18 ^a	1.27±0.17 ^a	1.20±0.16 ^a	1.00±0.15 ^a

3. 연구결과 요약

(1) 특수미 함유 생리활성 물질

① 기능성 쌀 에탄올 추출물들의 회수율은 색이 진할수록 높았다. 붉은색을 띄는 홍국균 쌀이 13.55%로 가장 높았으며, 일반미 추출물의 회수율 보다 6배 이상 높았다.

② 항산화 효과의 기대정도를 가늠하여 볼 수 있는 총 폴리페놀 화합물 함량은 일반미에 비해 기능성 쌀에서 모두 높았으며, 특히 홍국균 쌀에 가장 많이 함유되어 있었다. 피틴산의 함량은 기능성 쌀에서 거의 비슷한 수준을 보였으며, 그 중에서는 상황버섯 쌀과 식이섬유코팅 쌀이 조금 더 높게 나타났다. 그리고 신경전달 물질의 하나인 GABA의 함량은 상황버섯 쌀에서 가장 높게 나타났다

③ 일반 품종들에 비해서 거대배아미 품종들에 GABA의 함량이 많은 것을 알 수 있었으며, 발아에 따른 GABA의 함량 변화를 살펴보면, 절대적인 양은 발아 거대배아미 품종들이 많았지만, 발아에 따른 GABA의 증가율은 오히려 일반 품종의 쌀들에서 높았다.

④ 3일간 발아시킨 후의 총 페놀성 화합물의 양은 일반미 품종과 거대배아미 품종 중 남풍거대배아미의 경우에는 발아시키기 전과 비교하여 별로 차이가 없었으나, 화청거대배아미의 경우에는 3일간 발아시킨 후의 총 페놀성 화합물의 양이 크게 증가하고 있었다.

(2) 특수미의 에탄올 추출물의 항산화성

① 자유라디칼의 발생을 차단시키는 정도를 알아보기 위한 환원력 측정 결과 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀이 높게 나타났다. 상황버섯 쌀은 비타민 E와 동일한 정도의 높은 환원력을 나타냈고, 홍국균 쌀은 비타민 C와 동일한 정도의 매우 높은 환원력을 나타내었다.

② 기능성 쌀 모두에서 일반미(17%) 보다 높은 DPPH에 대한 전자 공여능을 나타내었으며, 환원력이 높게 나타났던 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀이 특히 높은 전자 공여율을 나타내어 항산화 활성이 높은 품종들임을 짐작할 수 있다.

③ 기능성 쌀의 linoleic acid를 이용한 지질과산화 억제능은 홍국균 쌀 > 상황버섯 쌀 > 동충하초 쌀 > 식이섬유코팅 쌀 > 아가리쿠스 쌀 > 일반미 순으로 나타났으며, 지질과산화 유도기간이 상황버섯 쌀은 10일, 홍국균 쌀은 14일 이상 연장되었다.

④ 거대배아미 품종이 일반품종에 비해서 전자공여능이 우수하였고, 발아시키면

그 효과가 더욱 증가하고 있었다. 그리고 발아에 따른 증가폭은 거대배아미 품종들보다 오히려 일반미 품종의 경우 더 효과가 있었다.

⑤ 일반품종의 쌀보다 거대배아미 품종들이 상당히 높았다. 그러나 발아에 의한 지질과산화 억제활성은 일반미 품종이 약 2배 정도의 상승하는데 비해서 거대배아미 품종은 상승효과가 거의 없었다.

(3) 특수미 식이에 의한 지질대사 개선효과

① 1일 평균 식이섭취량·체중 증가량·식이효율과 장기 중 폐의 무게는 각 식이군 간 유의적인 차이가 없었으며, 간과 심장의 무게는 대조군이 다른 실험군들에 비해 유의적으로 높게 나타났고, 신장의 무게는 일반미군이 다른군들에 비해 유의적으로 낮게 나타났다.

② 혈장 중성지방의 농도는 유의적인 차이가 없었으며, 총 콜레스테롤 농도는 홍국균 쌀 20% 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 일반미군과 상황버섯 쌀 20% 첨가군은 증가하는 경향을 보였으며, 홍국균 쌀 20% 첨가군은 유의적으로 증가하였다. 모든 실험군에서 HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤 비율(HTR)이 대조군에 비해 높아짐으로써, 동맥경화 지수(A.I)가 낮아져 혈중 지질 강하에 효과적인 것으로 확인되었다. 이러한 효과는 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 탁월하였다. 또한 발아거대배아미군이 전반적으로 낮은 경향을 보였다. 총 콜레스테롤에 대한 HDL-cholesterol농도의 비율을 나타내는 동맥경화의 위험척도를 나타내는 동맥경화지수도 대조군에 비해서 발아거대배아미군이 유의적인 차이가 있었다.

③ 간조직의 총 콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 모두 유의적으로 낮았으며, 간조직 중성지방 농도는 홍국균 쌀 20% 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다.

④ 간의 TBARS함량 및 항산화효소인 Catalase, GSH-px, SOD의 활성을 측정 한 결과도 대조군에 비해서 시험군들이 전반적으로 낮았으나 특히 발아거대배아미가 유의적으로 낮았다. CAT 활성도는 상황버섯 쌀 20% 첨가군과 홍국균 쌀 20% 첨가군이 대조군에 비해 유의적으로 증가된 반면 GPx 활성도는 유의적으로 감소하였다. SOD 활성도는 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 유의적으로 증가하였다.

⑤ 상황버섯 쌀 20% 첨가 결과는 대조군과 비교시 혈장에서의 지질과산화 생성물 수준을 유의적으로 저하시켰고, 홍국균 쌀 20% 첨가는 대조군과 비교시 혈장과 간조직에서의 지질과산화 생성물 수준을 유의적으로 저하시켰다.

⑥ 혈장 및 간, 신장, 심장, 폐의 지질과산화물도 대조군에 비해서 특수미 전반적으로 낮은 경향을 보이며 간과 신장을 제외하고는 유의적인 차이는 없었다.

⑦ 간의 총 콜레스테롤함량 및 중성지질 함량은 대조군에 비해서 특수미 식이를 급여한 군들이 전반적으로 유의적으로 감소하였다. 혈청중의 GOT와 GPT활성 또한 발아 거대배아미가 낮았다. 특히 홍국균 쌀 20% 첨가군에서 GPT가 크게 감소하였다.

⑧ 분변의 중성스테롤과 담즙산은 대조군에 비해서 시험군들이 분변의 중성스테롤과 담즙산의 배설을 증가시키는 것으로 나타났는데 이는 식이 중 식이섬유소, 식물성스테롤 등의 작용에 의하여 소장에서 콜레스테롤과 담즙산의 흡수가 저해되는 것으로 보인다.

이상의 결과로 특수미들은 지질과산화물의 형성 억제 및 전반적인 지질대사 개선에 효과적이었으며, CAT와 SOD와 같은 항산화 효소의 활성을 증가시켜 항산화 방어계에도 긍정적인 효과를 나타냄으로서 고콜레스테롤혈증 예방 및 개선을 위한 기능성 쌀로서의 활용이 기대된다.

(3) 특수미 식이에 의한 당뇨개선 효과

① 실험기간동안 모든 당뇨군들의 체중증가는 정상군에 비해서는 유의적으로 낮았다. 당뇨대조군에 비해서는 거대배아미, 발아거대배아미를 급여한 군에서 체중 감소현상이 억제되었으며, 식이섭취량은 정상군에 비해 당뇨시험군들이 높게 나타났으며 식이효율은 정상군에 비해서 당뇨대조군이 낮게 나타났으나 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해 당뇨거대배아미군과 당뇨발아거대배아미군의 식이효율이 높았다.

② 간, 심장, 신장, 폐의 장기무게는 일반미 정상군 거대배아미정상군중 거대배아미를 급여한 군에서 약간 높게 나타났으나 유의적 차이가 나타나지 않았다. 정상군들에 비해 당뇨대조군에서 장기무게가 높게 나타났으며 특히 신장의 경우 2배 이상의 비대현상이 나타났다.

③ 당뇨증세호전도는 당뇨쥐가 정상쥐에 비해서 수분섭취량, 소변배설량, 혈당이 유의적으로 높게 나타났다. 당뇨병의 주요증세가 다갈(polydipsia), 다뇨(polyuria), 다식(polyphagia), 고혈당이나 거대배아미와 발아거대배아미를 급여한 군에서 당뇨병 증세호전효과를 볼 수 있었다.

④ 장 기능 조절로서 장통과 시간과 분변고형물의 양에는 역의 상관관계로 식이섬유소의 함량이 높은 쌀 품종인 발아거대배아미와 거대배아미는 장통과 시간이 짧으며 분변고형물의 양을 유의적으로 증가시켰으며 변의 수분 보유량도 정상군들에 비해 당뇨실험군들중 발아거대배아미군과 거대배아미군이 전반적으로 높았다.

⑤ OGTT의 결과에서 당뇨발아거대배아미, 당뇨거대배아미 급여가 당뇨동물의 공복시 혈당 수준을 유의적으로 낮추는데 효과가 있었으며 이당류 분해효소 활성의 경우 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 lactose, maltose, sucrose활성이 현저하게

증가되었지만 당뇨실험군중에는 당뇨발아거대배아미, 당뇨거대배아미, 소장점막부분의 lactose, maltose, sucrose의 활성을 저해시킴으로서 혈당상승을 억제시키는 것으로 볼 수 있었다.

⑥ 간 조직의 중성지방과 총콜레스테롤의 함량은 정상군의 경우 유의적인 차이는 없었으며 당뇨대조군은 정상군에 비해 높았으며 당뇨시험군에서는 거대배아미와 발아거대배아미를 급여한 군에서 감소되는 현상이 나타났다.

⑦ GOT 및 GPT 활성도는 당뇨대조군에 비해 당뇨거대배아미와 당뇨발아거대아미군에서 간의 손상이 어느 정도 억제된 것이 관찰되었다.

⑧ 간 조직중의 지질 과산화물가는 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 높은 과산화물가를 보였으며 당뇨발아거대배아미와 당뇨거대배아미가 낮은 과산화물가를 보였다.

⑨ 혈장중의 비타민 A, E 농도는 정상군간에 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 당뇨대조군이 정상군에 비해 유의성 있게 감소되었으며 당뇨대조군에 비해 발아거대배아미나 거대배아미급여군이 유의성 있게 높게 나타났다.

⑩ 간조직중 catalases, SOD, GPX등 항산화 효소들의 활성은 정상군에 비해서 당뇨 군에서 비교적 높은 경향을 나타냈으며 특히 당뇨거대배아미군과 당뇨발아거대배아미군이 높았다.

⑪ 혈중의 중성지방과 총콜레스테롤수준은 당뇨대조군에 비해 당뇨발아거대배아미군과 당뇨거대배아미군에서 낮은 수치를 나타냈으며 동맥경화발병지표인 동맥경화지수 또한 낮았다.

⑫ 분변 중성스테로이드의 경우 정상군에 비해 거대배아미의 정상군의 현저하게 높게 나타났으며 당뇨시험군에서는 당뇨발아거대배아미군과 당뇨거대배아미군이 높게 나타났다. 변으로 배설되는 담즙산의 함량은 정상군간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 당뇨시험군에서는 당뇨발아거대배아미군에서 유의적으로 높게 나타났다.

⑬ 혈장중의 지질과산화물 수준은 정상군들의 경우는 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미와 당뇨거대배아미가 낮은 수준의 혈장지질과산화물 값을 보였다. 뇨중 지질과산화물 함량을 크레아티닌기준 배설량으로 계산하면 정상군에 비해 당뇨대조군이 높은 값을 보였으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해 당뇨발아거대배아미군과 당뇨거대배아미군 당뇨현미군에서 낮은 값을 보였다.

⑭ 조직중 지질과산화물가를 나타낸 것은 정상군들에 비해서 당뇨대조군이 높은 과산화물가를 보였으며 당뇨시험군간에는 당뇨대조군에 비해서 당뇨발아거대배아미군 당뇨거대배아미군이 낮은 과산화물가를 보였다.

제 3절 특수미의 건강기능성 생리활성의 검색 및 평가 (제2협동과제)

1. 연구수행 방법

1-1. 생리활성 물질의 추출

지용성물질에서 수용성 물질까지 광범위한 이화학적 특성의 물질을 추출하기 위하여 70% 에탄올 추출을 수행하였다. 각종 특수미를 분쇄기 (cyclotec. 103 sample mill, Sweden)을 이용하여 60 mesh로 분쇄한 후, 70% 에탄올을 5배 (w/v)를 넣고 진탕배양기를 사용하여 40°C에서 하룻밤 추출하였다. 이 추출물을 여과지 (Toyo No.4)로 여과한 다음, SpeedVac (Eyera, Japan)으로 40°C에서 용매분획을 없애고 고형물의 중량을 측정 후, -70°C에서 보관하였다.

1-2. polyphenol 함량의 측정

총 폴리페놀 화합물의 함량은 Folin-Densin법을 약간 변형시켜 측정하였다. 시료를 100% ethanol에 녹인 다음(1mg/ml) 0.5ml을 시험관에 취하고 증류수 6.5ml을 가한 후, Folin-ciocalteu's phenol reagent(Sigma F-9252)를 0.5ml 첨가하고 3분간 실온에서 방치한다. Na₂CO₃ 포화용액 1ml과 deionized water 1.5ml을 첨가한 후 실온에서 1시간 방치한 후에 UV/VIS Spectrophotometer(JASCO, Japan) 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 Galic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

1-3. 동물세포주의 배양

premyeloblastoma cell line인 HL-60 세포를 5×10⁵ cell/ml의 밀도로 10% FBS가 함유된 RPMI 1640배지를 사용하여 세포수를 조절한 다음, 1.4%의 DMSO를 첨가, 8일간 배양하여 세포를 호중구로 분화시켰다. Chinese hamster lung cells인 V79 세포주는 10% fetal bovine serum(FBS)와 100 unit penicillin/streptomycin이 함유된 Eagle's minimum essential medium(MEM)을 사용하여 5% CO₂/95% air의 조건하에서 37°C에서 배양하였다. 배양된 세포는 많은 ampule에 나누어 액체질소에 보관하고, 실험에 사용하기 전에 V79 세포주의 배양과정 중에서 발생할 가능성이 있는 initiation 된 세포인 6-TG 저항성 세포를 제거하기 위하여 GHAT(Eagle's MEM containing 1.6×10⁻⁶M Glycine, 1×10⁻⁴M Hypoxanthine, 4×10⁻⁷M Amethopterin, 1.6×10⁻⁵M Thymidine, 10% FBS and 100Unit P/S) media에서 세포를 배양하였다.

또한 지시세포인 RAW264.7 세포주는 American Type Culture Collection(Manassas, VA, USA)에서 구입하였고, RBL-2H3 세포주는 Health Source Research Resource Bank(Osaka, Japan)에서 구입하였다. 세포배양에 사용된 Dulbecco-modified Minimum Essential Medium(D-MEM)은 Life Technologies(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum(FBS)와 penicillin 및 streptomycin은 Hyclone(Logan, Utah, USA)에서 구입하였으며 각각 10%의 FBS 조건에서 5%의 CO₂를 포함한 포화습도의 공기에서 배양하였다.

1-4. 지질과산화 억제활성의 측정

(1-4-1) Linoleic acid의 지질과산화에 대한 억제활성

0.13 ml의 linoleic acid를 함유하는 99% 에탄올을 10 ml를 가하고 여기에 0.2M 인산 buffer (pH 7.0) 10 ml와 쌀겨 추출물 0.2 ml를 첨가한 다음, 증류수로 25 ml를 만든다. 반응액을 40°C에서 진탕 배양하여 실험적으로 지방산의 산화를 유도하면서 경시적으로 반응액 내 지방산의 산화도를 thiocyanate 법으로 측정하였다. 항산화활성을 추정하기 위한 대조구로는 합성 항산화제인 Butylated Hydroxy Toluene (BHT)를 사용하였다.

(1-4-2) Erythrocyte membrane ghost 막지질과산화에 대한 억제활성

• Erythrocyte membrane ghost의 제조

Cardiac punching에 의하여 토끼에서 혈액을 채취한 후 등장액 조건의 buffer (10 mM phosphate, 152 mM NaCl, pH 7.4) 100 ml로 3번 이상 세척하여 적혈구를 얻는다. 이 적혈구를 저장액 buffer (10 mM phosphate, pH 7.4)로 용혈시킨 다음, 4°C에서 20,000 xg로 40분간 원심분리하여 막분획을 회수한다. 막분획의 단백질 농도를 2 mg/ml로 조정하여 -70°C에서 보관하였다.

• membrane ghost를 사용한 지질과산화 억제활성의 측정

930 μ l의 막분획에 50 μ l의 24 mM t-BOOH (*tert*-butyl hydroperoxide)를 넣고, 다시 일정농도의 쌀 추출물을 20 μ l 넣은 다음, 37°C에서 30분간 진탕 반응시킨다. 반응후, 20%의 TCA와 0.67 %의 TBA를 각각 250 μ l씩 첨가한 다음 가열하여 상층액만을 회수하며, 이 상층액의 흡광도를 UV/VIS Spectrophotometer (JASCO, Japan)를 사용하여 535 nm에서 측정한다.

1-5. 라디칼 소거활성의 측정

(1-5-1) Reducing power의 측정

농도별 쌀 추출물 20 μl 에 680 μl 의 50mM 인산 buffer (pH 6.6), 500 μl 의 1% potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)를 첨가하여 50°C에서 20분간 반응시킨다. 반응 후, 탈이온수 500 μl 와 100 μl 의 0.1% FeCl_3 를 넣어서 일어나는 발색을 700 nm에서 측정한다.

(1-5-2) DPPH 라디칼에 대한 전자공여능의 측정

0.1 mM DPPH, 40% 에탄올, 40mM sodium acetate (pH 5.5)를 포함한 2.5 ml의 반응액에 각 농도별 쌀 추출물 5 μl 를 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨 다음, 반응액에 잔존하는 DPPH 라디칼을 517 nm의 흡광도에서 측정한다. 전자공여능 (%)은 $(1-\text{As}/\text{Ac}) \times 100$ 으로 산출하며 여기서 As와 Ac는 각각 실험구와 대조구에서의 흡광도를 나타낸다.

(1-5-3) Superoxide radical scavenging 활성의 측정

Hypoxanthine/xanthine oxidase 시스템에서 만들어진 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 에 대한 쌀 추출물의 라디칼 소거활성을 라디칼보다 안정한 생성물인 $\text{DMPO-O}_2^{\cdot-}$ 의 양을 electron spin resonance (ESR) 법에 의하여 측정한다. 적당량의 쌀 추출물이 함유된 시료를 50 μl 의 2 mM hypoxanthine, 35 μl 의 5.5 mM DETAPAC, 15 μl 의 9.2 M DMPO 및 0.02 unit의 xanthine oxidase를 넣고 0.1 M 인산 buffer (pH 7.4)로 전체 용적을 200 μl 로 조정한다. ESR의 setting 조건은 다음과 같으며, spectrogram에서 나온 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 피크의 높이를 측정하여 radical scavenging 효율을 계산하였다 (JEOL, Japan). modulation amplitude, 0.1 mT ; recording range, 4 mT ; recording time, 1 min ; time constant, 0.1 s ; microwave power, 1.8 mW ; microwave frequency, 9.40432.

(1-5-4) Hydroxyl radical scavenging 활성의 측정

Superoxide radical scavenging 활성의 측정과 마찬가지로 라디칼과 반응하여 생성된 안정된 화합물인 DMPO-OH 의 양을 ESR spectroscopy를 사용하여 측정하였다. 적당량의 쌀 추출물에 50 μl 의 0.3 M DMPO, 50 μl 의 10 mM FeSO_4 와 50 μl 의 10 mM H_2O_2 를 넣고 0.1 M의 인산 buffer (pH 7.4)로 총 용적을 200 μl 로 만들어 반응에 사용하였다. ESR spectroscopy의 운전 조건은 superoxide radical 측정의 경우와 동일하다.

(1-5-5) 세포내 ROS의 측정

세포내 활성산소의 발생에 미치는 유색미 추출물의 억제 효과를 premyeloblastoma cell line인 HL-60를 사용하여 측정하였다(Jen-Kum Lin et. al. 2000). HL-60 세포를 5×10^5 cell/ml의 밀도로 10% FBS가 함유된 RPMI 1640배지를 사용하여 세포수를 조절한 다음, 1.4%의 DMSO를 첨가, 8일간 배양하여 세포를 호중구로 분화시켰다. 세포의 분화정도를 육안으로 확인한 후, HL-60세포를 PBS에 현탁하고 여기에 $50 \mu\text{M}$ 의 dichlorofluorescein diacetate(DCF-DA)와 농도별 유색미 추출물을 첨가하여 37°C 에서 15분간 반응한 다음, 160 nM 의 TPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)를 첨가하여 다시 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 세포의 형광 발현정도를 FACs(FACS station, Becton-Dickson, U.S.A)를 사용한 flow cytometry로 측정하였다.

1-6. 발암개시 억제활성의 측정

(1-6-1) 항돌연변이 활성의 검정

37°C 에서 하룻밤 배양한 *E. coli* PQ37을 배지로 10배 희석한 후, 다시 2시간 배양한다. 이것을 다시 4배 희석하고 여기에 6 ng/ml 의 mitomycin C와 적정농도의 싼 추출물을 넣고 37°C 에서 1.5시간 배양한다. 배양액 중 0.2 ml 를 취하여 1.8 ml 의 B buffer ($60 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mM KCl , $40 \text{ mM NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $1 \text{ mM MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $50 \text{ mM } \beta\text{-mercaptoethanol}$, pH 7.0)와 1.6 mg 의 ONPG를 넣어 30°C 에서 30분간 반응시킨다. 반응을 Na_2CO_3 로 정지시킨 다음, 420 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 세균세포수는 *E. coli*에서 항상 발현하는 효소인 alkaline phosphatase에서 추정하였다. 배양액 0.2 ml 에 1.8 ml 의 P buffer (1 M Tris , $0.1\% \text{ SDS}$)와 1.6 mg 의 PNPP를 첨가한 다음 37°C 에서 30분간 반응시킨다. 최종농도 0.6 N 의 염산으로 반응이 정지된 반응액에 0.8 ml 의 2 M Tris 를 넣고 420 nm 에서 흡광도를 측정한다. 효소활성은 $[1,000 \times A_{420}/t, \text{ tssm 반응시간(분)}]$ 으로 나타내며, alkaline phosphatase 활성에 대한 $\beta\text{-galactosidase}$ 활성의 비율값 (R)을 구한다.

(1-6-2) DNA strand scission에 대한 억제효과의 측정

싼겨 추출물에 의한 DNA strand scission의 억제효과는 mitomycin C에 의하여 double strand supercoil DNA의 한쪽 strand에 nicking의 발생이 시료의 첨가로 인하여 억제되는 정도를 측정하는 Ueda 등의 방법에 따라 수행하였다. 즉 $0.2 \mu\text{g}$ 의 $\Phi\text{X174 RF DNA}$ 를 100 mM 의 mitomycin C와 0.5 mM 의 sodium borohydride 및

0.1mM의 CuCl₂의 조건하에서 10mg/ml의 시료를 첨가한 다음, 37°C 1시간동안 반응 후, 반응정지액(50% glycerol, 0.1M EDTA, 0.1% bromophenol blue)을 첨가하여 1XTAE buffer로 완충시킨 1% agarose gel에서 전기영동을 수행하였다. 실패 시 추출물의 성분이 전기영동을 방해할 경우는 반응액중의 DNA를 Qiagen사의 DNA extraction kit로 정제한 다음, 전기영동에 사용하였다. 전기영동이 끝난 gel을 ethidium bromide로 염색한 다음, UV transilluminator로 super coiled DNA(RF II)을 확인하고 각 DNA band의 intensity를 Image analyzer(Bio Image 50S Series, B.I. system Corp., USA)로 측정하여 RF I에서 RF II로 전환한 비율을 계산하였다.

(1-6-3) Tumor initiation 억제활성의 측정

Chinese hamster lung cell 유래의 V79 cell line을 지시세포로 각종 mutagen이 보유한 tumor initiation에 대한 억제 활성 뿐 아니라 시료가 가지는 antimutagen 활성을 측정하였다(Kuroda Y. et. al 1996). 지수성장기의 세포를 수집하여 5×10⁴개 세포를 Φ 100 dish에 접종하여 세포가 부착하는 24시간 정상 배지에서 배양한 후, free media에 mutagen과 시료를 pre-mix하여 3시간 동안 처리하였다. 5일간 배양한 다음, 세포를 회수하여 plate당 5×10²개 세포를 접종하여 정상배지에서 7일간 배양하여 colony 형성능(CFA)을 측정하였고, plate당 10⁵개 세포를 5 μ g/ml의 6-TG 배지에서 7일간 배양하여 6-TG 저항성을 가진 tumor initiation이 시작된 화학적 발암원에 유도된 돌연변이 빈도(IMF)를 측정하였다.

$$\text{Colony-forming ability of replated cells} = \frac{\text{number of cell colony}}{\text{number of inocula cell } (5 \times 10^2)}$$

$$\text{Induced mutant frequency} / 10^5 \text{ cell survivors} = \frac{\text{number of mutant cell colony with 6-TG resistant phenotype}}{\text{Colony-forming ability}}$$

시료가 가지는 세포독성은 다음의 방법으로 측정하였다.

지수성장기의 세포를 수집하여 5×10²개 세포를 Φ 100 dish에 접종하여 세포가 부착하는 24시간 정상 배지에서 배양한 후, free media에 시료를 적당량 희석하여 3시간 동안 처리하였다. 정상적인 배지에서 7일간 배양 후 methanol로 세포를 고정하고 Giemsa staining으로 세포를 염색하였다. 계산 방법은 free media를 처리하였을 때 생존률을 100%로 계산하여, 상대적 생존률을 구하였다.

$$\text{Survival \%} = \frac{\text{colony number of treated diluted sample}}{\text{colony number of treated free media}} \times 100$$

1-7. 배양세포를 이용한 면역기능 제어활성의 측정

(1-7-1) 대식세포의 nitric oxide(NO) 생성에 대한 제어활성

Mouse macrophage계열인 RAW264.7 세포주를 지시세포로 사용하였고, 10% FBS, 100 unit/ml penicillin 및 streptomycin를 포함하는 D-MEM 배지에서 37°C의 5% CO₂를 포함하는 포화습도 공기조건 하에서 배양하였다. Mg²⁺, Ca²⁺가 포함되지 않은 PBS로 3회 세척한 배양 세포를 0.25% trypsin을 처리하여 세포를 dish에서 떼어낸 후, 세포를 96 well plate에 well당 1×10⁵ cells의 밀도가 되도록 분주하였다. 최종농도 100 ng/ml이 되도록 LPS 첨가하여 자극한 세포에 각각 1, 10, 100µg/ml이 되도록 유새미 시료를 배지에 첨가하여 5% CO₂, 37°C 조건 하에서 48시간 배양 후, 회수한 상층액 가운데 100µl에 동량의 Griess solution[0.05% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, 0.5% sulanilamide, 2.5% H₃PO₄]를 넣고 15분간 방치한 후, ELISA reader(Model 550, Bio-Rad, USA)에서 측정파장 470 nm, reference 파장 650 nm에서 측정하였다. 정량을 위한 표준곡선은 sodium nitrite(NaNO₂)를 사용하여 작성하였고 이를 기준으로 NO의 양을 계산하였다.

(1-7-2) 대식세포 분비 matrix metalloproteinase(MMP) 생성에 대한 제어활성

대식세포의 화학주화성의 한가지 지표로서 대식세포가 기저막을 통과하여 이동할 때 분비하는 MMP의 활성을 Zymography로 다음과 같이 측정하였다.

96 well plate에 1×10⁵ cell씩 분주한 RAW264.7 세포를 적당량의 시료를 처리한 후, 48시간 동안 37°C의 5% CO₂를 포함한 포화습도 공기에서 배양하였다. 배양 후, 회수한 상층액 중 100µl를 취하여 동량의 비환원조건의 sample buffer(50mM Tris-Cl, 2% SDS, 0.1% bromophenol blue, 10% glycerol, pH 6.8)를 첨가하여 실온에서 10분간 방치하여 단백질 시료를 제조하였다. 시료를 1% gelatin이 포함된 10% acrylamide buffer(2.5% Triton X-100)로 15분씩 3회 37°C 배양기에서 방치 후, zymogram buffer(50mM Tris, 10mM CaCl₂, 50mM NaCl, pH 7.6)로 30분간 gel을 세척하고 나서, 20시간 이상 zymogram buffer에 보존하였다. 반응이 끝난 gel을 2.5% coomassie solution에서 염색한 후, destaining buffer(45% methanol, 10% acetic acid)로 탈색시켜 단백질 band를 확인하였다.

(1-7-3) 호염구세포의 histamine 방출에 대한 제어활성

Rat의 basophilic cell line인 RBL-2H3 세포주를 지시세포로 사용하였다. 세포는 10% FBS, 100 unit/ml의 penicillin 및 streptomycin를 포함하는 D-MEM배지를 넣고 37°C의 5% CO₂를 포함하는 포화습도 공기조건 하에서 배양하였다. 실험에 사용할

세포는 Mg^{2+} , Ca^{2+} 가 포함되지 않은 PBS로 세척한 다음, 0.25% trypsin으로 처리하여 dish에서 수거하였다. 수거한 세포에 tyroid buffer(137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.8 mM $CaCl_2$, 1.1 mM $MgCl_2$, 11.9 mM $NaHCO_3$, 0.4 mM NaH_2PO_4 , 5.6 mM glucose, pH 7.2)로 세포밀도를 1×10^6 cell/ml로 조절한 후에 24 well plate에 분주하였다. 여기에 농도별 유색미 시료를 첨가하여, 37°C 배양기에서 15분간 방치한 다음, Ionophore A23187을 최종농도가 10 μM 이 되도록 첨가하고 20분간 배양기에서 재차 방치하였다. 반응 후, 4°C 10분간의 처리로 반응을 종결시키고 나서 상정액을 회수하였다. Histamine의 정량은 Shore가 보고한 fluorometer를 이용한 측정방법을 약간 변형하여 다음과 같이 수행하였다. 회수한 상정액 1ml에 0.2ml의 1N NaOH, 0.1ml의 1% OPT(o-phthalaldehyde)를 첨가하고 실온에서 5분간 방치하였다. 여기에 1N HCl을 0.2ml 첨가하여 반응을 종결시킨 다음, fluorometer(RF-550, Shimazu, Japan)를 사용하여 360nm의 excitation 파장과 450nm의 emission은 파장에서 측정하였다.

1-8. 실험동물을 이용한 면역기능 및 항암활성 평가

(1-8-1) 악성 종양세포주의 이식

마우스 melanoma 세포주인 B16F1를 10% FBS와 항생제가 포함된 D-MEM배지에서 37°C, 5% CO_2 배양기에서 배양하여 5×10^5 cells/ml의 농도가 되도록 키운 후, 식이 3주째에 C57BL/c 마우스에 1ml씩 피하주사를 놓는다.

(1-8-2) 복강 대식세포의 분리 및 배양

실험에 필요한 복강대식세포를 분리하기 위하여, 쥐의 희생 4일전에 4% thioglycollate broth 1ml을 C57BL/c 마우스에 복강주사를 놓는다. 경추탈골로 희생시킨 마우스의 복부의 가죽을 절개하여 복막이 드러나도록 한다. PBS 10 ml을 주사기를 이용하여 복막안에 주입을 한다. 복부를 30초가량 마사지를 수행한 후, 다시 주사기를 사용하여 회수한다. 회수한 세포부유액은 15 ml tube에 담아 1,000 rpm에서 5분간 원심분리를 한다. 상층액은 제거하여 세포침전물에 10% FBS 및 항생제가 포함된 RPMI 1640 배지를 넣고 세포를 현탁한 후, 100 mm 세포배양접시에 넣고, 37°C, 5% CO_2 조건 하에서 2시간 이상 두어 부착하지 않은 세포는 제거하고 부착세포만 배양한다.

(1-8-3) 대식세포 섭취작용능의 측정

배양된 대식세포를 PBS로 세 번 세척을 하고 0.25% Trypsin을 처리하여 대식세포를 회수한다. 회수된 세포를 0.4% trypan blue을 동량을 넣고 세포수를 측정한다. 세

포수가 1×10^6 cells/ml 되도록 HBSS 용액에 현탁한다. 현탁한 세포에 HBSS에 10배 희석한 zymosan과 HBSS에 10배 희석한 luminol을 암실하에서 0.1 ml씩 집어넣고, 빛을 차단한 조건에서 37°C shaking incubator에서 30분간 배양한다. luminometer(Turner Designs)로 그값을 측정한다.

1-9. 통계분석

3회 이상 실험의 평균치는 mean±SD로 표시하였으며, 반복실험 평균치간의 유의성은 SAS software를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의해서 검증하였고 P <0.05에서 평균값 간의 유의적 차이를 구하였다.

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. Linoleic acid의 지질과산화에 대한 억제활성

생체막 내에 흔히 존재하는 불포화지방산인 linoleic acid를 산화기질로 하여 *in vitro*에서 유발된 지방산의 과산화를 지표로 이것을 억제하는 시료의 활성을 측정하는 방법이 가장 초보적이면서도 보편적으로 사용되는 지질과산화 억제활성의 측정법이다. 본 실험에서는 연구방법에서 기술한 protocol에 의거, 각 특수미의 지질과산화 억제활성을 측정하였고 그 결과는 <표3-1>과 같다. linoleic acid 과산화에 대한 억제활성은 홍국균쌀이 가장 높았으며, 합성항산화제로 사용되는 BHT와 거의 비슷한 수준의 억제활성을 보였다. 그 다음으로는 식이섬유 강화쌀이었고 상황버섯쌀>동충하초쌀>아가리쿠스쌀의 순로 활성이 나타났다.

<표3-1> Linoleic acid model system을 이용한 특수미의 linoleic acid 과산화 억제효과

	Antioxidative ability	
	Optical density(500nm)	% of inhibition
Control	0.10±0.01	0.00
BHT	0.01±0.00	87.85
백미	0.06±0.06	39.91
발아현미	0.30±0.09	72.25
무발아현미	0.65±0.02	39.67
발아거대미	0.23±0.04	78.40
무발아거대미	0.26±0.04	76.26
발아유색미	0.20±0.01	81.84
무발아유색미	0.21±0.03	80.91
홍국균쌀	0.12±0.00	86.87
동충하초쌀	0.03±0.00	66.49
상황버섯쌀	0.03±0.00	71.40
아가리쿠스쌀	0.06±0.01	41.35
식이섬유강화쌀	0.03±0.00	74.39

Values are expressed as mean ± SD (n=3).

2-2 Erythrocyte membrane ghost 막지질 과산화 억제활성

지질 과산화 활성의 평가에 대한 각 기능성 특수미의 억제활성을 *in vivo*에 가까운 조건에서 조사하기 위하여 토끼 적혈구막을 이용한 생체막의 지질 과산화 억제활성을 측정할 수 있는 실험 시스템을 확립하였다. 실험법은 기본적으로 Tsuda 등의 방법을 이용하여 지질과산화물을 TBARS로 측정하는 것으로서, 지질과산화를 인위적으로 유발시키기 위한 *tert*-buthylhydroperoxide (t-BuOOH)의 농도 및 지질과산화를 최대한으로 유발시키기 위한 반응시간을 결정하기 위한 실험 조건을 확립하고자 하였다.

실험 결과, 그림3-1에서와 같이 t-BuOOH의 농도는 1.2 mM이 적당한 것으로 나타났고, 적혈구막의 지질과산화는 37℃에서 30분 처리로 충분히 최대값에 도달할 수 있음을 알았다 (그림3-2). 지용성 항산화제인 Vitamin E 1 mM의 첨가로 지질과산화가 완전히 억제되는 것으로 보아, 본 시스템을 이용한 지질과산화 억제활성 측정이 가능함을 알 수 있었다.

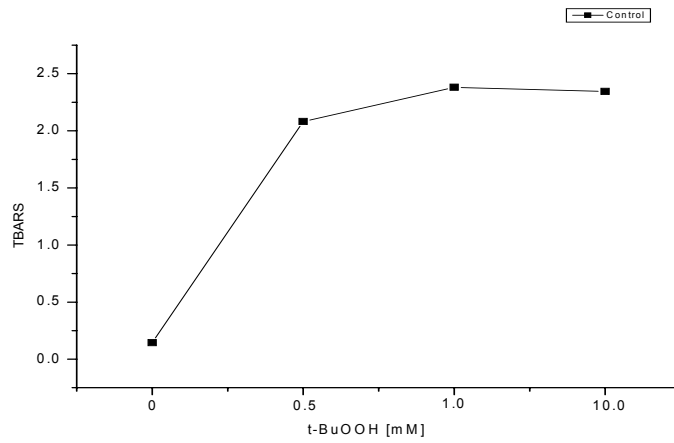


그림 3-1. The extent of erythrocyte ghost membrane lipid peroxidation at each concentration of t-BuOOH(tert-buthylhydroperoxide)

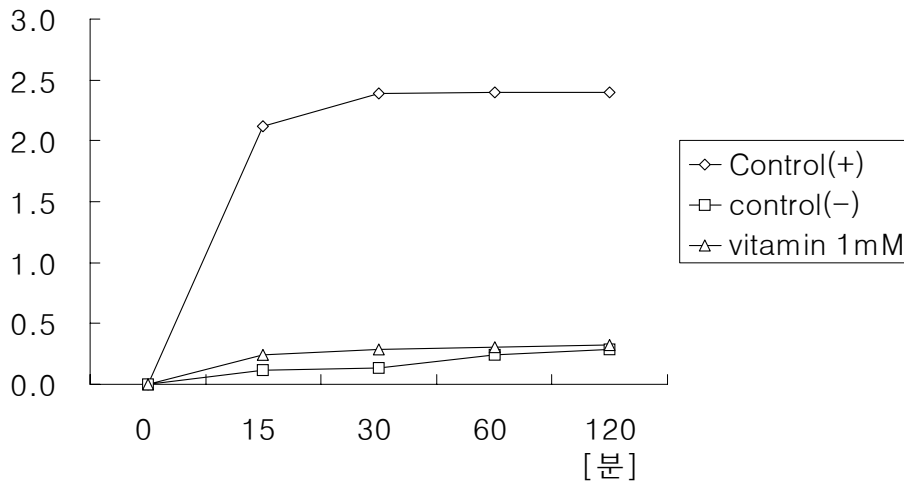


그림 3-2. Incubation time dependent increase of erythrocyte ghost membrane lipid peroxidation and inhibitory effect of vitamin E.

이상의 실험조건하에서 발아미와 버섯쌀등의 특수미 추출물이 가지는 지질과산화 억제활성을 측정하였다. 그 결과, <표3-2>에서 보듯이 무발아 현미가 가장 활성이 높았고 그 다음이 발아현미, 발아거대미의 순서였다. 특수미 중에서 무발아 유색미와 홍국균쌀은 이 실험 시스템에서는 거의 지질과산화 억제활성을 검출할 수 없었다

<표3-2> 토끼 적혈구 막지질을 이용한 특수미 추출물의 지질과산화 억제활성

Extracts	TBA values (at 535nm)	Inhibition (%)
Positive control	0.19±0.00	0
Vit C	0.12±0.00	35.1
발아현미	0.16±0.01	11.5
무발아현미	0.15±0.01	22.5
발아거대미	0.16±0.03	15.2
무발아거대미	0.17±0.02	9.3
발아유색미	0.18±0.04	4.3
무발아유색미	0.20±0.03	-4.9
동충하초쌀	0.18±0.00	5.6
식이섬유쌀	0.18±0.03	3.6
아가리쿠스쌀	0.17±0.02	8.47
상황버섯쌀	0.17±0.01	9.7
홍국균쌀	0.23±0.01	-20.0
녹 차	0.16±0.01	13.9
현 미	0.21±0.01	-9.5
백 미	0.18±0.01	2.9

Values are expressed as mean ± SD (n=3).

2-3. Reducing power의 측정

특수미 중에서 거대배아미인 신선찰거대미, 화청거대미, 남풍거대미를 선정하여 각각을 발아시킨 다음, 발아미가 갖는 reducing power를 무발아미와 비교함으로써 발아처리가 특수미의 생리활성에 미치는 영향을 비교하였다 (그림3-3 및 표3-3). 실험의 결과, 화청거대미의 경우, 발아에 의하여 생리활성 기능 중의 하나인 환원력이 유의하게 증가하는 것을 알 수 있었다. 이 실험으로 단정할 수는 없지만 환원력의 증가는 일반적인 항산화활성의 증가를 하며, 진도보고서 및 다음에서 조사한 바와 같이 발아처리된 화청거대미가 superoxide radical 및 hydroxyl radical에 대한 scavenging activity가 현저히 증가되는 현상과 일치함을 알 수 있었다.

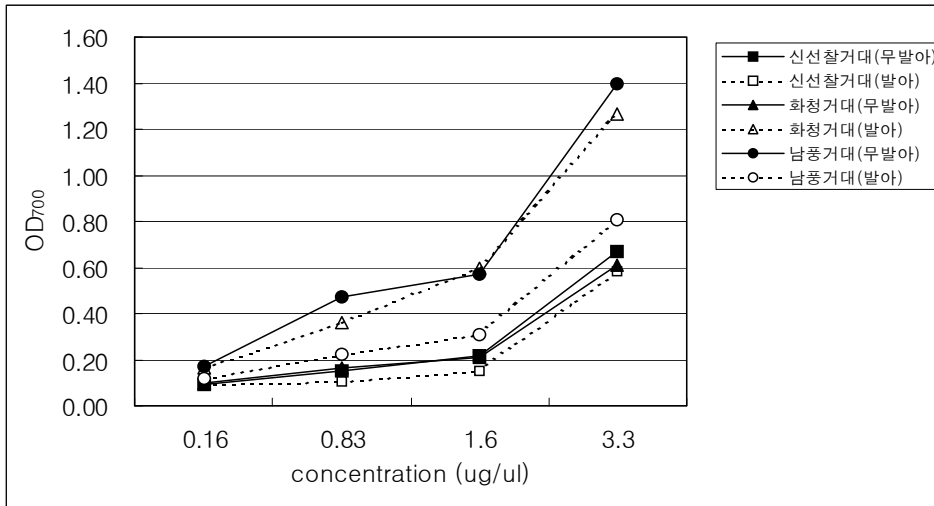


그림3-3. Comparison of reducing powers between the germinated and ungerminated giant embryo cultivars.

<표3-3> 거대배아미 품종별 발아처리에 의한 reducing power의 비교

Experiments		Absorbance at 700nm			
		0.16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.83 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	1.6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	3.3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
일반미	Not-germinated	0.17±0.01	0.35±0.01	0.53±0.02	1.07±0.10
	Germinated	0.11±0.01	0.13±0.01	0.23±0.02	0.63±0.06
신선찰거대 배아미	Not-germinated	0.09±0.01	0.15±0.01	0.21±0.01	0.67±0.04
	Germinated	0.09±0.01	0.11±0.01	0.15±0.01	0.59±0.03
화청거대배아미	Not-germinated	0.10±0.01	0.16±0.03	0.21±0.03	0.61±0.02
	Germinated	0.16±0.01	0.36±0.03	0.60±0.03	1.27±0.08
남풍거대배아미	Not-germinated	0.17±0.01	0.47±0.02	0.57±0.02	1.40±0.14
	Germinated	0.12±0.01	0.22±0.02	0.31±0.02	0.81±0.02

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

다음에는 발효미나 유색미 등 특수미에 대한 reducing power를 측정하였다. 그림 3-3 및 <표3-4>에서 나타난 것처럼 3.3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도에서도 상황버섯쌀, 식이섬유강화쌀, 아가리쿠스쌀의 reducing power는 낮은 편이었다. 그러나 이와 같은 특수미 제조의 원료가 되는 백미에 비교하면 최소 2배이상의 reducing power가 관찰되었다. 진균발효쌀 중에서는 홍국균쌀이 유의할만한 활성을 가지고 있었다. 발아처리하지 않은 유색미의 reducing power는 녹차추출물과 같은 수준이었지만 발아처리하면 활성이 감소하는 것을 볼 수 있었다.

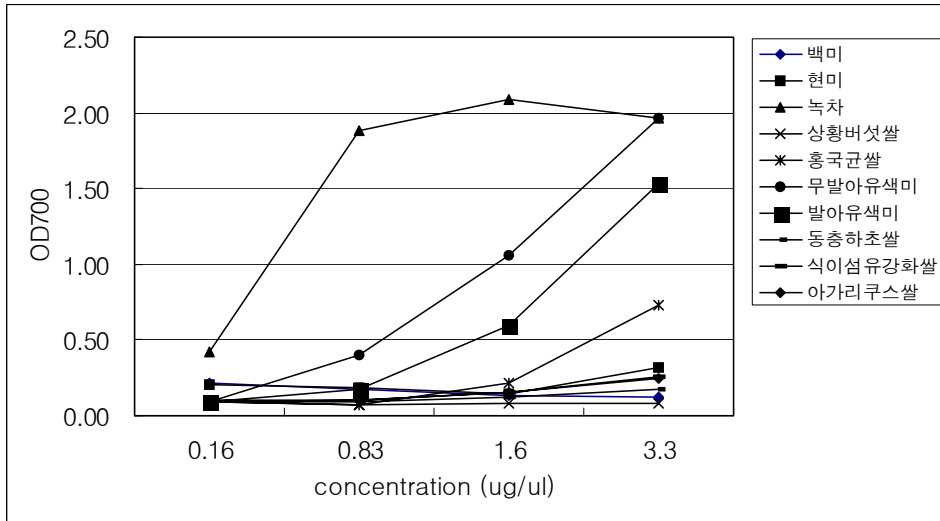


그림 3-4. Comparison of reducing powers between the specialty rices

<표 3-4> 특수미의 reducing power

Experiments	Absorbance at 700nm			
	0.16 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.83 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	1.6 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	3.3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
백 미	0.22±0.06	0.17±0.04	0.13±0.04	0.13±0.08
발아현미	0.09±0.00	0.08±0.02	0.11±0.02	0.23±0.03
무발아현미	0.08±0.01	0.11±0.03	0.14±0.04	0.18±0.05
발아거대미	0.10±0.01	0.12±0.01	0.29±0.09	0.76±0.27
무발아거대미	0.09±0.00	0.09±0.02	0.18±0.03	0.25±0.07
발아유색미	0.10±0.00	0.17±0.07	0.60±0.20	1.54±0.20
무발아유색미	0.09±0.01	0.40±0.12	1.06±0.14	1.96±0.16
녹 차	0.42±0.34	1.88±0.25	2.09±0.06	1.97±0.03
상황버섯쌀	0.09±0.00	0.07±0.00	0.08±0.01	0.09±0.02
홍국균쌀	0.09±0.00	0.07±0.02	0.21±0.12	0.73±0.08
동충하초쌀	0.10±0.00	0.10±0.02	0.12±0.01	0.19±0.03
식이섬유쌀	0.10±0.00	0.10±0.02	0.15±0.03	0.25±0.03
아가리쿠스쌀	0.10±0.01	0.10±0.01	0.16±0.04	0.25±0.01

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-4 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능의 측정

Radical scavenging activity를 측정하는 가장 보편적인 방법으로는 인공적인 라디칼인 DPPH에 대한 시료의 전자공여능력을 측정하는 것이다. 연구방법에서 소개한 protocol에 의하여 실험을 수행한 결과를 <표3-5>에 정리하여 나타내었다. DPPH 라디칼에 대한 전자공여능의 활성은 홍국균쌀>동충하초쌀>식이섬유강화쌀>아가리쿠스쌀>상황버섯쌀의 순서였다. 홍국균쌀은 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성이 가장 우수한 것으로 나타난 특수미로서 이와 같은 지질과산화 억제현상은 많은 부분 시료의 라디칼 소거활성에 기인할 가능성을 암시하고 있었다.

<표3-5> 특수미의 DPPH 라디칼에 대한 전자공여능

Experiments	DPPH radical scavenging activity	
	Optical density(at 517nm)	Scavenging(%)
Control	0.54 \pm 0.01	0.00
1%Vit C	0.04 \pm 0.00	93.29
1%Vit E	0.05 \pm 0.01	90.91
1%BHT	0.04 \pm 0.01	91.89
백미	0.44 \pm 0.01	19.53
현미	0.32 \pm 0.01	41.53
홍국균쌀	0.08 \pm 0.06	84.98
동충하초쌀	0.12 \pm 0.01	77.60
상황버섯쌀	0.34 \pm 0.02	36.67
아가리쿠스쌀	0.13 \pm 0.03	75.46
식이섬유강화쌀	0.13 \pm 0.01	76.67

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-5 Superoxide Radical scavenging 활성의 측정

(2-5-1) Superoxide radical 측정방법의 확립

ESR spectroscopy에서 불안정한 superoxide radical을 비교적 안정한 superoxide radical spin adduct로 전환시키는데 diethylenaminepentaaceticacid (DMPO)를 사용

하였다. 따라서 spin adduct로 사용된 DMPO의 적정량을 결정하고 Xanthine oxidase에 의한 superoxide radical의 최적 발생조건을 먼저 설정하였고, 실험결과, <그림3-5>에서와 같이 DMPO의 농도는 0.69M이 가장 적정 수준이였고 superoxide radical의 최적발생 반응시간은 xanthine oxidase 첨가 후 85~90초로 나타났다 (그림 3-6).

이상의 실험조건하에서 <그림3-7>과 같이 ESR spectroscopy를 통하여 불안정한 superoxide radical을 직접 검출할 수 있게 되었고, 이를 다음단계의 superoxide radical scavenging activity를 측정하는 기본도구로 사용하였다.

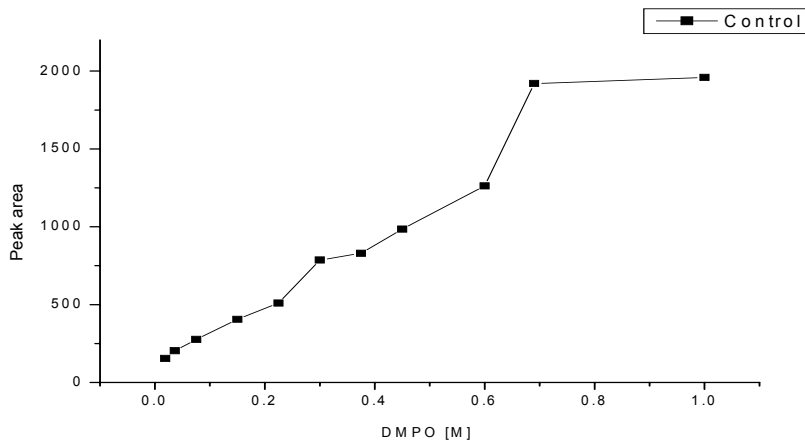


그림3-5. The level of DMPO-OOH generation at each concentration of DMPO.

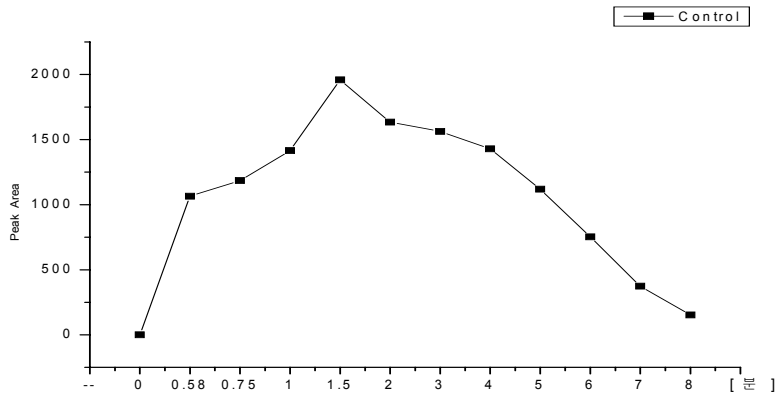


그림3-6. Time course of DMPO-OOH generation.

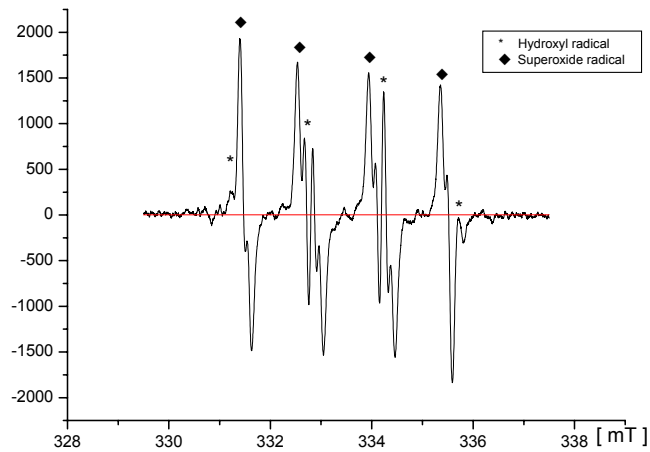


그림3-7. ESR spectroscopic diagram showing superoxide radical spin adducts.

(2-5-2) 특수미의 superoxide radical scavenging 활성

이상에서 기술한 조건을 참조하여 측정한 발아특수미 및 발효특수미가 가지는

superoxide radical scavenging 활성을 <표3-6> 및 <표3-7>에 정리하였다. 우선 특수미인 거대 배아미 3품종에 대하여 종자의 발아가 이들이 보유한 생리활성 중 superoxide radical scavenging 효과에 미치는 영향을 조사하였다. <표3-5>의 결과와 같이 일반미는 발아 과정이 superoxide radical 소거활동에 거의 영향을 주지 않는 반면 3품종의 거대 배아미는 발아 처리가 라디칼 소거활성의 현저하게 높혀주었고, 특히 화청 거대 배아미는 발아에 의하여 5배 이상 superoxide radical 소거활성이 높아짐을 알 수 있었다.

<표3-6> 발아처리에 의한 거대배아미의 superoxide radical 소거활성의 비교

Cultivars		Superoxide radical scavenging(%)	
		0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
일 반 미	Not-germinated	-7.56±1.59	14.99±2.84
	Germinated	-10.51±1.96	8.99±1.20
화청거대배아미	Not-germinated	-9.24±0.88	14.41±1.042
	Germinated	-24.37±1.45	23.83±1.98
남풍거대배아미	Not-germinated	9.13±0.92	39.97±1.98
	Germinated	-21.43±2.21	25.03±1.36

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

발아처리 및 무발아처리 거대배아미 이외에 발효쌀 및 기타 특수미의 superoxide radical scavenging 활성을 ESR spectroscopy로 측정하였다. 본 실험에서 사용한 superoxide radical은 HPX/XOD system에서 발생한 것이기 때문에 시료의 라디칼 소거활성이 xanthine oxidase에 대한 시료의 직접적인 억제활성에 기인할 가능성이 있기 때문에 xanthine oxidase에 대한 억제활성도 동시에 측정하였다 (표3-7). 측정 결과, 발아유색미의 소거활성이 가장 높았고, 동충하초쌀>홍국균쌀>아가리쿠쌀의 순서로 활성이 검출되었으며, 식이섬유강화쌀의 활성은 매우 낮았다. 각 시료의 농도에 서 xanthine oxidase의 활성이 심하게 저해되지 않는 것으로 나타났다.

<표3-7> 특수미의 superoxide radical 소거활성 비교

	superoxide radical scavenging (%)		xanthine oxidase inhibition (%)	
	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
백미	0.00±2.48	3.03±3.14	-22.05±0.04	-7.31±0.02
녹차	89.44±0.41	82.30±0.29	113.98±0.09	56.24±0.02
발아현미	25.52±3.03	-15.44±0.22	15.18±2.19	21.13±0.36
무발아현미	11.55±1.16	18.38±0.74	-47.51±0.02	-3.86±0.02
발아거대미	43.17±4.04	12.53±0.11	7.88±0.16	8.28±0.55
무발아거대미	25.56±1.53	1.70±0.18	16.49±0.96	23.93±1.32
발아유색미	85.75±0.43	53.53±1.26	26.74±0.10	6.01±0.57
무발아유색미	91.54±1.20	66.20±1.92	35.42±2.05	22.87±1.32
상황버섯쌀	41.27±0.99	15.73±0.03	10.89±0.06	5.05±0.48
홍국균쌀	75.16±1.25	33.86±0.88	9.84±0.07	-1.03±0.57
발아유색미	85.73±0.43	53.53±1.26	26.74±0.09	0.45±0.58
동충하초쌀	70.91±0.84	36.43±0.03	-36.54±0.18	6.76±0.56
식이섬유쌀	16.24±0.63	11.54±2.42	-12.65±0.18	3.11±0.51
아가리쿠스쌀	65.46±0.15	25.66±1.51	-120.17±0.09	4.13±0.56

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-6. Hydroxyl Radical scavenging 활성의 측정

(2-6-1) Hydroxyl radical 측정방법의 확립

Hydroxyl radical은 FeSO_4 와 H_2O_2 를 이용하여 Fenton reaction 의 결과 생성되는 라디칼을 spin adduct인 DMPO와 반응시켜 DMPO-OH로 전환시킨 후 ESR spectroscopy를 이용하여 측정하였다 (그림3-8).

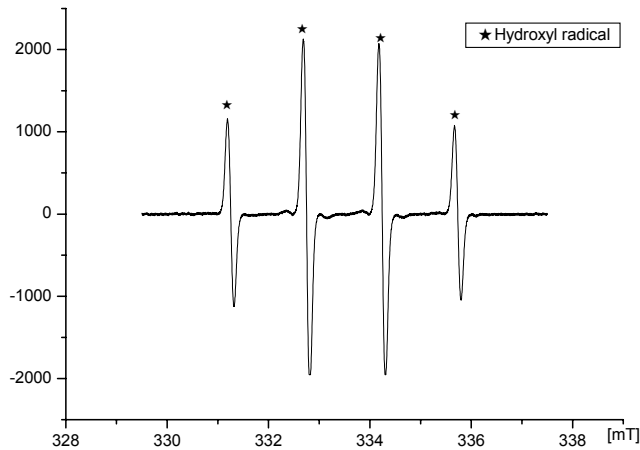


그림3-8. ESR spectroscopic diagram showing hydroxyl radical spin adducts.

(2-6-2) 특수미의 hydroxyl radical scavenging 활성

거대 배아미 3품종에 대하여 종자의 발아가 이들이 보유한 hydroxyl radical 소거 효과에 미치는 영향을 일반미를 대조구로 하여 조사하였다. <표3-8>의 결과와 같이 일반미는 superoxide radical 활성에서 보여준 경향과 비슷하게 발아에 의하여 오히려 hydroxyl radical 에 대한 소거활성이 감소하는 반면, 거대 배아미에서는 신선찰 거대 배아미를 제외한 화청 거대 배아미 및 남풍 거대 배아미에서 발아과정이 hydroxyl radical 소거활성을 크게 증진시키는 사실을 알았다. 특히 화청 거대배아미는 발아처리가 라디칼 소거활성을 3배 이상 증진시켰으며 조사한 3품종의 거대배아미 가운데 화청 거대배아미는 발아처리를 통하여 활성 산소 소거활성이 획기적으로 증진됨을 알았다.

<표3-8> 발아처리에 의한 거대배아미의 hydroxyl radical 소거활성의 비교

Experiments		Hydroxyl radical scavenging(%)	
		0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
일 반 미	Not-germinated	4.890±0.70	40.14±2.21
	Germinated	4.02±0.97	27.26±2.59
화청거대배아미	Not-germinated	21.11±1.06	38.18±0.53
	Germinated	22.97±1.77	64.41±0.66
남풍거대배아미	Not-germinated	22.12±3.01	57.91±1.19
	Germinated	38.87±1.71	47.59±0.01

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

발아처리 및 무발아처리 거대배아미 이외에 발효쌀 및 기타 특수미의 hydroxyl radical scavenging 활성을 ESR spectroscopy로 측정하였다. 사용한 hydroxyl radical 은 Fenton 반응을 통하여 생성된 것이기 때문에 시료의 라디칼 소거활성이 철이온에 대한 직접적인 chelation에 기인할 가능성이 있기 때문에 철이온에 대한 chelation 활성도 동시에 측정하였다. 측정 결과, <표3-9>에 나타난 것처럼 발아유색미의 소거활성이 가장 높았고, 동충하초쌀>홍국균쌀>아가리쿠쌀의 순서로 활성이 검출되었으며, 식이섬유강화쌀의 활성은 매우 낮았다. 각 시료의 농도에서 xanthine oxidase의 활성이 심하게 저해되지 않는 것으로 나타났다.

<표3-9> 특수미의 hydroxy radical 소거활성 비교

Experiments	Hydroxyl radical scavenging (%)		Fe chelation (%)	
	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
백미	21.13±3.09	-6.86±0.54	-0.77±0.018	-0.254±0.02
발아현미	59.37±2.67	20.27±	-4.57±0.76	-4.26±0.63
무발아현미	3.70±2.57	-4.96±2.67	-2.18±0.00	-1.58±0.01
발아거대미	83.04±0.62	17.40±0.20	0.92±0.02	1.32±0.03
무발아거대미	61.49±5.16	6.06±1.43	-3.00±0.19	-2.58±0.14
발아유색미	84.40±0.34	44.15±5.16	0.87±0.01	-0.49±0.01
무발아유색미	76.17±2.07	26.15±0.23	-3.11±0.59	-2.95±1.25
녹차	95.05±0.350	74.35±1.51	-1.65±0.01	-0.990±0.02
상항버섯쌀	28.45±4.27	7.08±1.14	1.77±0.01	4.144±0.04
홍국균쌀	66.90±1.44	13.78±0.89	-2.31±0.01	-1.901±0.01
발아유색미	83.11±0.090	29.64±0.55	1.61±0.02	0.437±0.00
동충하초쌀	64.28±2.06	15.66±0.69	5.75±0.01	-0.425±0.02
식이섬유쌀	45.22±0.77	5.52±0.08	1.16±0.02	-0.885±0.01
아가리쿠스쌀	54.10±2.65	17.70±0.41	4.49±0.01	5.201±0.06

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-7. Polyphenol 함량의 측정

Polyphenol 화합물은 항산화 활성을 갖는 화합물로서 식품중의 polyphenol 화합물의 함량은 식품이 가지는 건강기능성의 하나인 항산화 활성과 깊은 관계가 있다. 이와 같은 이유로 발아미 및 무발아미, 그리고 각 특수미가 가지는 polyphenol 함량을 조사하였다.

<표3-10>에서 보는 바와 같이, 현미는 발아와 더불어 polyphenol 함량이 증가하였으나, 거대미는 오히려 50%이하로 함량이 줄었고, 유색미는 발아로 인하여 다소 함량이 감소하는 결과를 보인다. 기타 특수미에서는 홍국균쌀의 polyphenol 함량이 가장 높았다.

<표3-10> 발아미 및 특수미의 polyphenol 함량

Extract	Absorbance at 725nm	phenolic acid concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
밭 아 현 미	0.0935 \pm 0.0159	17.3407
무밭아현미	0.0230 \pm 0.0025	1.7051
밭아거대미	0.0464 \pm 0.0043	6.8936
무밭아거대미	0.0843 \pm 0.0153	15.2897
밭아유색미	0.2142 \pm 0.0180	44.0961
무밭아유색미	0.2529 \pm 0.0276	52.6807
동충하초쌀	0.0570 \pm 0.0061	9.2528
식이섬유쌀	0.0564 \pm 0.0096	9.1109
아가리쿠스쌀	0.0406 \pm 0.0078	5.6149
상황버섯쌀	0.0224 \pm 0.0056	1.5721
홍국균쌀	0.2271 \pm 0.0726	46.9601
녹 차	0.9017 \pm 0.1005	196.5462
현 미	0.1103 \pm 0.0152	21.0695
밭아신선찰거대미	0.0740 \pm 0.0118	10.9106
무밭아신선찰거대미	0.0775 \pm 0.0137	13.7931
밭아화청거대미	0.1189 \pm 0.0101	22.9727
무밭아화청거대미	0.0553 \pm 0.0163	8.8596
밭아남풍거대미	0.0660 \pm 0.0168	11.2321
무밭아남풍거대미	0.0605 \pm 0.0061	10.0273
밭 아 일 반 미	0.0571 \pm 0.0157	9.2735
무 밧 아 일 반 미	0.1257 \pm 0.0188	24.4693
Vitamin C	4.3870 \pm 0.2492	969.3363

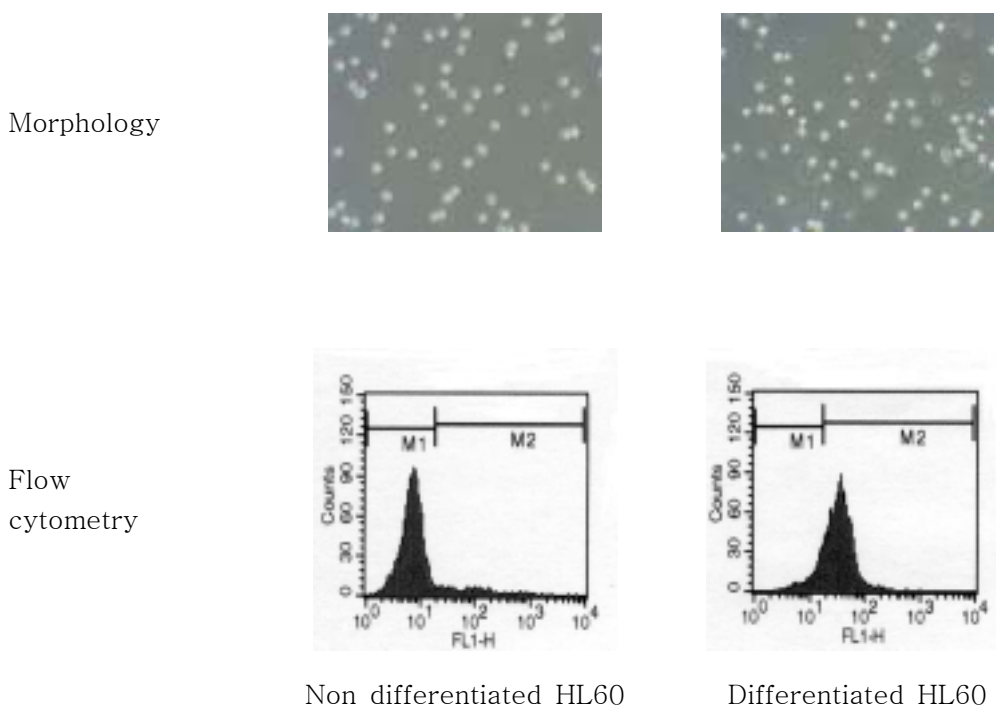
Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-8. 세포내 reactive oxygen radical에 대한 소거활성

이미 1차년도에 각 밧아미 및 특수미의 superoxide radical 및 hydroxyl radical에 대한 소거활성을 ESR spectroscopy로 측정하여 보고한 바 있다. 그러나 생체내에서

일어나는 ROS 소거 작용을 실험적으로 재현하기 위해서는 단순한 시험관내에서의 반응이 아니라 살아 있는 세포내에서 본 연구에서 사용한 각 시료의 ROS 소거활성을 측정할 필요가 있다. 이를 위해서 본 실험에서는 premyeloblastoma cell line인 HL-60를 사용하였다. HL-60는 DMSO의 자극으로 호중구로 분화되며, 분화된 HL-60는 TPA로 자극했을 때 respiratory burst가 일어나 다량의 hydroxyl radical을 생성함이 알려져 있다. 이때 세포에 DCF-DA (dichlorofluorescein diacetate)를 세포내에 투입하면 세포내에서 산화되어 발색하게 되는데, flow cytometry를 사용하면 쉽게 발색세포의 분포와 발색도를 측정할 수 있다. DMSO 처리에 의한 세포의 분화형태와 TPA처리로 인한 respiratory burst의 flow cytometry 결과를 <그림3-9>에 나타내었다. 이와 같은 원리를 사용하여 각 특수미 시료가 가지는 *ex vivo*의 ROS 소거활성을 측정하였다.

<그림3-9> HL-60 분화에 따른 형태적 변화 및 respiratory burst의 flow cytometrogram



발아미와 무발아미의 hydroxyl radical 소거활성을 측정한 결과가 <표3-11>이다. 80

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 시료농도에서 발아현미는 약 92%의 소거활성을 보였고, 발아유색미도 약 88%의 소거활성을 보였는데, 이 결과는 무발아현미와 무발아유색미의 hydroxyl radical 소거활성인 27%와 53%에 비하여 소거활성이 증가된 것을 알 수 있었다. 이에 비하여 거대배아미는 발아과정으로 hydroxyl radical 소거활성이 93%에서 35%로 오히려 감소하였다. 버섯쌀 중에서는 동충하초쌀의 소거활성이 100%로 가장 높았고 홍국균쌀은 오히려 음의 소거활성을 가지는 것으로 나타났다.

이상 조사한 각 시료별 라디칼 소거활성이 시료가 가지는 세포독성과 관련이 있는지 여부를 알아보기 위하여 TPA 처리된 분화된 HL-60의 세포생존에 미치는 시료의 활성을 $40\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 시료조건하에서 MTT 법으로 측정하였다(표3-11). 실험 결과, 무발아거대미가 약 20%정도의 세포독성을 보였을 뿐으로, 특별히 세포독성을 나타내지는 않은 것으로 보아 측정된 hydroxyl radical 소거활성의 시료별 차이가 시료의 세포독성에 기인한 것은 아니라는 결론을 얻었다.

<표3-11> 세포내 ROS 소거활성

Experiments	ROS scavenging activity (%)		
	40 $\mu\text{g}/\text{ml}$	80 $\mu\text{g}/\text{ml}$	120 $\mu\text{g}/\text{ml}$
발아현미	24.00±3.54	92.77±1.75	96.81±4.08
무발아현미	15.78±1.28	27.08±3.31	19.44±2.41
발아거대미	-31.99±3.000	35.55±6.59	92.81±3.02
무발아거대미	64.32±12.19	93.53±1.53	100.93±2.99
발아유색미	34.72±4.70	88.029±6.51	101.53±2.50
무발아유색미	33.91±4.25	53.10±1.81	50.62±4.81
동충하초쌀	92.96±0.36	100.60±2.51	101.05±1.03
식이섬유쌀	59.37±4.000	93.06±3.88	88.38±2.49
아가리쿠스쌀	83.34±5.08	89.95±1.77	90.29±2.55
상황버섯쌀	10.13±3.63	11.13±2.75	29.11±2.73
홍국균쌀	-224.95±21.10	-283.04±22.98	-377.99±46.39

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-9. 항돌연변이 활성의 검정

특수미의 항암활성을 평가하기 위한 첫 단계로서, 각 특수미가 보유한 항돌연변이 활성을 측정하였다. <표3-12>에 나타난 것처럼, 항돌연변이 활성은 동충하초쌀>홍국균쌀, 상황버섯쌀>식이섬유강화쌀>아가리쿠스쌀의 순서였다. 특히 동충하초쌀의 경우, 기타 특수미와 비교하여 항돌연변이 활성이 매우 높다는 사실을 알았다.

또한 거대배아미의 경우는 <표3-13>에서 보듯이 발아 거대배아미가 우수하였으며 특히 발아된 화청 거대배아미와 남풍 거대배아미의 활성이 우수하였다.

<표3-12> 특수미의 항돌연변이 활성

Experiments	β -Galactosidase (units)	Alkaline phosphatase (units)	R-factor	Antimutagenicity (%)
Negative control	6.71±0.57	40.37±0.97	0.19	100.00
Positive control	19.19±0.24	14.69±1.07	1.31	0.00
백미	18.18±1.43	15.77±1.10	1.20	10.20
현미	18.65±0.47	18.44±0.56	1.01	26.86
홍국균쌀	16.34±1.99	19.62±1.27	0.85	41.49
동충하초쌀	9.55±0.39	14.16±1.15	0.68	56.12
상황버섯쌀	14.17±0.39	16.88±1.82	0.85	41.31
아가리쿠스쌀	15.35±0.93	15.97±0.91	0.96	31.12
식이섬유쌀	14.61±1.48	16.04±0.72	0.91	35.64

Values are expressed as mean ± SD (n=3).

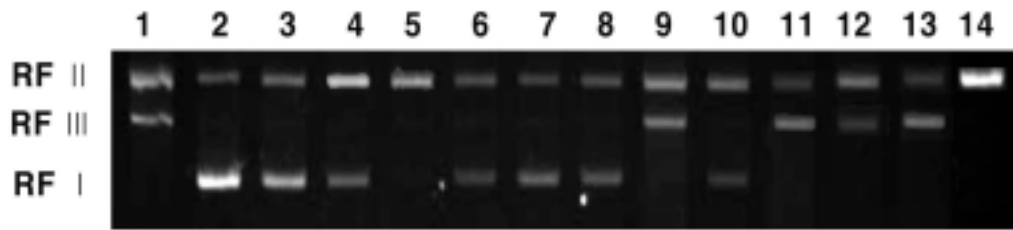
<표3-13> 거대배아미 2품종의 항돌연변이 활성

Experiments		β -Galactosidase (units)	Alkaline phosphatase (units)	R-factor	Antimutagenicity (%)
Negative control		5.62±0.55	36.51±2.17	0.16	100.00
Positive control		2.46±3.17	27.87±1.73	0.88	0.00
일반미	Not-germinated	21.92±1.38	25.16±2.20	0.88	1.10
	Germinated	23.84±0.98	32.25±1.57	0.74	20.00
화청거대 배아미	Not-germinated	21.41±0.71	28.32±1.84	0.78	17.10
	Germinated	20.89±1.45	37.66±2.77	0.65	45.66
납퐁거대 배아미	Not-germinated	23.61±1.23	31.18±1.95	0.76	13.93
	Germinated	22.54±1.57	34.67±2.03	0.55	32.28

Values are expressed as mean \pm SD (n=3).

2-10. DNA strand scission 발생에 대한 억제활성 평가

종양발생의 첫 단계는 DNA의 돌연변이가 발생하거나 DNA의 손상이 발생하여 손상수복 과정에서 염기의 돌연변이가 발생하는 것으로 생각된다. 따라서 본 실험에서는 in vitro에서 돌연변이원의 하나인 mitomycin C에 의하여 유도된 DNA의 손상이 각종 쌀 추출물의 첨가로 억제될 수 있는지를 조사하였다. DNA strand scission이 발생정도는 Φ X 174 RF DNA(RF I)가 한쪽 사슬의 손상이 일어나면 RF II DNA로 전기영동상에서 phase가 전환되며, 양쪽 쇠에 모두 손상이 일어나 linear DNA가 되면 RF III형으로 전환되는 정도로 판단하였다. <그림3-10>에 실험결과가 나타나 있고 각 DNA band의 강도를 분석하여 수치화한 것이 <표3-14>이다. <표>에 나타난 것처럼 백미나 기타 벼쌀보다 현미나 거대배아미, 유색미의 DNA strand scission에 대한 억제활성이 높았다. 특히 현미는 발아에 의하여 현저히 억제활성이 증가했으며 유색미는 발아처리로 약간 활성이 감소하지만 발아, 무발아조건에서 비슷한 억제활성을 보였다. 백미는 그 자체로 DNA strand breaking activity를 보유한다. 특수미 중에는 식이섬유쌀의 억제활성이 가장 높은 반면 홍국균쌀, 아가리쿠스쌀, 상황버섯쌀은 mitomycin C에 의한 DNA strand scission를 억제하지 못하였다(표 14).



<그림3-10> 쌀 추출물의 Mitomycin C에 의한 DNA strand scission 억제효과

1,CuCl₂-처리대조구; 2,CuCl₂-비처리대조구; 3, 발아현미; 4,무발아현미; 5,발아거대배아미; 6,무발아거대배아미; 7,발아유색미; 8,무발아유색미; 9,동충하초쌀; 10,식이섬유쌀; 11,아가리쿠스쌀; 12,상황버섯쌀; 13,홍국균쌀; 14,백미

<표3-14> Mitomycin C 유도 DNA strand scission에 쌀추출물이 미치는 효과

Extracts	RF DNA phase conversion(%)		
	RF I	RF II	RF III
Control(+CuCl ₂)	0.00	63.71	36.29
Control(-CuCl ₂)	84.46	13.90	1.64
발아현미	53.08	44.53	2.39
무발아현미	22.11	72.18	5.70
발아거대미	9.34	80.24	10.42
무발아거대미	65.36	32.66	1.99
발아유색미	56.25	41.72	2.03
무발아유색미	66.69	32.49	0.81
백미	0.00	92.63	7.37
홍국균쌀	0.00	23.02	76.98
아가리쿠스쌀	0.00	28.81	71.17
동충하초쌀	4.23	69.31	26.46
상황버섯쌀	0.00	76.22	23.78
식이섬유소쌀	18.92	77.01	4.08

2-11. 세포독성의 측정

각 시료가 가지는 항암활성을 측정하기 위해서는 시료가 정상세포에 상해를 일으킬 수 있는지 여부가 측정되어야 한다. 지시세포로 사용되는 동물배양세포주는 여러 가지가 있으나 본 실험에서는 chinese hamster cell line인 V79 세포주를 지시세포로 선택하였다. 그 이유는 V79 세포주는 염색체의 수나 염색체의 형태가 정상 primary chinese hamster 세포와 동일하기 때문에 지속계대배양이 가능한 배양세포주 가운데 primary cell과 가장 유사한 특징을 가지기 때문이다. V79세포에 각 시료를 농도별로 첨가했을 때의 세포생존율을 <표3-15>에 정리하였다. 현미와 거대배아미, 유색미는 발아 무발아에 관계없이 세포사를 현저하게 일으키지 않았으나, 무발아 유색미의 세포독성이 약간 높은 것으로 나타났다. 이에 비하여 동충하초쌀, 식이섬유쌀 상황버섯쌀, 홍국균쌀은 어느정도 세포독성이 있는 것으로 판명되었으며 식이섬유쌀의 세포독성이 가장 큰 것으로 나타났다.

<표3-15> 발아미 및 특수미의 세포독성

Extracts	Cell viability(%)						
	10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	80 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	120 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	160 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
발 아 현 미	ND	ND	101.20	ND	96.04	ND	108.15
무발아현미	ND	ND	100.48	ND	103.12	ND	98.68
발아거대미	ND	ND	99.40	ND	98.92	ND	90.77
무발아거대미	ND	ND	103.96	ND	98.08	ND	101.32
발아유색미	ND	ND	101.32	ND	98.44	ND	109.47
무발아유색미	ND	ND	83.21	ND	94.84	ND	92.81
동 충 하 초	65.18	57.06	25.58	ND	0.00	ND	0.00
식 이 섬 유	77.76	80.52	10.40	0.05	0.00	ND	0.00
아 가 리 쿠 스	92.52	90.66	88.22	82.48	2.40	0.00	0.00
상 황 버 섯	90.55	ND	92.93	69.16	85.73	62.21	ND
홍 국 균	103.50	95.54	72.82	23.20	0.00	ND	0.00
녹 차	103.50	96.18	89.81	ND	14.99	ND	0.00
현 미	101.67	95.65	82.48	ND	30.94	ND	0.48

ND : not determined

2-12. Tumor initiation 단계에서 항암활성의 평가

각 기능성 특수미의 항암효과를 tumor initiation과 tumor promotion의 두 단계로

나누어 측정하였다. Tumor initiation은 정상세포의 유전자에 돌연변이가 도입됨으로써 일정한 횟수 밖에는 유사분열을 수행하지 못하던 세포가 무한 증식능력을 가진 transformed cell을 말하는데, 이미 지속 배양세포주의 경우에는 세포의 contact inhibition이 없어짐으로 인한 cell colony의 형성을 지표로 tumor initiation 활성이나 반대로 anti-tumor initiation활성을 측정할 수 있다. 물론 이미 1차 년도에 E.coli를 지시세포로 SOS chromotest으로 세균의 염색체 DNA의 손상도를 측정함으로써, 시료의 anti-tumor initiation활성을 간접적으로 평가한바 있으나, 이 시스템은 원핵세포인 대장균을 지시세포로 사용하기 때문에 진핵세포에서 발생하는 암형성과정 (carcinogenesis)을 정확히 재현하기에는 무리가 있다.

본 실험의 지시세포로 사용된 chinese hamster cell line인 V79세포주는 정상적인 hamster 세포의 염색체와 염색체내 유전정보를 보존하고 있는 세포로서, V79 세포의 colony 형성은 인간을 비롯한 진핵생물에서 일어나는 tumor initiation을 대변한다고 할 수 있다. 본 실험에서는 화학적 발암원인 4-NQO(4-nitroquinolin 1-oxide)와 EMS(ethyl methanesulfonate)을 처리했을 때 유발되는 tumor initiation이 특수미의 시료처리로 억제되는 정도를 측정하여 anti-tumor initiation 활성을 평가하였다. 실험에 사용된 4-NQO 및 EMS의 tumor initiation 활성을 조사하였다. <표3-15>에 4-NQO의 농도를 $1 \times 10^{-8}M$, $5 \times 10^{-8}M$, $1 \times 10^{-7}M$, $1.5 \times 10^{-7}M$ 로 증가시킨경우의 CFA(Colony Forming Ability)를 나타냈다. 측정된 CFA를 바탕으로 세포의 돌연변이 발생확률, 다시 말해서 tumor initiation이 일어날 확률인 IMF(Induced Mutation Frequency)를 계산 한 것이 <표3-16>이다. 이 표에 나타난 것처럼 4-NQO의 농도가 $1 \times 10^{-7}M$ 일 때 IMF가 15.52로 tumor initiation이 최대 수준으로 일어난 것으로 판단하고, 이 농도에서 실험을 진행하였다.

<표3-15> Carcinogen 4-NQO의 cell Colony Forming Ability(CFA)

concentration	colony number	CFA*
$1 \times 10^{-8}M$	314.33	1.18
$5 \times 10^{-8}M$	316.00	1.19
$1 \times 10^{-7}M$	277.67	1.04
$1.5 \times 10^{-7}M$	187.33	0.70

* CFA는 대조구의 colony수인 266에 대한 비율임

<표3-16> Carcinogen 4-NQO의 Induced Mutation Frequency(IMF)

concentration	colony number	IMF*
$1 \times 10^{-8}M$	1	0.85
$5 \times 10^{-8}M$	9	6.4
$1 \times 10^{-7}M$	20	15.52
$1.5 \times 10^{-7}M$	3	1.70

* IMF는 CFA에 대한 평균 colony number의 비율임

또다른 발암원인 EMS에 대해서도 동일한 실험을 수행하였으며, 그 결과 EMS $500\mu g/ml$ 의 농도를 tumor initiation의 최적 유의농도로 정하고 실험을 수행하였다(표3-17, 표3-18).

<표3-17> Carcinogen EMS의 cell Colony Forming Ability(CFA)

concentration	colony number	CFA*
$100\mu g/ml$	283.33	1.07
$200\mu g/ml$	276.67	1.04
$500\mu g/ml$	251.67	0.95
$1000\mu g/ml$	238.00	0.89

* CFA는 대조구의 colony수인 266에 대한 비율임

<표3-18> Carcinogen EMS의 Induced Mutation Frequency(IMF)

concentration	colony number	IMF*
$100\mu g/ml$	7	8.26
$200\mu g/ml$	23	15.77
$500\mu g/ml$	19	32.34
$1000\mu g/ml$	69	60.13

* IMF는 CFA에 대한 평균 colony number의 비율임

이상에서 결정한 농도의 화학적 발암원으로 세포의 tumor initiation을 유도하였을 때 각 발아미 및 특수미의 anti-tumor initiation 활성을 조사하였다. 이때 사용된 시료의 농도는 이미 기술한 시료의 세포사 유도능력 측정에서 결정된 가장 세포독성이 낮게 일으키는 농도로서, 발아현미 $40\mu g/ml$, 무발아현미 $40\mu g/ml$, 발아거대미 $40\mu g/ml$, 무발아거대미 $40\mu g/ml$, 무발아유색미 $40\mu g/ml$, 동충하초쌀 $10\mu g/ml$, 식이섬유쌀

20 μ g/ml, 아가리쿠스쌀 10 μ g/ml, 상황버섯쌀 10 μ g/ml, 홍국균쌀 10 μ g/ml, 녹차 10 μ g/ml 그리고 현미 10 μ g/ml을 사용하였다. 4-NQO에 대한 anti-tumor initiation 활성을 우선 측정하였을 때, 각 시료별 CFA는 <표3-19>와 같다. 이를 기준으로 각 시료의 tumor initiation 활성인 IMF를 측정하였다(표3-20). 이 결과를 보면 무발아 현미, 상황버섯쌀, 일반현미의 anti-tumor initiation 활성이 높았다. 홍국균쌀과 아가리쿠스쌀은 다소 억제활성을 보였으나 동충하초쌀과 식이섬유쌀은 1×10^{-7} M 4-NQO 자체보다도 오히려 tumor initiation 유발능력이 높음을 알았다. 이 결과가 일어난 원인에 대해서는 지금 조사중에 있다.

<표3-19> Carcinogen 4-NQO에 대한 시료의 Colony Forming Ability(CFA)

시 료	colony number	CFA *
발 아 현 미	305.67	1.15
무발아현미	242.33	0.91
발아거대미	249.00	0.94
무발아거대미	247.67	0.93
무발아유색미	310.33	1.17
동 충 하 초	247.00	0.93
식 이 섬 유	240.67	0.90
아 가 리 쿠 스	209.00	0.79
상 황 버 섯	228.67	0.86
홍 국 균	195.00	0.73
녹 차	243.33	0.91
현 미	328.67	1.24

* CFA는 대조구의 colony수인 266에 대한 배율임

<표3-20> Carcinogen 4-NQO에 대한 시료의 Induced Mutation Frequency(IMF)

시 료	colony number	IMF*
발 아 현 미	18.4	16.01
무발아현미	4	4.39
발아거대미	14.2	15.17
무발아거대미	20.67	22.20
무발아유색미	13.2	11.31
동 충 하 초	46.2	49.75
식 이 섬 유	23.6	26.08
아 가 리 쿠 스	10.2	12.98
상 황 버 섯	7	8.14
홍 국 균	9.4	12.82
녹 차	0	0.00
현 미	11.2	9.06

* IMF는 CFA에 대한 평균 colony number의 비율임

EMS에 대해서도 4-NQO와 동일한 실험을 수행하였고, 그 결과를 <표3-21>와 <표3-22>에 정리하였다. 실험결과를 보면 무발아 유색미가 100%의 tumor initiation 억제 효과를 보였고 상황버섯쌀, 동충하초쌀, 아가리쿠스쌀이 다소 tumor initiation을 억제함이 나타났다. 그러나 기타 시료들은 500 μ g/ml농도의 EMS보다 높은 tumor initiation활성이 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과가 시료의 pro-oxidant에 의한 것인지 여부를 현재 조사중에 있다.

<표3-21> Carcinogen EMS에 대한 시료의 Colony Forming Ability(CFA)

시 료	colony number	CFA*
발 아 현 미	168.67	0.63
무발아현미	199	0.75
발아거대미	242.33	0.91
무발아거대미	184.67	0.69
무발아유색미	193	0.73
동 충 하 초	197	0.74
식 이 섬 유	167.67	0.63
아 가 리 쿠 스	195.33	0.73
상 황 버 섯	252.33	0.95
녹 차	194	0.73
현 미	204.33	0.77

* CFA는 대조구의 colony수인 266에 대한 비율임

<표3-22> Carcinogen EMS에 대한 시료의 Induced Mutation Frequency(IMF)

시 료	colony number	IMF*
발 아 현 미	44	69.39
무발아현미	32	42.77
발아거대미	43.8	48.08
무발아거대미	35.2	50.70
무발아유색미	0	0.00
동 충 하 초	21.6	29.17
식 이 섬 유	25.2	39.98
아 가 리 쿠 스	21.6	29.41
상 황 버 섯	24.8	26.14
녹 차	23.8	32.63
현 미	28.2	36.71

* IMF는 CFA에 대한 평균 colony number의 비율임

2-13. 대식세포의 nitric oxide(NO) 생산에 대한 제어활성의 측정

Reactive Nitrogen Species(RNS)의 일종으로 면역계뿐 만 아니라 신경계에 이르기까지 세포생리를 조절하는 라디칼인 NO의 생산에 대한 각종 특수미 추출물의 제어활성을 조사하였다. NO는 특히 내재면역계 세포의 면역활성을 크게 조절하는데, 대식세포가 감염체에 의하여 활성화되면 NO를 위시한 활성산소 라디칼을 방출하여 감염체를 제거하는 것을 볼 수 있다. 그러나 과량의 NO 방출은 세포의 염증 및 세포사를 유도하기 때문에 내재면역계의 활성화에 필요한 적정량의 NO생산이 요구된다. 따라서 먼저 특수미 추출물이 세균 유래 lipopolysaccharide(LPS)로 자극된 대식세포가 생성하는 NO를 억제할 수 있는지 여부를 조사하였다. 지시세포로는 마우스 대식세포에서 유래한 대식세포주인 RAW264.7세포를 사용하였다. 실험 결과, <표3-23>에서 보듯이 시료의 농도가 100 µg/ml 조건에서 홍국균쌀과 상황버섯쌀의 억제활성이 약 34% 정도로 가장 높게 나타났지만, NO생성에 대한 억제도가 높다고 판단하기 어려웠다. 그 밖의 아가리쿠스쌀, 동충하초쌀의 NO 억제능은 매우 낮았고, 특히 식이섬유소쌀의 억제활성은 거의 발견되지 않았다.

<표3-23> LPS 자극 RAW264.7 세포의 NO 생산에 대한 특수미의 억제활성

Extracts	Nitrate(μM)		
	$1\mu\text{g}/\text{ml}$	$10\mu\text{g}/\text{ml}$	$100\mu\text{g}/\text{ml}$
Negative control	$0.630\pm 0.314^{\text{d}}$	$0.630\pm 0.314^{\text{b}}$	$0.630\pm 0.314^{\text{e}}$
Positive control	$31.591\pm 0.949^{\text{abc}}$	$31.591\pm 0.949^{\text{a}}$	$31.591\pm 0.949^{\text{a}}$
백미	$35.703\pm 1.257^{\text{a}}$	$26.371\pm 9.811^{\text{a}}$	$20.836\pm 2.605^{\text{d}}$
홍국균쌀	$30.325\pm 4.043^{\text{abc}}$	$31.551\pm 1.323^{\text{a}}$	$20.875\pm 2.578^{\text{d}}$
아가리쿠스쌀	$33.568\pm 1.009^{\text{ab}}$	$33.251\pm 1.443^{\text{a}}$	$26.609\pm 1.283^{\text{bc}}$
동충하초쌀	$28.981\pm 2.158^{\text{bc}}$	$29.535\pm 5.307^{\text{a}}$	$25.818\pm 2.435^{\text{c}}$
상황버섯쌀	$30.642\pm 3.029^{\text{abc}}$	$32.065\pm 2.178^{\text{a}}$	$22.378\pm 1.076^{\text{d}}$
식이섬유소쌀	$26.767\pm 6.686^{\text{c}}$	$31.037\pm 1.990^{\text{a}}$	$29.614\pm 1.507^{\text{ab}}$

Values are expressed as mean \pm SD(n=3)

Values not sharing common letters are significantly different at $p < 0.05$

발아미의 경우에도 전반적으로 강력하게 NO의 생산을 억제하는 능력은 측정되지 않았다. 다만 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 시료첨가 조건에서 발아유색미와 무발아 거대배아미가 각각 49%와 70%의 억제활성을 보였으며(표3-24), 특히 수침처리만 한 무발아 거대배아미의 NO생성에 대한 억제활성이 우수하다는 사실이 나타났다.

<표3-24> LPS 자극 RAW264.7 세포의 NO 생산에 대한 발아미의 억제활성

Extracts	Nitrate(μM)		
	$1\mu\text{g}/\text{ml}$	$10\mu\text{g}/\text{ml}$	$100\mu\text{g}/\text{ml}$
Negative control	$-0.296\pm 0.184^{\text{d}}$	$-0.296\pm 0.184^{\text{e}}$	$-0.296\pm 0.184^{\text{f}}$
Positive control	$17.095\pm 0.304^{\text{a}}$	$17.095\pm 0.304^{\text{a}}$	$17.095\pm 0.304^{\text{a}}$
발아현미	$16.733\pm 1.451^{\text{a}}$	$14.196\pm 0.822^{\text{b}}$	$10.332\pm 0.457^{\text{c}}$
무발아현미	$13.673\pm 0.424^{\text{bc}}$	$12.868\pm 0.457^{\text{bc}}$	$12.425\pm 0.672^{\text{b}}$
발아유색미	$13.915\pm 1.027^{\text{bc}}$	$12.546\pm 0.526^{\text{cd}}$	$8.681\pm 0.792^{\text{d}}$
무발아유색미	$11.942\pm 1.779^{\text{c}}$	$12.908\pm 1.278^{\text{bc}}$	$12.787\pm 1.152^{\text{b}}$
발아거대미	$16.169\pm 1.673^{\text{ab}}$	$15.928\pm 1.107^{\text{a}}$	$12.063\pm 1.625^{\text{b}}$
무발아거대미	$15.807\pm 2.510^{\text{ab}}$	$11.217\pm 1.278^{\text{d}}$	$5.098\pm 0.776^{\text{e}}$

Values are expressed as mean±SD(n=3)

Values not sharing common letters are significantly different at p <0.05

버섯쌀의 추출물에서 대식세포의 NO 생산에 대한 억제활성이 발견되지 않은 것은 버섯의 균사체에서 유래된 다당질이 오히려 대식세포를 NO생산을 활성화시킨 결과 일 가능성이 있다. 이와 같은 가능성을 알아보기 위하여 LPS로 자극시키지 않은 RAW264.7세포에 직접 버섯쌀 추출물을 처리했을 때 NO의 생성 정도를 측정하여 그 결과를 <표3-25>에 정리하였다. 결과에서 보듯이 특수미 추출물 자체로는 대식세포를 자극하여 NO를 생성시키는 활성을 가지고 있지 않았다.

<표3-25> LPS 무자극 RAW264.7 세포의 NO 생성에 미치는 특수미의 활성

Extracts	Nitrate(μM)		
	1μg/ml	10μg/ml	100μg/ml
Control	-0.677±0.258b	-0.677±0.258b	-0.677±0.258bc
백미	-1.341±0.070b	-2.997±2.835c	-1.622±0.070c
홍국균	-1.542±0.241b	-1.180±0.319bc	0.750±0.553a
아가리쿠스	-0.778±0.424b	-1.059±0.553bc	-0.617±0.847bc
동충하초	-0.496±0.570b	-0.014±0.727ab	0.067±0.424ab
상항버섯	1.112±1.031a	0.630±0.724ab	0.871±0.791a
식이섬유소	1.072±0.664a	1.675±0.557a	0.992±0.672a

Values are expressed as mean±SD(n=3)

Values not sharing common letters are significantly different at p <0.05

마찬가지로 발아미도 LPS로 자극시키지 않은 RAW264.7 대식세포주를 자극하여 NO를 생성시키는 활성을 가지고 있지 않았다 (표3-26).

<표3-26> LPS 무자극 RAW264.7 세포의 NO 생성에 미치는 발아미의 활성

Extracts	Nitrate(μM)		
	$1\mu\text{g}/\text{ml}$	$10\mu\text{g}/\text{ml}$	$100\mu\text{g}/\text{ml}$
Control	$-1.515\pm 0.416\text{d}$	$-1.515\pm 0.416\text{c}$	$-1.515\pm 0.416\text{c}$
발아현미	$-0.524\pm 0.316\text{c}$	$-0.104\pm 0.450\text{b}$	$-0.014\pm 0.156\text{b}$
무발아현미	$0.857\pm 0.406\text{b}$	$1.248\pm 0.180\text{a}$	$0.497\pm 0.275\text{b}$
발아유색미	$1.638\pm 0.528\text{a}$	$1.218\pm 0.188\text{a}$	$2.209\pm 0.364\text{a}$
무발아유색미	$1.488\pm 0.426\text{ab}$	$1.308\pm 0.341\text{a}$	$1.788\pm 0.156\text{a}$
발아거대미	$0.047\pm 0.512\text{c}$	$0.227\pm 0.364\text{b}$	$0.077\pm 0.360\text{b}$
무발아거대미	$1.278\pm 0.275\text{ab}$	$1.218\pm 0.138\text{a}$	$1.698\pm 0.715\text{a}$

Values are expressed as mean \pm SD(n=3)

Values not sharing common letters are significantly different at $p < 0.05$

2-14. 대식세포의 화학주화성에 미치는 특수미 추출물의 활성

대식세포가 감염체에 의하여 활성화되면 ROS 및 RNS를 방출할 뿐 아니라 활성화가 지속되면 가수분해효소인 matrix metalloproteinase(MMP)를 분비하여 기저막을 뚫고 미생물체가 존재하는 조직에 대식세포가 침윤하게 된다. MMP도 세균감염을 방제하는 내재면역계의 인자로 중요한 역할을 담당하지만, 대식세포가 극도로 활성화된 상태에 이르러 MMP가 과다 분비되면 오히려 감염된 장소의 주변 정상세포를 파괴시킴으로 인하여 염증반응이 유발되는 등 부작용이 나타난다. 따라서 MMP의 과다생성을 막을 수 있다면 내재면역의 작용과정에서 일어나는 부작용의 예방이 가능하므로, 발아미를 포함한 특수미 추출물이 LPS로 자극된 대식세포주가 분비하는 MMP의 생성을 제어하는 양상을 zymography에 의하여 측정하였다. <그림3-11>가 zymography의 결과로서, MMP의 protein band의 intensity를 densitometry로 측정, 수치화한 것이 <표3-27> 이다. <표>의 결과처럼, 발아미의 경우에는 유색미가 발아 및 무발아조건 모두에서 MMP 생성 억제능이 약 30%정도로 가장 높은 반면, 거대배아미는 발아, 무발아 조건에서 모두 MMP 생성 억제능은 낮게 나타났다. 버섯쌀과 같은 특수미는 전반적으로 MMP 생성 억제능이 거의 없었지만, 홍국균쌀과 아가리쿠스쌀만이 각각 약 24%와 19%의 억제활성을 보였다. 그러나 상황버섯쌀과 식이섬유쌀은 오히려 70% 이상 MMP의 생성을 증진시키는 것으로 나타났다.



<그림3-11> LPS로 자극된 RAW264.7 세포에 대한 특수미의 matrix metalloproteinase 생성 제어활성

1, Positive control; 2, Negative control; 3, 발아현미; 4, 무발아현미; 5, 발아유색미; 6, 무발아유색미; 7, 발아거대미; 8, 무발아거대미; 9, Positive control; 10, Negative control; 11, 백미; 12, 흥국균; 13, 아가리쿠스쌀; 14, 동충하초쌀; 15, 상황버섯쌀; 16, 식이섬유쌀.

<표3-27> RAW264.7 세포의 MMP 생성에 대한 특수미의 억제활성

Extracts	% of inhibition at 100 μ g/ml sample concentration
Control(+LPS)	0.000
발아현미	17.412
무발아현미	27.638
발아유색미	29.405
무발아유색미	30.920
발아거대미	8.998
무발아거대미	12.323
백미	-35.938
흥국균	23.867
아가리쿠스쌀	19.196
동충하초쌀	0.395
상황버섯쌀	-71.607
식이섬유쌀	-84.218

2-15. 호염구의 histamine 방출 억제를 통한 항알레르기 활성의 측정

혈중 호염구와 조직 내 비만세포는 자극에 의하여 활성화되면 탈과립을 일으켜 과립의 주성분인 histamine이 분비된다. 분비된 histamine은 혈관확장, 혈관벽의 투과성 증진 및 평활근의 수축을 일으켜, 초기 감염된 미생물체가 내재면역계에 의하여 용이하게 제거될 수 있도록 돕기 때문에 호염구나 비만세포는 면역 초기에 작용하여 감염이 증폭되는 것을 막는 중요한 역할을 담당한다. 그러나 이들 세포가 필요 이상으로 활성화되면 염증반응으로 발전하기 때문에 쌀과 같은 주곡작물에 의하여 histamine의 분비가 억제될 수 있는지 여부는 매우 중요한 의미를 갖는다. 본 실험에서는 rat의 호염구세포주인 RBL-2H3세포를 지시세포로 사용하여 ionophore A23187로 자극했을 때 발생하는 histamine 방출을 각종 쌀 추출물이 억제하는 정도를 먼저 정하였다. <표3-28>와 <표3-29>에 발아미 추출물을 사용한 결과와 벼쌀과 같은 특수미 추출물을 사용한 결과를 각각 정리하였다. <표>에서 보듯이 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 시료농도에서 histamine 방출에 대한 억제활성이 나타났으나, 발아현미(15% 억제)를 제외하고는 억제활성이 관찰되지 않았다. 벼쌀과 같은 특수미의 경우는 식이섬유쌀, 동충하초쌀, 상황벼쌀 및 아가리쿠스쌀의 억제활성이 평균 28%에서 35%의 범위로 산정되었으나 통계적으로는 이상 4가지 특수미의 억제활성이 같은 수준임이 나타났다. 그러나 벼쌀의 재료로 사용된 백미와 비교할 때 통계적으로 유의한 억제활성을 보였다.

<표3-28> 발아미 추출물이 호염구세포주 RBL-2H3 세포의 histamine 방출에 미치는 영향

Cultivar	ng/ml of Histamine (% of Inhibition)		
	1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Control(+A23187)	90.39 \pm 6.71 ^c (0.00)	90.39 \pm 6.71 ^b (0.00)	90.39 \pm 6.71 ^{cd} (0.00)
발아현미	75.80 \pm 8.03 ^d (16.1)	76.85 \pm 4.31 ^c (15.0)	82.19 \pm 4.57 ^d (9.07)
무발아현미	83.70 \pm 5.31 ^d (7.40)	89.54 \pm 3.86 ^b (0.94)	89.40 \pm 2.11 ^{cd} (1.06)
발아유색미	91.79 \pm 9.15 ^c (-1.55)	95.68 \pm 7.75 ^b (-5.86)	103.3 \pm 8.27 ^b (-14.3)
무발아유색미	103.3 \pm 6.29 ^b (-14.3)	106.4 \pm 3.01 ^a (-17.8)	95.20 \pm 2.28 ^{bc} (-5.32)
발아거대미	121.0 \pm 4.54 ^a (-33.8)	115.1 \pm 6.34 ^a (-27.4)	139.6 \pm 1.81 ^a (-54.4)
무발아거대미	125.3 \pm 2.62 ^a (-38.7)	112.4 \pm 3.77 ^a (-24.3)	139.9 \pm 12.91 ^a (-54.7)

Values are expressed as mean \pm SD. (n=3)

<표3-29> 특수미 추출물이 호염구세포주 RBL-2H3 세포의 histamine 방출에 미치는 영향

Cultivar	ng/ml of Histamine (% of Inhibition)		
	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml
Control(+A23187)	43.47 \pm 1.75 ^a (0.00)	43.47 \pm 1.75 ^a (0.00)	43.47 \pm 1.75 ^{cd} (0.00)
백미	39.45 \pm 3.24 ^b (9.26)	38.62 \pm 2.17 ^a (11.2)	57.40 \pm 1.97 ^a (-32.0)
식이섭유	29.30 \pm 1.00 ^c (32.6)	27.98 \pm 2.37 ^b (35.6)	44.15 \pm 9.50 ^{bc} (-1.55)
동충하초	32.77 \pm 1.46 ^d (24.6)	31.25 \pm 4.83 ^b (28.1)	39.96 \pm 3.11 ^{de} (8.08)
상황버섯	33.53 \pm 1.01 ^d (22.9)	29.16 \pm 1.27 ^b (32.9)	36.67 \pm 4.06 ^e (15.6)
아가리쿠스	34.71 \pm 2.43 ^{cd} (20.2)	31.30 \pm 0.52 ^b (28.0)	40.63 \pm 0.92 ^{de} (6.55)
홍국균	37.29 \pm 1.17 ^{bc} (14.2)	42.48 \pm 3.29 ^a (2.29)	50.38 \pm 0.61 ^b (-15.9)

Values are expressed as mean \pm SD. (n=3)

Ionophore 23187은 세포 내 Ca²⁺ 농도를 직접적으로 상승시켜서 호염구의 탈과립을 유도하는 것으로 알려져 있다. 그러나 생체 조건에서 호염구나 비만세포의 탈과립은 특정 항원에 대한 IgE가 생성되어 이 항체가 호염구 또는 비만세포의 Fc ϵ 수용체에 결합하여 시작된다. 따라서 anti-DNP IgE로 자극한 RBL-2H3세포를 사용하여 쌀 추출물의 첨가에 의하여 호염구의 histamine 방출이 억제되는 정도를 조사하였고 그 결과를 <표3-30> 및 <표3-31>에 제시하였다. <표3-30>에서 보듯이 모든 발아미 추출물에서 아주 미미한 수준의 억제효과만 관찰되어 A23187을 사용한 실험과 비슷한 결과를 보였다. 특수미의 경우는 10 μ g/ml의 시료농도에서 거의 백미 그 자체 수준의 억제활성밖에는 보이지 않아 식이섭유처리나 버섯 발효가 호염구의 histamine 방출을 억제하지 않는다는 사실을 알았다. 이와 같은 실험방법에 따른 결과의 차이는 쌀 추출물에 함유된 활성물질의 작용기작에 의한 것으로서, 아마도 쌀 추출물 내의 억제활성물질은 세포 내의 신호전달 과정을 억제하기 보다는 세포막에 직접 작용하여 막의 안정성을 높이는 방법으로 histamine을 함유한 과립의 방출을 억제하는 것으로 생각되며, 동충하초쌀, 아가리쿠스쌀, 상황버섯쌀 및 식이섭유쌀의 추출물이 이와 같은 작용을 수행할 수 있음을 보여준다.

<표3-30> 발아미 추출물이 호염구세포주 RBL-2H3 세포의 histamine 방출에 미치는 영향

Cultivar	ng/ml of Histamine (% of Inhibition)		
	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml
Control(+IgE)	539.8 \pm 11.4 ^{bc} (0.00)	539.8 \pm 11.4 ^a (0.00)	539.8 \pm 11.4 ^c (0.00)
발아현미	527.0 \pm 6.80 ^c (2.37)	509.1 \pm 12.3 ^{ab} (5.69)	554.9 \pm 10.1 ^{bc} (-2.79)
무발아현미	523.9 \pm 26.9 ^c (2.94)	519.5 \pm 18.1 ^{ab} (3.76)	503.2 \pm 5.95 ^{de} (6.78)
발아유색미	531.3 \pm 17.4 ^{bc} (1.58)	487.3 \pm 5.29 ^b (9.72)	534.4 \pm 40.5 ^{cd} (1.00)
무발아유색미	522.6 \pm 9.57 ^c (3.19)	521.6 \pm 45.7 ^{ab} (3.36)	493.9 \pm 14.6 ^e (8.51)
발아거대미	558.7 \pm 16.1 ^{ab} (-3.50)	540.8 \pm 14.6 ^a (-0.18)	581.8 \pm 8.37 ^b (-7.78)
무발아거대미	571.9 \pm 11.8 ^a (-5.95)	516.7 \pm 19.2 ^{ab} (4.27)	742.3 \pm 14.7 ^a (-37.5)

Values are expressed as mean \pm SD. (n=3)

<표3-31> 특수미 추출물이 호염구세포주 RBL-2H3 세포의 histamine 방출에 미치는 영향

Cultivar	ng/ml of Histamine (% of Inhibition)		
	1 μ g/ml	10 μ g/ml	100 μ g/ml
Control(+IgE)	480.5 \pm 5.94 ^b (0.00)	480.5 \pm 5.94 ^a (0.00)	480.5 \pm 5.94 ^{ab} (0.00)
백미	347.4 \pm 28.7 ^d (27.7)	369.1 \pm 6.55 ^b (23.2)	423.5 \pm 40.6 ^b (11.9)
식이섭유	447.8 \pm 12.2 ^{bc} (6.82)	384.5 \pm 17.0 ^b (20.0)	504.7 \pm 98.8 ^{ab} (-5.03)
동충하초	244.5 \pm 29.8 ^e (49.1)	377.5 \pm 19.8 ^b (21.4)	451.5 \pm 42.7 ^{ab} (6.04)
상황버섯	561.9 \pm 100.0 ^a (-16.9)	476.9 \pm 123.6 ^a (0.75)	417.6 \pm 24.4 ^b (13.1)
아가리쿠스	380.6 \pm 20.1 ^{cd} (20.8)	366.1 \pm 19.0 ^b (23.8)	534.4 \pm 66.6 ^a (-11.2)
홍국균	349.7 \pm 16.9 ^d (27.3)	437.5 \pm 34.8 ^{ab} (8.96)	405.4 \pm 2.58 ^b (15.6)

Values are expressed as mean \pm SD. (n=3)

2-16. 실험동물을 이용한 특수미의 항암효과 및 종양면역효과의 평가

(2-16-1) 이식된 종양세포에 의한 종양형성 억제활성의 측정

악성종양세포인 melanoma cell을 마우스의 피부에 이식하여 육종을 유발시키는 단계에서 발아미 및 버섯쌀과 같은 특수미의 식이가 육종의 형성에 어떠한 효과를 미치는가에 대하여 조사하였다. 마우스는 기본적으로 chew diet를 식이하였고 특수미가 포함된 식이는 chew diet에 65.2%의 특수미 분말을 첨가한 것을 사용하였다. 특수미 식이는 먼저 3주간 부여하고 melanoma 세포를 이식한 다음 다시 3주간 동일한 식이를 부여하였다. 식이를 시작한 지 6주 후에 마우스를 희생시켜서 마우스의 체중과 형성된 종양의 중량을 측정하였다. 먼저 발아미의 종양형성에 대한 제어능을 조사한 것이 <표3-32>이다. 먼저 일반현미를 실험의 대조구로 하여 무발아거대배아미와 거대배아미의 melanoma 형성에 대한 억제효과를 측정한 결과, 종양의 평균적인 중량은 대조구와 발아 또는 무발아 거대배아미를 식이한 실험사이에서 통계적으로 유의한 차이는 발견되지 않았다.

<표3-32> 발아미 식이 마우스의 체중 및 이식종양 중량

Cultivar	Weight(g)	
	Body	Solid tumor
현미	23.1±2.85	2.55±3.17
무발아거대미	24.3±2.74	3.79±3.55
발아거대미	24.6±1.95	4.05±4.12

Values are expressed as mean ± SD. (n=6)

동일한 조건의 실험을 특수미인 버섯쌀을 시료로 시행하여 그 결과를 <표3-33>에 정리하였다. 본 실험에서는 동충하초쌀과 홍국균쌀을 특수미 시료로 선정하였고, 이들 특수미에 대한 대조시료로는 버섯쌀을 제조하는 원재료인 백미를 사용하였다. 실험 결과에서 보듯이 2종류의 특수미 시료를 6주간 식이한 마우스와 대조구인 백미를 식이한 마우스에 있어서 전혀 체중의 변화가 없는 것으로 볼 때, 버섯쌀은 안전성이 높은 식품임을 알 수 있었다. 각 버섯쌀의 식이가 melanoma 형성에 미치는 영향을 조사한 결과, 동충하초쌀은 melanoma 종양과의 형성을 억제하지 못하였지만, 홍국균쌀은 이식된 종양의 형성을 매우 유의한 수준에서 억제할 수 있음을 알았다 (p<0.001). 이 결과는 홍국균으로 발효된 쌀도 구강섭취를 통하여 강력한 항암효과를 나타낼 수 있음을 가리킨다.

<표3-33> 특수미 식이 마우스의 체중 및 이식종양 중량

Cultivar	Weight(g)	
	Body	Solid tumor
백미	24.0±1.83	8.78±1.70
동충하초쌀	23.1±2.25	7.27±2.88
홍국균쌀	24.3±1.03	3.98±1.66 ^{***}

Values are expressed as mean ± SD. (n=6)

^{***} means significant difference at the level of $p < 0.001$

(2-16-2) 특수미의 식이가 종양이식 마우스에 있어서 대식세포 섭식활성에 미치는 영향

임상 역학적 연구 결과, 암환자들에 있어서 대식세포의 섭식활성이 극도로 저하되어 있다고 보고되어 있다. 이와 같은 사실은 종양을 이식한 마우스에서도 관찰되고 있기 때문에 대식세포가 감염미생물에 대한 초기 내재면역에서 작용할 뿐 아니라 종양면역에서도 중요한 역할을 담당하고 있음을 나타낸다. 따라서 본 실험에서는 이미 기술한 버섯쌀 중 홍국균쌀의 식이 결과 나타난 종양괴 형성의 억제현상이 대식세포의 섭식능력의 활성화와 관련이 있는지 여부를 조사하였다. 본 실험에서 대식세포는 각 특수미를 식이한 마우스의 복강대식세포를 사용하였고 섭식능력은 보체로 optionization된 zymosan을 대식세포가 섭식하는 능력을 luminometer로 측정하였다. 먼저 일반현미 식이를 대조구로 받아 및 무발아 거대배아미를 식이한 마우스의 복강대식세포의 섭식능을 조사한 결과, 무발아거대배아미 식이의 경우 일반현미 식이에 비하여 약 46%의 섭식능력 향상이 관찰된 반면, 발아거대배아미는 오히려 약 42%의 섭식능력 유의한 수준의 감소를 가져왔다($p < 0.01$). 그러나 이와 같은 섭식능의 변화와 형성된 종양괴의 중량변화와는 아무런 관계가 없었다 (표3-34).

<표3-34> 발아미 식이 마우스 복강대식세포의 섭식능력 작용

Cultivar	Phagocytotic activity(luminometer unit)	
	Resting	Stimulation with Zymosan
현미	0.16±0.02	1.12±0.12
무발아거대미	0.12±0.01	1.64±0.06 ^{**}
발아거대미	0.11±0.03	0.65±0.06 ^{**}

Values are expressed as mean ± SD. (n=6)

** means significant difference at the level of $p < 0.01$

동일한 실험을 동충하초쌀과 홍국균쌀을 식이한 마우스에서 조사하였으며, 이때 백미를 식이한 마우스를 대조구로 사용하였다. <표3-35>의 결과에서 보듯이 동충하초쌀은 백미에 비하여 약 42% 정도 섭취능력이 증진된 것으로 나타났으나($p < 0.05$), 종양괴의 증량변화와는 무관하였다. 반면, 홍국균쌀을 식한 복강 대식세포는 대조구에 비하여 약 200% 이상 섭취능력이 증진된 것을 알 수 있었고 실제 홍국균쌀의 식이로 종양괴 증량이 55% 정도 감소한 것으로 나타났다($p < 0.001$). 홍국균쌀은 optionized zymosan을 첨가하지 않은 조건에서도 대조구에 비하여 200% 정도의 섭취능이 증가되는 것이 관찰되었다($p < 0.01$). 이상의 결과는 홍국균쌀의 식이는 대식세포의 섭취능을 크게 증가시키며, 이와 같은 섭취능의 증가가 이식한 종양세포의 종양괴 형성을 억제할 원인일 가능성을 시사한다.

<표3-35> 특수미 식이 마우스 복강 대식세포의 섭취작용

Cultivar	Phagocytotic activity(luminometer unit)	
	Resting	Stimulation with Zymosan
백미	0.022±0.006	0.115±0.029
동충하초쌀	0.037±0.015	0.167±0.007*
홍국균쌀	0.066±0.014**	0.355±0.003***

Values are expressed as mean ± SD. (n=6)

*, **, *** means significant difference at the level of $p < 0.05$, 0.01, and 0.001, respectively.

(2-16-3) 특수미의 식이가 종양이식 마우스에 있어서 대식세포 NO 생성에 미치는 영향

대식세포에서 분비하는 NO가 감염미생물을 살해할 뿐 아니라 형성된 종양세포를 살해하는 역할도 수행한다는 사실이 밝혀졌다. 또한 이미 기술한 바와 같이 종양을 보유한 개체의 대식세포는 NO 생성량이 감소한다는 보고가 있기 때문에, 저하된 NO 생성량을 증진시키는 것은 종양발생의 예방에 중요하다고 하겠다. 따라서 본 실험에서는 특수미의 식이가 대식세포의 NO 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 무발아 및 발아거대배아미의 식이가 NO 생성에 미치는 효과를 일반현미 식이를 대

조로 하여 조사한 것이 <표3-36>이다. 무발아 거대배아미 식이는 대조구에 비하여 NO 생성을 92% 증진시켰으며(p<0.01), 발아된 거대배아미 식이는 약 350% 정도 증진시켰다(p<0.001). 따라서 거대배아미의 식이는 대식세포의 NO 생성을 효과적으로 증진시킨다는 사실을 알 수 있었다.

<표3-36> 발아미 식이 마우스 복강 대식세포의 NO 생성 활성

Cultivar	Nitric oxide(μ M)	
	Resting	Stimulation with LPS
현미	0.38 \pm 0.06	12.4 \pm 5.50
무발아거대미	0.15 \pm 0.11*	23.8 \pm 1.33**
발아거대미	1.17 \pm 0.25**	55.7 \pm 1.98***

Values are expressed as mean \pm SD. (n=6)

*, **, *** means significant difference at the level of p<0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

버섯쌀의 식이가 대식세포의 NO 생성능에 미치는 효과도 동일한 방법으로 조사하였다. <표3-37>에서 보듯이, 동충하초쌀의 식이는 대식세포의 NO 생성에 유의한 영양을 미치지 않았으나, 홍국균쌀은 약 60%의 NO 생성을 억제하는 것으로 나타났다(p<0.001).

<표3-37> 특수미 식이 마우스 복강 대식세포의 NO 생성 활성

Cultivar	Nitric oxide(μ M)	
	Resting	Stimulation with LPS
백미	0.56 \pm 0.21	11.5 \pm 1.75
동충하초쌀	-0.02 \pm 0.17**	13.8 \pm 3.03
홍국균쌀	0.06 \pm 0.29*	4.59 \pm 1.52***

Values are expressed as mean \pm SD. (n=6)

*, **, *** means significant difference at the level of p<0.05, 0.01, and 0.001, respectively.

(2-16-4) 특수미의 식이가 종양이식 마우스에 있어서 대식세포의 metalloproteinase(MMP) 생성에 미치는 영향

쌀 추출물의 식이가 종양이 이식된 마우스 대식세포의 MMP 생성에 미치는 효과를 조사하였다. <그림3-12>에서 보듯이 전반적으로 현미나 거대배아미를 식이한 마우스의 대식세포는 벼쌀을 식이한 경우보다 무자극 조건에서도 MMP의 분비 포텐셜이 높았다. 뿐만 아니라 LPS로 자극한 조건에서도 벼쌀의 경우보다 MMP의 분비정도가 2배에서 최대 12배까지 높았다(표3-38, 표3-39). 그러나 각각의 대조구로 사용된 백미나 일반현미를 식이한 경우와 비교하여 MMP 활성이 뚜렷하게 차이가 나지 않는 점에서 특수미 식이가 MMP의 활성 제어에 효과를 갖지 못하는 것으로 보인다.

<표3-38> 발아미 식이 마우스 복강 대식세포의 MMP 활성

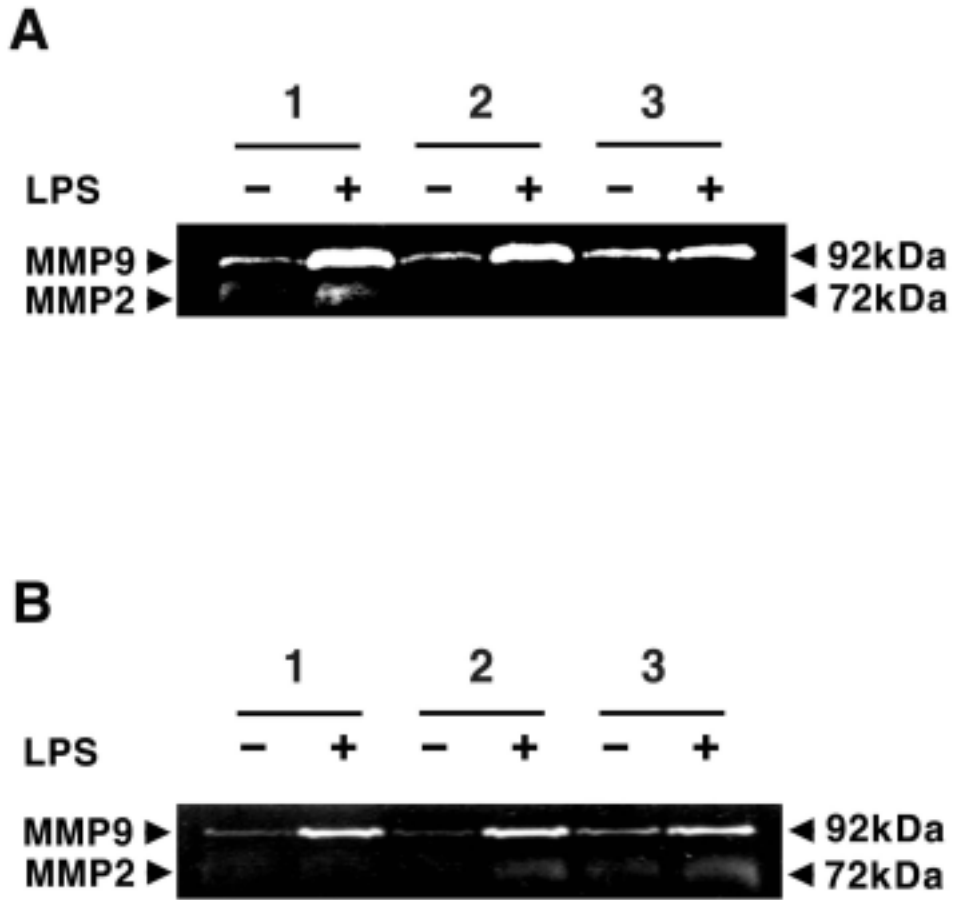
Cultivar	Proteinase activity Index(Relative activity)	
	Resting	Stimulation with LPS
현미	4.57×10 ⁵ (1.00)	1.42×10 ⁶ (1.00)
무발아거대미	5.81×10 ⁵ (1.27)	1.22×10 ⁶ (0.86)
발아거대미	5.76×10 ⁵ (1.26)	0.86×10 ⁶ (0.60)

<표3-39> 특수미 식이 마우스 복강 대식세포의 MMP 활성

Cultivar	Proteinase activity Index(Relative activity)	
	Resting	Stimulation with LPS
백미	1.59×10 ⁵ (1.00)	6.65×10 ⁵ (1.00)
동충하초쌀	1.37×10 ⁵ (0.87)	6.73×10 ⁵ (1.01)
홍국균쌀	3.46×10 ⁵ (2.18)	6.27×10 ⁵ (0.94)

이상의 실험 결과에서 거대배아미는 대식세포의 섭식능력을 증진시키는 효과는 크지 않았지만 NO 생성은 효과적으로 유도하는 것으로 나타났다. 반면, 홍국균쌀은 대식세포의 NO 생성을 유도하는 효과보다는 섭식능력을 증진시키는 효과가 뚜렷하였다. 따라서 본 실험에서 나타난 이식된 melanoma 종양괴에 대한 홍국균쌀의 항종양 활성은 주로 홍국균쌀에 의한 대식세포의 섭식능력의 증강에 의하여 일어난 것으로서, 내재면역계 세포의 활성화를 통하여 암을 억제하는 효과적인 항암식품임을 시사한

다.



<그림3-12> 발아미 및 특수미 식이 마우스 대식세포의 MMP 분비 활성화

A. 1,현미; 2,무발아 거대배아미; 3,발아 거대배아미.

B. 1,백미; 2,동충하초쌀; 3,홍국균쌀.

3. 연구결과 요약

본 연구에서는 특수미와 기능성 쌀의 건강기능성으로서 항산화 활성, 항암활성 및 면역반응에 대한 제어활성을 검색함으로써 이들 쌀들이 기능성 소재로서 활용될 수 있는 가능성을 평가하였다. 항산화 활성은 linoleic acid 자동산화에 대한 억제활성 및 erythrocyte ghost cell membrane 지질의 과산화에 대한 억제활성, reducing power, superoxide anion에 대한 소거활성, hydroxyl radical에 대한 소거활성과 세포 내 활성산소종에 대한 억제활성을 측정하여 평가하였다. 항암활성은 SOS chromotest에 의한 항돌연변이활성, 산화성 DNA strand breakage에 대한 억제활성, 배양동물세포를 이용한 tumor initiation에 대한 억제활성, 그리고 실험동물에 이식한 melanoma세포의 종양형성에 대한 억제활성을 측정하여 평가하였다. 면역반응에 대한 제어활성은 대식세포의 NO 생성 및 matrix metalloproteinase(MMP)에 대한 조절활성, 비만세포의 histamine 방출에 대한 제어활성과 더불어 실험동물에서 종양형성으로 인한 대식세포의 NO 생성 및 포식활성의 변화를 측정하여 평가하였다. Linoleic acid 자동산화에 대한 억제활성은 홍국균쌀과 발아유색미가 가장 높은 반면, erythrocyte ghost cell membrane 지질의 과산화에 대한 억제활성은 발아거대배아미가 가장 높게 나타났다. Reducing power는 무발아유색미와 홍국균쌀, 발아거대배아미가 우수하였다. Superoxide anion에 대한 소거활성은 무발아유색미, 발아유색미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였고, hydroxyl radical에 대한 소거활성은 발아유색미, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였다. 세포 내 활성산소종에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아유색미, 무발아거대배아미, 발아현미 및 발아거대미가 우수하였다. *E. coli* PQ37을 지시세포로 mitomycin C가 유도한 DNA 돌연변이에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 상황버섯쌀이 우수하였고, mitomycin C에 의한 산화적 DNA strand breakage에 대한 억제활성은 무발아유색미, 발아유색미, 발아거대배아미 및 발아현미에서 우수하게 나타났다. 종양형성의 첫 단계인 tumor initiation에 대한 억제활성을 V79 cell을 지시세포로 사용하여 조사한 결과, 발암원 4-NQO를 사용했을 때 상황버섯쌀, 무발아유색미, 홍국균쌀 및 아가리쿠스쌀의 활성이 우수하였다. LPS로 자극된 대식세포주 RAW264.7세포의 NO 생성에 대한 억제활성은 홍국균쌀이 가장 우수하였고, MMP9 활성에 대한 억제능은 무발아유색미, 발아유색미, 무발아현미 및 홍국균쌀이 우수하였다. 비만세포주인 RBL-2H3의 histamine 방출에 대한 억제활성을 조사한 결과, A23187 및 IgE 자극 모두에서 동충하초쌀의 유의한 억제효과가 관찰되었으나 그 활성은 높지 않았다. 무발아거대배아미, 발아거대배아미, 동충하초쌀 및 홍국균쌀의 식이가 종양형성에 미치는 영향을 조사한 결과, 홍국균쌀은 유의하게 종양의 형성을 억제하였고 대식세포의 포

식활성을 유의하게 활성화시키는 결과를 보여, 홍국균쌀이 대식세포의 활성화를 통하여 종양을 종양을 억제할 가능성을 보여주었다.

제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 제1세부과제: 건강기능성 특수미 품종 및 고부가가치 제품 개발

(1) 목표 및 평가착안점: 건강기능성 성분이 다량 함유된 다양한 특수미 품종을 개발하고, 특수미를 이용한 고부가가치 제품을 개발하는 것이다.

(2) 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

○ 신유전자원 발굴: 개영(split-hull) 돌연변이와 녹미 그리고 C3G함량이 높은 신 유전자원들을 발굴하였다. 특히 개영돌연변이는 세계 최초의 발견이며 제현을 용이하게 하는 특성이 있어서 금후 이용가치가 높을 것으로 예상된다.

○ 특수미 계통 육성: 거대배아, 당질미, 분질미, 유색미 등을 조합한 다수의 고세대 계통들을 육성하였다. 이들은 단일 특성별로 각각 건강기능성을 가지고 있는 만큼 조합한 계통들은 기능성이 더욱 우수할 것으로 판단된다. 금후 1-2세대 진전하여 고정후에 그 기능성을 정확히 평가할 수 있을 것이다. 이러한 특수미 계통들은 본 연구진에 의해 최초로 다양화 되는 만큼 연구의 소기목적을 달성하였으며, 육성된 계통들은 금후 품종화하여 우리쌀의 부가가치 제고에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

○ 특수미의 유전분석: 화학돌연변이로 유기시킨 개영돌연변이의 경우 단순열성 유전자에 의해 지배되는 것을 밝혔고, 그 유전자를 *sph(t)*로 명명하여 새로운 유전자를 발굴하였다. 다른 개영돌연변이(16537)의 유전양상, 녹미(green-kerneled rice)의 기본특성, C3G함량의 유전분석 등을 통하여 특수미 계통을 육성할 수 있는 기본 자료를 확보하였다.

○ 특수미 품종 육성: 특수미 품종인 서농6호(거대배아찰벼)를 품종보호 및 국가등재 품종목록에 등재하였으며, 5개의 특수미품종, 서농8호(거대배아미), 서농9호(분질배유), 서농10호(당질배유), 서농11호(분질배유+거대배아미), 서농12호(통일형거대배아미)를 품종보호 출원하였다. 이들은 연구과제 이전부터 꾸준히 계통으로 육성하여 오다가 과제 기간동안 집중 개량과 최종점검을 거쳐 출원/등록한 것이다.

○ 특수미 재료별 최적 가공방법 및 효율적인 제품생산체계 확립: 거대배아미를 현미로 상품화하였고, 잡곡 개념으로서 혼합16곡의 제품을 개발하였다. 또한 거대배아미 현미를 주원료로 하는 생식을 (주)성원유업 및 (주)오행생식과 협력하여 개발하였다. 또한 거대배아계통의 발아현미 제조를 위하여, (주)신지가 (주)썬테크(대전 소재)와 생산장비를 시험제작하여 발아현미 시범 생산에 성공하였고 이를 시제품화하였다. 홍국균 추출물과 식이섬유를 코팅한 시제품을 개발하였다.

특수미 품종을 육성하고 이를 직접 또는 간접으로 제품화하였기에 본과제 소기

의 목적을 충분히 달성하였다고 판단된다. 금후 특수미 육종 및 천연 특수미의 시장 개척에 기여할 것으로 생각되며, 연구결과는 생산자, 소비자, 육종가 모두에게 영향력이 있을 것으로 예상된다.

2. 제1협동과제: 특수미의 식품영양 및 생리학적 연구

(1) 목표 및 평가착안점: 본 협동과제는 특수미(거대배아미 위주)와 코팅미들의 영양적, 기능적 특성을 생리학적 측면에서 분석 평가하는 것이다.

(2) 목표달성도 및 관련분야에의 기여도:

건강기능성 특수미를 대상으로 함유된 생리활성 물질의 함량 및 특수미의 에탄올 추출물의 항산화성의 측정, 특수미 식이에 의한 지질대사 개선효과 및 당뇨개선 효과의 평가를 통하여 기능성 특수미가 생체 생리에 미치는 영향을 조사하였다.

항산화 효과의 주성분인 폴리페놀 화합물 함량은 일반미에 비해 기능성 쌀에서 모두 높았으며, 홍국균 쌀이 가장 높았다. 발아에 의한 페놀성 화합물의 증가는 화청 거대배아미에서만 뚜렷하였다. 피틴산의 함량은 상황버섯 쌀과 식이섬유코팅 쌀이 높았으나 전반적으로 기능성 쌀은 거의 비슷하였다. GABA의 함량은 상황버섯 쌀이 가장 높았다. 거대배아미 품종의 GABA의 함량이 일반 품종들보다 높았으나 발아에 따른 GABA의 증가율은 일반 품종의 쌀이 우수하였다.

DPPH에 대한 전자 공여능으로 항산화성을 측정한 결과, 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀의 활성이 가장 높았으며 기능성 쌀들은 전반적으로 일반미보다 항산화활성이 높았고, 거대배아미 품종이 일반품종에 비해서 우수하였다. 그러나 발아에 의한 항산화성의 증가율은 일반미 품종이 거대배아미보다 높았다.

기능성 특수미의 식이가 지질대사 개선에 미치는 영향을 조사한 결과, 총 콜레스테롤 농도는 홍국균 쌀 처리군이 대조군에 비해 유의적으로 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비해 일반미군과 상황버섯 쌀 식이에서 20% 증가하였고 홍국균 쌀 식이군에서도 유의적인 증가가 관찰되었다. 모든 실험군에서 HTR(HDL-콜레스테롤/총콜레스테롤)이 대조군에 비해 높은 것으로 볼 때, 혈중 지질 강하에 효과적인 것으로 확인되었다. 또한 이와 같은 발아거대배아미군에서도 관찰되었다. 간의 TBARS함량 및 항산화효소인 Catalase, GSH-px, SOD의 활성을 측정한 결과도 대조군에 비해서 기능성 특수미 식이군이 전반적으로 낮았으며 특히 발아거대배아미가 유의적으로 낮았다. CAT 활성도는 상황버섯 쌀과 홍국균 쌀 식이군에서 유의적으로 증가된 반면 GPx 활성도는 유의적으로 감소하였다. SOD 활성도는 홍국균 쌀 식이군에서 유의적으로 증가하였다. 홍국균 쌀은 혈장과 간조직의 지질과산화 생성물 수

준을 유의적으로 저하시키는데 매우 효과적이라는 사실이 나타났고, 발아 거대배아미 식이가 혈청중의 GOT와 GPT값을 저하시켰고 특히 홍국균 쌀은 GPT값의 저하에 매우 효과적이었다.

기능성 특수미 식이의 당뇨개선효과를 조사한 결과, 발아거대배아미와 거대배아미는 장통과 시간이 짧으며, 분변고형물의 양을 유의적으로 증가시켰으며, 변의 수분보유량도 정상군들에 비해서 전반적으로 높았다. 분변 중성스테로이드의 함량도 발아거대배아미군 및 거대배아미군이 높게 나타났으며, 변으로 배설되는 담즙산의 함량 또한 유의적으로 높게 나타났다. 또한 당뇨동물의 공복시 혈당 수준을 유의적으로 낮추는 효과가 있었으며, 이당류 분해효소인 lactase, maltase, sucrase의 활성을 저해시킴으로서 혈당상승을 억제시키는 것으로 볼 수 있었다. 간 조직의 중성지방과 총콜레스테롤의 함량도 거대배아미와 발아거대배아미를 급여한 군에서 감소되는 현상이 나타났으며, catalases, SOD, GPX등 항산화 효소들의 활성도 높은 경향을 나타내었고, GOT 및 GPT 활성도 억제효과 및 간 조직중의 지질 과산화물가 억제효과도 관찰되었다. 한편 혈장 중 비타민 A, E 농도는 높게 나타났으며, 혈중의 중성지방과 총콜레스테롤 수준 및 동맥경화지수도 낮았다. 혈장중의 지질과산화물 수준도 발아거대배아미와 거대배아미의 경우 낮았다.

이러한 결과는 거대배아미와 일부 코팅미들의 기능성을 검증해 주는 것으로서 금후 특수미의 유용성을 제고시킬 수 있을 것으로 판단된다.

3. 제2협동과제: 특수미와 기능성 쌀의 건강기능성 생리활성에 대한 검색과 평가

(1) 목표 및 평가착안점: 본 협동과제는 특수미들의 항산화, 면역 및 항암 활성을 평가하는 것이다.

(2) 목표달성도 및 관련분야에의 기여도:

본 연구에서는 특수미와 기능성 쌀의 건강기능성으로서 항산화 활성, 항암활성 및 면역반응에 대한 제어활성을 검색함으로써 이들 쌀들이 기능성 소재로서 활용될 수 있는 가능성을 평가하였다.

Linoleic acid 자동산화에 대한 억제활성은 홍국균쌀과 발아유색미가 가장 높은 반면, erythrocyte ghost cell membrane 지질의 과산화에 대한 억제활성은 발아거대배아미가 가장 높게 나타났다. Reducing power는 무발아유색미와 홍국균쌀, 발아거대배아미가 우수하였다. Superoxide anion에 대한 소거활성은 무발아유색미, 발아유색미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였고, hydroxyl radical에 대한 소거활성은

발아유색미, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 동충하초쌀이 우수하였다. 세포 내 활성산소종에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아유색미, 무발아거대배아미, 발아현미 및 발아거대미가 우수하였다. *E. coli* PQ37을 지시세포로 mitomycin C가 유도한 DNA 돌연변이에 대한 억제활성은 동충하초쌀, 발아거대배아미, 홍국균쌀 및 상황버섯쌀이 우수하였고, mitomycin C에 의한 산화적 DNA strand breakage에 대한 억제활성은 무발아유색미, 발아유색미, 발아거대배아미 및 발아현미에서 우수하게 나타났다. 종양형성의 첫 단계인 tumor initiation에 대한 억제활성을 V79 cell을 지시세포로 사용하여 조사한 결과, 발암원 4-NQO을 사용했을 때 상황버섯쌀, 무발아유색미, 홍국균쌀 및 아가리쿠스쌀의 활성이 우수하였다. LPS로 자극된 대식세포주 RAW264.7 세포의 NO 생성에 대한 억제활성은 홍국균쌀이 가장 우수하였고, MMP9 활성에 대한 억제능은 무발아유색미, 발아유색미, 무발아현미 및 홍국균쌀이 우수하였다. 비만세포주인 RBL-2H3의 histamine 방출에 대한 억제활성을 조사한 결과, A23187 및 IgE 자극 모두에서 동충하초쌀의 유의한 억제효과가 관찰되었으나 그 활성은 높지 않았다. 무발아거대배아미, 발아거대배아미, 동충하초쌀 및 홍국균쌀의 식이가 종양형성에 미치는 영향을 조사한 결과, 홍국균쌀은 유의하게 종양의 형성을 억제하였고 대식세포의 포식활성을 유의하게 활성화시키는 결과를 보여, 홍국균쌀이 대식세포의 활성화를 통하여 종양을 종양을 억제할 가능성을 보여주었다.

일부 기능성쌀의 면역 및 항암활성이 증명되었다. 거대배아미의 경우에는 항산화기능과 항돌연변이 활성은 뚜렷하였지만 면역이나 항산화 활성은 정밀하게 추가적인 검토를 필요로 하였다.

상기의 결과는 비교적 길지 않은 연구기간 (2001.8-2004.8) 동안 이루어진 것으로서 연구과제 소기의 목적인 “특수미의 개발과 건강기능성 평가”를 달성하였다고 판단하고 있다. 연구 결과는 장차 특수미 품종육성분야를 활성화시킬 것으로 전망되며, 소비자들의 특수미에 대한 인식 객관화에도 도움을 줄 것으로 생각한다. 물론 우리쌀의 부가가치를 높여 생산자는 물론 관련업계에 활력을 줄 수 있을 것으로 기대한다.

제5장 연구개발결과의 활용계획

1. 추가연구의 필요성:

- 기능성 특수미 품종 육성연구는 1회성 연구가 아니며 기능성이 우수한 품종을 육성하는 데에는 일정기간이 소요된다. WTO 시장개방에 맞서 우리쌀의 경쟁력을 높이기 위해서는 건강기능성 특수미 품종 육성을 위한 연구가 지속적으로 수행되어야 할 것이다. 이것은 비단 국내시장에서의 경쟁을 의식한 것 만이 아니라 장차 공격적인 수출까지도 가능할 수 있도록 국가적인 차원에서의 연구지원이 필요한 것이다. 본 연구에서 육성한 특수미들을 이용하여 그들의 기능성을 개선한다든지, 특수미들간 더욱 다양한 결합을 통하여 기능성이 더욱 우수해진 계통을 만드는 것은 시급한 금후 과제일 것이다.

- 본 연구에서는 실험동물을 이용하여 특수미 식이의 당노 개선효과 등을 검토하였는데 앞으로는 더욱 다양한 기능성 분야에서의 검정이 필요하다. 또한 실제 사람이 섭취하여 그 효과를 검증할 수 있는 임상실험도 시급하다.

2. 타연구에의 응용방안:

- 본 연구에서 얻어진 품종과 계통들은 연구자들에게 제공될 것이며, 특수미 품종 육성 분야를 활성화시킬 수 있을 것으로 기대한다. 주식인 쌀에 기능성을 최대한 집적시킴으로써 쌀을 종합 건강식품화하는 연구에 육성한 재료들이 중요하게 이용될 수 있을 것이다.

- 비단 벼 뿐만이 아니라 다른 곡류 또는 식용작물에서도 본 연구과제에서 고안한 기능성 작물개발 원리와 기술들, 그리고 성분분석기술과 동물실험 적용기술들이 적용될 수 있을 것이다.

3. 기업화 추진 방안:

- 1단계 연구결과로 육성된 특수미 품종들은 기업체와 연결하여 상품화하였다. 현재 농림기술관리센터에 산업화를 위한 행정적인 절차를 신청하였고 추진중이다. 이들은 건강기능성 성분을 함유하는 품종들로서 시장성 확대가 기대된다.

- 거대배아미는 상품화하여 시제품을 제작하였고(그림), 본격적인 시장판매를 준비중이다. 홍국균추출물+식이섬유쌀 및 다른 특수미 품종들도 상품화 준비중이다.



(그림) 거대배아미를 이용한 상품 (왼쪽부터 거대배아현미, 혼합16곡, 생식 제품)

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

연구과제 수행 중 중국, 미국 등지로부터 녹미를 비롯하여 다수의 유전자원을 입수 또는 수집하였으며, 이들은 현재 평가중이다.

제7장 참고문헌

- Anderson JW and Chen WJL, 1979, Am. J. Alin. Nutr., 32, 346
 Antonio AA and Juliano BO, 1973, J. Food Sci, 38: 913-916
 Antonio, AA and Juliano BO, 1974, Philippine Agriculturist 58: 17-23
 American Association of Cereal Chemists, 1983, Approved methods of the AACC, The Association, St. Paul, Minnesota
 Arjmand BH, Ahn J, Nathani S and Reeves RD, 1992, J. Nutr. 122, 246
 Bird ED and MacKay AVP, Rayner CN and Iversen LL, 1973, Lancet, 1, 1090
 Bhattacharya KR and Showbhagya CM, 1978, J. Texture Studies 9: 341
 Blis MO, 1958, Nature, 4617, 1198
 Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S, 1989, Int J Neurosci 48, 29
 Bradford, M.M. (1976) Anal. Biochem. 72, 248
 Cagampang GB, Perez CM and Juliano BO, 1973 J. Sci. Food Agr. 24: 1589-1594

- Chung, SK, Osawa T and Kawakishi S, 1997, *Biosci, Biotech. Biochem.* 61, 1772
- 최해춘, 1994, *작물품종개량육종*: 80-97
- 최해춘, 지정현, 김연규, 조수연, 1992, 1991년 시험연구보고서(농촌진흥청 작물시험장): 152-155
- Defeudis FV, 1982, *Pharmacol. Res. Commun.* 14, 567
- Dimpfel W, Decker H (1984) *Neuropsychobiology* 12, 188
- Duh P-D, Du P-C and Yen G-C, 1999, *Food Chem. Toxicol.* 37: 1055-1061
- Einat H, Karbovski H, Korik J, tsalah D, Belmaker RH, 1999, *Psychopharmacology* 144, 158
- Endo I, Chibuku S, Suzuki M, Kobayashi K and Naka M, 1976, *Rep. Nat. Food Res. Inst.*, 31: 1-11
- Ghoneum M, 1998, *Res. Comm.* 243: 25
- Ghoneum M and Jewett A, 2000, *Cancer Detect. Prev.* 24: 314-324
- Haber D, Siess M H, De Waziers I, Beaune P and Suschetet M, 1994, *Xenobiotica*, 24, 169
- Havemann U, Magnus B, Möller HG, Kuschinsky K, 1986, *Psychopharmacology* 90, 40
- Hedner J, Hedner T, Bergman B and Lundberg D, 1980, *J. Develop. Physiol.*, 2, 401
- Hizukuri, S, 1993, *Denpun kagaku*, 40, 133
- 허문희, 고희중, 1986, *한국육종학회지*, 18(4):374-379
- 허문희, 박순직. 1990. 쌀 품질의 고급화 및 다양화 개발심포지움, 농촌진흥청 작물시험장, pp.41-58
- Han C, 1997, *Cancer Lett.* 114: 153-158
- Hattori A, Migitaka H, Iigo M, Yamamoto K, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Suzuki T and Reiter RJ, 1995, *Biochem. Mol. Biol. Int.* 35: 627-634
- Ito Y, Yanase S, Fujita J, Harayama T, Takashima M and Imanata H, 1981, *Cancer lett.*, 13, 29
- 정국현, 고희중, 이점호, 양세준, 문헌팔, 최해춘. 2000. *한국육종학회지* 32(2):127-131
- Jenkins DJA, Leeds AR, Newtin C and Cummings JH, 1975, *Lancet*, 2, 1116
- Juliano BO, 1972, *In Rice Breeding*, Int. Rice Res. Inst, Los Banos Philippines: 389-405
- Juliano,BO. 1985. *Rice -Chemistry and Technology*. AACC Monograph Series
- Kanazawa I, Bird ED, O'Connell R, and Powell D, 1977, *Brain Res*, 120, 387
- 강미영, 고희중, 한지연. 2000. *한국식품과학회지* 32(1):82-89
- 강미영, 고희중, 성유미. 2000. *한국육종학회지* 32(1):26-32
- 강미영, 이연리, 고희중, 남석현. 2004. *한국응용생명화학회지*. 47: 61-66.
- 김광호, 안중국, 1997, *한국작물학회지* 42(3): 357-366
- 김광호, 채제천, 임무상, 조수연, 박래경. 1988. *한국작물학회지* 33권 별호(품질연구):1-17
- 김광호, 당병현, 정영평, 1999, *한국육종학회지* 31(1): 14-20
- 김광호, 허문희, 박순직, 고희중. 1991. *한국작물학회지* 36(3):197-203
- 김광호, 김기준, 성낙춘, 고희중. 1993. *농시논문집('92 농업산학협동)* 35: 23-32

- 김광호, 고희중, 이장훈, 박순직, 허문희. 1993. 한국작물학회지 38(3) :264-274
- Kim HM, Yi DK and Shin HY, 1999, Am, J. Chin. Med, 27: 63-71
- 고희중, 차건완, 허문희, 1997, 한국육종학회지 29(3): 368-375
- 고희중, 명준식, 허문희, Susan R. McCouch. 1996. 한국육종학회지 28(4): 436-444.
- 고희중, 허문희, 1994, 한국작물학회지 39(1): 1-6
- 고희중, 허문희, 1995, 한국작물학회지 40(6): 684-696
- Koh HJ, Heu MH, and Susan R. McCouch, 1996, Molecular mapping of the *ge^s* gene controlling the super-giant embryo character in rice(*Oryza sativa* L.), Theoretical & Applied Genetics, 93: 257-261
- 고희중, 원용재, 차건완, 허문희, 1996, 한국작물학회지 41(5): 600-607
- Lee CP, Chin JH, Cho YI, Koh HJ, 2004. Korean J. Breed. 36:146-150
- Lee MW, 1994, Arch Pharm Res 17, 487
- 이연리, 강미영, 고희중, 진중현, 남석현. 2004. 한국응용생명화학학회지. vol. 47, 216-221.
- Lewis MH, Baumeister AA, McCorkle DL, Mailman RB, 1985, Psychopharmacology 85, 204
- MaCleary BV and Shameer I. (1987) J. Int. Brew., 93, 87
- MaCleary BV and Shameer I, 1987, J. Cereal Sci, 6, 237
- MaCleary BV and Codd RI, 1989, J. Cereal Sci, 9, 17
- Matsuda H, Ishikado A, Nishida N, Ninomiya K, Fujiwara H, Kobayashi Y. 1998, Bioorg Med Chem Lett 8, 2939
- McGeer PL and Fibiger HC. ,1973, Neurology, 23, 912
- Miller GL, 1993, Anal. Chem., 32, 426
- Naini AB, Vontzalidou E and Cote LJ ,1993, Clinic Chem. 39, 247
- Norman EJ, Wee EL, Berry HK and Zimmerman EF, ,1985, J. Chromatogr, 337, 21.
- Okuno, K. and M. Yano. 1984. JARQ 18(2):73-78
- Omura, T. and H. Satoh. 1984. Biology of rice, pp.293-313
- Osawa T and Namiki M, 1981, Agric. Biol. Chem., 45, 735
- Perler L, Pfister H, Schweizer M, Peterhans E and Jungi JW, 1999, J. Immunol. Methods, 222: 189-196
- Perry TL, Hansen S. and Kloster M, 1973, New Engl. J. Med., 288, 337
- Porsolt RD Anton G, Blavet N, Jalfre M, 1978, Eur J Pharmacol 47, 379
- Quilladet R and Hofnung M, 1985, Mutation Res, 147 65
- Reiter RJ. 1998, Prog. Neurobiol, 56: 359-384
- Rhyu M-R, Kim D-K, Kim H-Y, and Kim B-K, 2000, J. Ethnopharm. 70: 29-34
- Ruigt GSF, Engelen S, Gerrits A, Verbon F, 1993, Neuropsychobiology 28, 138-153
- Satoh H. and T. Omura. 1981. *Oryza sativa* L. Japan J. Breed. 31(3):316-326
- Schneeman BO and Gallahr DD, 1990, J. Nutr. 124, 1747S
- Seiler, N. Saghan, S. and Roth-Schecher, B.F. (1981) Develop. Neurosci., 4, 181
- 손영희, 고희중, 이홍석, 허문희, 1997, 한국육종학회지 29(4): 424-430
- Sparagali G and Pavan F, 1972. europfamacology, 11, 45

- Suzuki K Tokoro, A Okawa, Y Suzuki, S and Suzuki M, 1986, *Microbiol. Immunol*, 30: 777-787
- Takeda R, Tanaka M, Miyazaki H, Takeo S, Nomoto K and Yoshikai Y, 1994, *Cancer Immunol. Immunother.* 38: 143-148
- Tsuda T, Watanabe M, Oshima K, Norinobu S and Osawa T, 1994 *J. Agric. Food Chem.*, 42, 2407
- Ueda K, Morita J and Komano T, 1982, *Agric. Biol. Chem*, 46, 1695
- Wee LE and Zimmerman EF, 1983, *Teratology*, 28, 15
- Wei H, Wei L, Frenfel K, Bowen R and Barnes S, 1993, *Nutri. Cancer*, 20: 1-12
- Wenk GL, 1997, Learning and memory. In, Crawley JN et al., *Current Protocols in Neuroscience* 8.5.1-8.5.11
- Wong JT, Baker GB and Coutts RT, 1990 *Res. Commun. Chem. Pathol, Pharmacol.* 70, 115