

Research Article

Open Access

녹비 작물 처리에 따른 운광벼 중 감마오리자놀 변화

김현웅¹, 신재형¹, 이민기¹, 이성현¹, 장환희¹, 조현숙², 이정태³, 전원태³, 김정봉^{1*}

¹국립농업과학원 농식품자원부, ²국립식량과학원 작물재배생리과, ³국립식량과학원 기획조정과

Treatment Effect of Green Manure Crops on Content of γ -Oryzanols from Korean Rice Variety, Unkwangbyeo

Heon-Woong Kim¹, Jae-Hyeong Shin¹, Min-Ki Lee¹, Sung-Hyeon Lee¹, Hwan-Hee, Jang¹, Hyun-Suk Cho², Jeong-Tae Lee³, Weon-Tai Jeon³ and Jung-Bong Kim^{1*} (¹Department of Agro-food Resources, National Academy of Agricultural Science, Wanyu-ju, 565-851, Korea, ²Crop Production and Physiology Research Division, National Institute of Crop Science, Wanyu-ju, 560-500, Korea, ³Planning & Coordination Division, National Institute of Crop Science, Wanyu-ju, 560-500, Korea.)

Received: 8 April 2015 / Revised: 5 June 2015/ Accepted: 26 June 2015

Copyright © 2015 The Korean Society of Environmental Agriculture

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

Abstract

BACKGROUND: γ -Oryzanol, a mixture of ferulic acid esters of triterpene alcohols and sterols, are a nutritionally important group of rice secondary metabolites. The γ -Oryzanol content and composition were found to vary with environmental factors such as growth temperature, varietal origin, and cultivation method. Therefore, the effect of green manure treatments will be also be an important factor in their content.

METHODS AND RESULTS: The γ -Oryzanols extracted using dichloromethane/methanol were analyzed equipped liquid chromatography with a diode array detector. A total of ten components of γ -oryzanol including Δ^7 -stigmasteryl ferulate were isolated of which, cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, campesterol ferulate and sitosterol ferulate were identified as the major components in Korean rice variety, Unkwang. The γ -oryzanol content in rice, in the presence of nitrogen fertilization using green manure was similar to conventional

nitrogen fertilization, but was higher than the control(no fertilizations). The γ -oryzanol content in rice, in the presence of hairy vetch as green manure crop was the highest compared to other crops (opium-poppy, crimson clover, cornflower). As a result of PLS-DA using SIMCA 11.0 ver. as multivariate analysis program on the basis of total data, in all samples, the specific pattern and cluster of γ -oryzanol scores according to green manure crops and conditions were confirmed with possible distinguishing nitrogen effects.

CONCLUSION: The nitrogen contained in the green manure crops is considered to play a major role in the formation of γ -oryzanol. Hairy vetch which contains higher nitrogen increased the concentration of γ -oryzanol in rice.

Key words: Green manure crop, Rice, Steryl ferulate, γ -oryzanol

서론

γ -Oryzanol은 화분과 식물에만 함유되어 있으며 미강에 특히 많이 함유된 쌀의 주요 기능성분으로서 콜레스테롤 감소효과, 항산화, 항염, 항암, 항균 등 인체 건강면에서 최근까지 많은 관심을 받아왔다(Xu *et al.*, 2001; Berger *et al.*,

*Corresponding author: Jung-Bong Kim
Phone: +82-63-238-3701; Fax: +82-63-238-3844;
E-mail: jungbkim@korea.kr

2005; Luo *et al.*, 2005; Islam *et al.*, 2009; Jung *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2012). γ -Oryzanol은 처음에 미강유로부터 단일물질로서 분리되었으나, HPLC 등 크로마토그래피 분리 기술의 발달에 따라 여러가지 성분의 혼합물임이 확인되었다 (Kaneko and Tsuchiya, 1954; Rogers *et al.*, 1993; Diack and Saska, 1994). 최근 GC-MS 및 LC-MS 분석을 통해 cycloartenyl ferulate (CAF), 24-methylenecycloartenyl ferulate (24-MCF), campesteryl ferulate (CSF)을 주성분으로한 10종 이상의 개별성분이 분리 및 동정되었다(Xu and Godber, 1999; Fang *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2013).

이들 개별성분 중 특히 CAF는 LPS (Lipopolysaccharide)로 염증유도된 RAW 264.7 대식세포주에 유의적으로 NF- κ B 활성을 저해하였으며, 나아가 인체 유방암 및 대장암 세포에 독성을 나타내는 것으로 보고되었다(Luo *et al.*, 2005; Islam *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2009). 따라서 이러한 연구결과들을 토대로, γ -oryzanol의 주요성분CAF는 염증과 관련있는 종양형성 및 발암기작을 저해하는 잠재적인 promoter로서 중요한 역할을 하는 것으로 판단되었다.

최근 기존의 화학비료재배에서 녹비작물을 이용한 친환경 재배로 전환, 추진되고 있으며, 이에 대한 관심도 증가하고 있는 추세에 있다. 헤어리베치는 다른 두과작물보다 질소고정 능력이 뛰어난 대표적인 작물로서 녹비재배시 벼의 생육 및 수량에 있어서 관행과 비슷하거나 우수한 것으로 보고되었으며(Lee *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2010), 두과녹비작물별 질소생산량은 녹비작물 8종(루피너스, 자운영, 알팔파, 크림손클로버, 레드클로버, 화이트클로버, 헤어리베치, 네마장황) 모두 수확시기가 늦을수록 증가하는 경향을 나타냈다(Cho *et al.*, 2010). 크림손클로버의 경우 답리작에서 녹비로 이용, 벼 재배시에는 단과보다 혼과가 유리하며, 보리와 혼과보다는 헤어리베치와 혼과하는 것이 화학비료 대체로 친환경 쌀 생산에 유리할 것으로 판단하고 있다(Jeon *et al.*, 2011).

과일류 및 채소류에 주로 함유되어있는 페놀화합물들은 대표적인 이차대사산물로서 다른 화합물에 비해 온도, 빛 등의 환경조건에 영향을 더 많이 받는 것으로 보고되었다(Kalt, 2005). 질소시비의 경우, 총페놀함량에 있어 유의적인 효과를 보이는 것으로 나타났으며(Nguyen and Niemeyer, 2008), 당근재배시 무비처리구보다 질소시비가 페놀화합물 농도 증가에 있어서 영향을 보였다(Smolén and Sady, 2009). 이처럼 화학비료처리에 따른 작물내 성분 변화 연구는 진행되어 왔으나, 녹비작물을 이용한 주요작물 재배시 수확물에 대하여 일반 및 기능성분을 평가, 비교한 경우는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 녹비 작물별 처리에 따라 재배된 한국산 운광벼 종실에 함유되어 있는 γ -oryzanol 함량 및 조성을 비교 평가 하였으며, 또한, 벼 재배시 질소시비가 γ -oryzanol 함량에 미치는 영향에 대해서 구명 하였다.

재료 및 방법

공시 재료

본 재배시험은 2012년도에 경기도 수원시에 소재한 농촌

진흥청 국립식량과학원 벼 시험 포장에서 수행되었다. 녹비작물-벼 작부체계 시험은 강서동의 토양에서 수행되었으며, 처리내용은 헤어리베치(HV) 단과, 녹비보리 단과, 헤어리베치+녹비보리 혼과 및 이앙재배(관행)로 수행하였다. 연구수행을 위해 공시품종으로 운광벼를 사용하였다. 경관작물-벼의 작부체계 시험은 신흥동의 토양에서 수행되었으며, 동계에는 크림손클로버, 양귀비, 수레국화, 헤어리베치 4작물을 공시작물로 사용하였고 하계에는 벼(운광벼)를 재배하였다. 처리내용은 경관작물+N0(의미불명하므로 ()로 하여 N0(무비처리), 경관작물+N시용(1회 N시용), 벼+N시용(1회 N시용) 각 경관작물당 3개의 처리를 두었다. 관행시비구는 질소, 인산, 칼리를 각각 10a 당 9, 4.5, 5.7 kg을 사용하였다.

기기 및 시약

전처리 과정 중에 refrigerated multi-purpose centrifuge (Hanil Science Industrial Co., Ltd. Korea), ultrasonic bath (Daihan Scientific Co. Ltd., Korea)는 추출을 위해 사용되었으며, 정량을 위한 외부표준물질로서 γ -oryzanol mixture (Wako, Japan)가 사용되었다. 그밖의 HPLC 시약으로 methanol (MeOH), acetonitrile (ACN), methylene chloride (MC), acetic acid 등은 Sigma (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

시료 전처리

간이 제현기로 왕겨를 분리하여 현미 상태로 제현한 후 sample mill으로 곱게 분쇄하여 5g을 칭량하였다. 추출은 Miller와 Engel (2006)의 방법을 변형하여 수행하였다. 5g의 powder 시료를 conical tube (50 ml)에 담아 MC-MeOH (2:1, v/v) 40 ml로 초음파추출기 (30°C)로 30분간 추출한 후, 원심분리하여(3000 rpm, 10분, 15°C) 상층액을 취하였다. 추출액을 털어내고 남은 잔여물에 대해 동일과정을 2회 반복한 다음 추출액을 모두 합하였다. 최종 추출 총액을 여과지(Advantec No.1)로 여과하였으며, 여과액은 N₂ 가스로 농축한 다음, 2 ml의 MC-MeOH (2:1, v/v)로 재용해하여 HPLC-DAD로 분석하였다.

HPLC-DAD를 이용한 γ -oryzanol의 조성 및 함량 분석

개별 γ -oryzanol을 정량하기 위해 YMC PACK ODS-AM (4.6 250 mm I.D., 4 μ m; YMC Co., Ltd., Japan) 역상 컬럼과 더불어 2998 photodiode array detector (PDA)를 장착한 Alliance e2695 HPLC system (Waters Co. Milford, MA, USA)을 이용하여 분석하였다. 검출 파장은 250-400 nm (대표파장 325 nm)에서 수행되었으며, oven 온도는 30°C, 유속은 1.4 ml/min 이었다. 이동상은 MeOH : ACN : MC : acetic acid (50:44:3:3, v/v/v/v)으로 50분간 일정하게 흘려주었다.

다변량 통계 분석

모든 시료의 γ -oryzanol 정성 및 정량 정보 데이터를 바탕

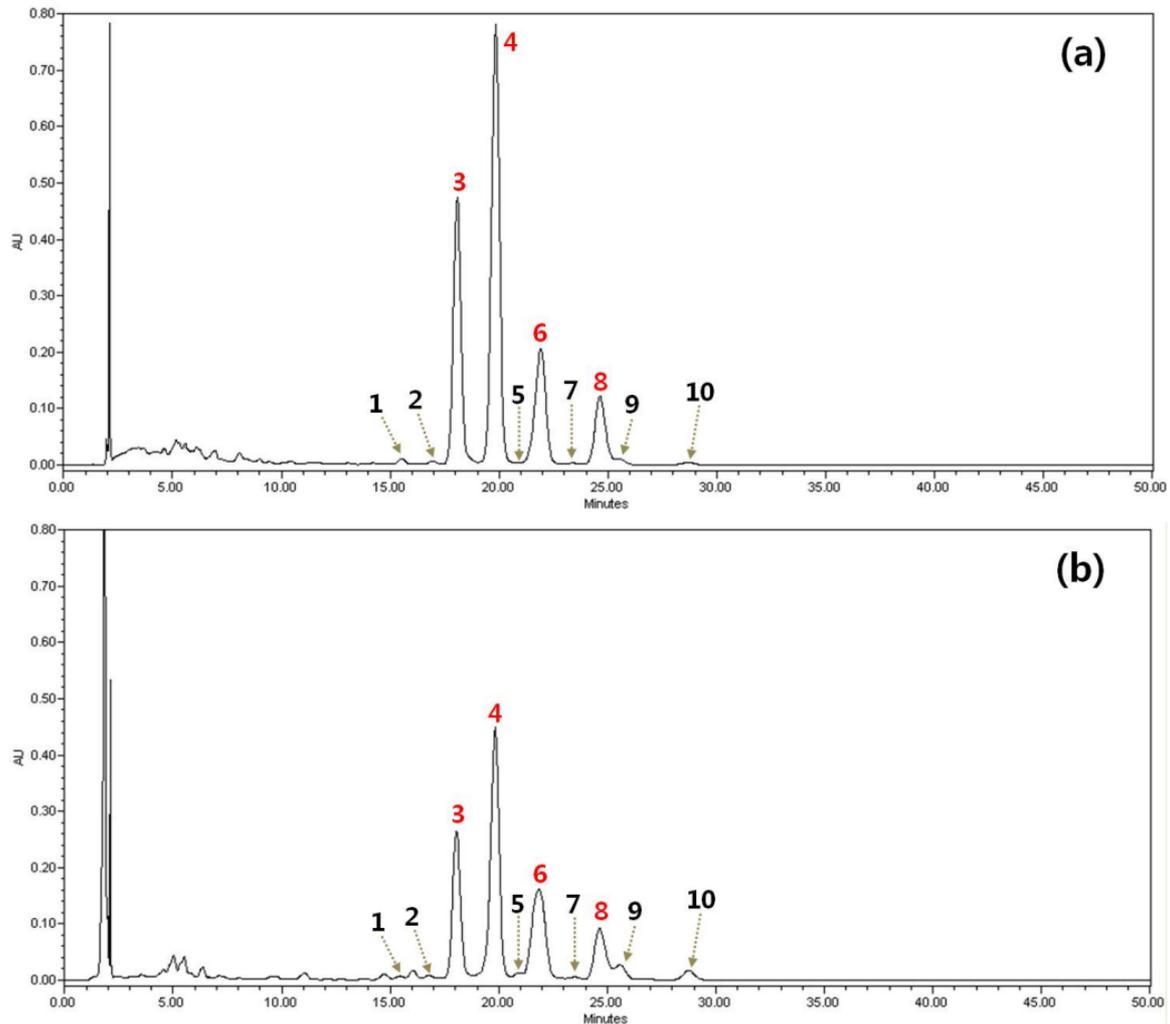


Fig. 1. HPLC chromatograms of γ -oryzanol standard and extracted from grains of the rice variety (a: standard mixture 2000ppm, b: Unkwangbyeo). 1: Δ^7 -stigmasteryl ferulate, 2: stigmasteryl ferulate, 3: cycloartenyl ferulate, 4: 24-methylenecycloartenyl ferulate, 5: Δ^7 -campestenyl ferulate, 6: campesteryl ferulate, 7: Δ^7 -sitostenyl ferulate, 8: sitosteryl ferulate, 9: campestanyl ferulate, 10: sitostanyl ferulate.

으로 정렬, 표준화한 후, SIMCA-P 11.0 software (Umetrics, Umea, Sweden)의 부분최소자승판별법(partial least squares of discriminant analysis: PLS-DA) 모델을 통해 클러스터 분석을 수행하였다.

결과 및 고찰

Fig. 1에 표준물질로 사용한 γ -oryzanol 혼합물과 운광벼 시료 추출물의 HPLC 크로마토그램을 나타냈다. Kim 등(2013)의 연구결과와 마찬가지로 총 10가지의 개별 성분이 분리되었으며, cycloartenyl ferulate (CAF), 24-methylenecycloartenyl ferulate (24-MCF), campesteryl ferulate (CSF) 및 sitosteryl ferulate (SSF)이 주요 성분으로 확인되었다. 뿐만아니라 운광벼 추출물로부터 제시된 크로마토그램을 보면 표준물질에 비해 peak 5 (Δ^7 -campestenyl ferulate), peak 7 (Δ^7 -

sitostenyl ferulate), peak 9 (campestanyl ferulate) 및 peak 10 (sitostanyl ferulate)에 해당하는 미량성분들이 보다 해상도 높게 분리되는 것을 확인할 수 있었다.

이전 2010 및 2011년도 운광벼 및 호품벼에 대해 녹비처리별 γ -oryzanol을 평가한 결과, 운광벼에서 보다 뚜렷한 패턴을 보여 2012년도에는 운광벼의 화학제초구에서만 녹비처리별로 γ -oryzanol을 평가하게 되었다. 2012년도에 운광벼 품종 종실의 처리전체 γ -oryzanol 총평균함량은 현미 100g 당 각각 48.1 ± 3.0 mg 으로, 2010 및 2011년도 보다 약간 높은 함량을 보였으나 이는 년도별 재배환경에 따른 차이로 사료되었다(Kim 등, 2014). 비슷한 사례로 유럽지역에서 생산된 벼 γ -oryzanol의 함량 및 조성은 재배년도, 재배지역환경에 따라 달라진다는 연구결과가 있었으며(Miller and Engel, 2006), 콩 종실에서도 이소플라본 총함량이 재배년도 및 지역에 의해 영향을 받는 연구보고가 있었다(Seguín and Zheng,

Table 1. Comparison of contents by γ -oryzanol composition from grains of the Korean rice variety, 'Unkwang' by green manure conditions in 2012 year

Green manure crops	Weeding conditions	Steryl and triterpene alcohol ferulates, proportions in total γ -oryzanol (%)										γ -Oryzanol content (mg/100 g hulled rice)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Control	Chemical	0.7±0.1	0.9±0.0	21.3±0.5	37.8±0.5	1.2±0.0	21.5±0.8	0.6±0.1	10.7±0.0	3.3±0.1	1.9±0.0	48.7±2.1
Hairy vetch	Chemical	0.6±0.0	0.9±0.1	23.6±0.8	37.1±0.5	1.0±0.1	20.8±1.1	0.4±0.1	10.9±0.1	2.9±0.0	1.9±0.1	49.1±2.3
Barley	Chemical	0.5±0.1	0.6±0.2	23.4±0.1	36.9±0.2	0.9±0.0	20.8±0.2	0.3±0.0	11.6±0.1	3.1±0.0	1.9±0.0	44.2±0.9
Hairy vetch+Barley	Chemical	0.6±0.0	0.8±0.1	23.8±0.3	37.3±0.3	0.9±0.1	20.7±0.4	0.3±0.1	10.8±0.1	2.9±0.0	1.9±0.1	50.6±2.3
	Mean	0.6	0.8	23.0	37.3	1.0	20.9	0.4	11.0	3.1	1.9	48.1
	S.D. ^a	0.1	0.2	1.1	0.5	0.1	0.7	0.2	0.4	0.2	0.0	3.0

1: Δ^7 -stigmasteryl ferulate, 2: stigmasteryl ferulate, 3: cycloartenyl ferulate, 4: 24-methylenecycloartenyl ferulate, 5: Δ^7 -campestenyl ferulate, 6: campesteryl ferulate, 7: Δ^7 -sitostenyl ferulate, 8: sitostenyl ferulate, 9: campestanyl ferulate, 10: sitostanyl ferulate.

a: S.D.: standard deviation

*All results were performed by three replicates

Table 2. Comparison of contents by γ -oryzanol composition from grains of the Korean rice variety, 'Unkwang' by green manure crops and conditions

Green manure crops	Conditions	Steryl and triterpene alcohol ferulates, proportions in total γ -oryzanol(%)										γ -Oryzanol content (mg/100g hulled rice)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Hairy vetch	a	0.5±0.0	0.8±0.0	23.7±1.0	37.8±0.6	0.9±0.1	20.5±1.2	0.4±0.2	11.0±0.1	2.7±0.1	1.8±0.1	46.6±6.1
	b	0.4±0.1	0.7±0.0	26.3±0.8	36.9±0.2	0.7±0.0	19.2±0.8	0.2±0.0	11.3±0.1	2.5±0.0	1.8±0.0	52.8±5.4
	c	0.4±0.1	0.7±0.0	26.0±1.3	36.5±0.2	0.7±0.0	19.8±1.0	0.2±0.0	11.3±0.1	2.6±0.0	1.8±0.0	51.0±6.4
	Mean±SD	0.5±0.1	0.7±0.1	25.3±1.5	37.1±0.7	0.7±0.1	19.8±1.0	0.3±0.1	11.2±0.2	2.6±0.1	1.8±0.0	50.1±5.9
Opium-poppy	a	0.7±0.1	0.5±0.2	22.6±0.6	38.0±0.4	1.0±0.1	20.3±0.3	0.3±0.0	11.8±0.2	2.9±0.1	1.9±0.0	38.0±0.5
	b	0.6±0.0	0.8±0.0	23.6±0.2	37.9±0.3	0.9±0.1	19.7±0.7	0.3±0.0	11.5±0.1	2.7±0.1	1.8±0.0	43.6±3.9
	c	0.5±0.0	0.8±0.0	24.3±0.5	37.5±0.2	0.9±0.1	19.9±0.5	0.4±0.2	11.2±0.2	2.6±0.1	1.8±0.0	45.1±8.4
	Mean±SD	0.6±0.1	0.7±0.2	23.5±0.8	37.8±0.4	0.9±0.1	20.0±0.5	0.3±0.1	11.5±0.3	2.7±0.1	1.9±0.1	42.3±5.7
Crimson clover	a	0.6±0.0	0.7±0.1	23.4±0.1	38.3±0.1	1.0±0.1	19.4±0.3	0.3±0.1	11.6±0.1	2.8±0.0	1.9±0.0	38.6±4.5
	b	0.6±0.0	0.8±0.0	24.2±0.4	37.8±0.3	0.9±0.1	19.5±0.2	0.3±0.1	11.4±0.1	2.7±0.0	1.8±0.0	44.7±5.3
	c	0.5±0.0	0.7±0.0	24.7±0.2	37.6±0.0	0.9±0.1	19.6±0.3	0.3±0.1	11.3±0.1	2.6±0.0	1.8±0.0	46.0±2.9
	Mean±SD	0.6±0.1	0.7±0.1	24.1±0.6	37.9±0.3	0.9±0.1	19.5±0.3	0.3±0.1	11.5±0.2	2.7±0.1	1.8±0.0	43.1±5.1
Cornflower	a	0.5±0.1	0.7±0.1	23.8±0.4	37.9±0.3	0.9±0.1	19.9±0.4	0.4±0.1	11.2±0.1	2.7±0.1	1.8±0.0	40.5±2.4
	b	0.5±0.1	0.7±0.1	24.0±0.6	38.1±0.1	0.9±0.1	19.7±0.7	0.3±0.2	11.2±0.1	2.7±0.0	1.8±0.0	46.1±7.7
	c	0.5±0.0	0.7±0.1	24.1±0.4	37.8±0.2	0.8±0.1	20.0±0.6	0.4±0.2	11.3±0.2	2.6±0.1	1.8±0.0	40.6±2.2
	Mean±SD	0.5±0.1	0.7±0.1	24.0±0.5	37.9±0.3	0.9±0.1	19.9±0.5	0.4±0.1	11.2±0.1	2.7±0.1	1.8±0.0	42.4±5.0

1: Δ^7 -stigmasteryl ferulate, 2: stigmasteryl ferulate, 3: cycloartenyl ferulate, 4: 24-methylenecycloartenyl ferulate, 5: Δ^7 -campestenyl ferulate, 6: campesteryl ferulate, 7: Δ^7 -sitostenyl ferulate, 8: sitostenyl ferulate, 9: campestanyl ferulate, 10: sitostanyl ferulate.

a: no fertilization, b: conventional nitrogen fertilization, c: green manure fertilization (표안에 표시 없음)

*All results were performed by three replicates

2006). 2010 및 2011년도와 마찬가지로 처리에 따른 개별성 분별 비중 변화는 거의 없었으며, γ -oryzanol 총합량 역시 헤어리베치 및 HV+보리가 관행보다 비슷하거나 다소 증가하는 경향을 보였으나, 보리에서는 약간 감소하는 경향을 나타냈다(Table 1). 기존 연구를 토대로 이러한 결과들은 벼 재배시 녹비작물의 단파보다 혼파가 유리하다는 패턴과 유사한 것으로 나타났다(Jeon 등, 2011). 나아가 질소고정능력이 서

로 다른 녹비작물들에 의한 차이로 나타난 결과로 판단된다.

Table 2는 운광벼에 대해 무비처리구, 관행질소시비구(화학비료처리구), 녹비처리구(헤어리베치, 양귀비, 크림손클로버, 수레국화)로 나누어서 γ -oryzanol 조성 및 함량을 비교한 것이다. γ -Oryzanol 총 함량에 있어 헤어리베치가 다른 녹비작물(양귀비, 크림손클로버, 수레국화)보다 평균 7-8 mg 높은 함량을 나타냈다. 뿐만 아니라 모든 녹비작물 처리구는

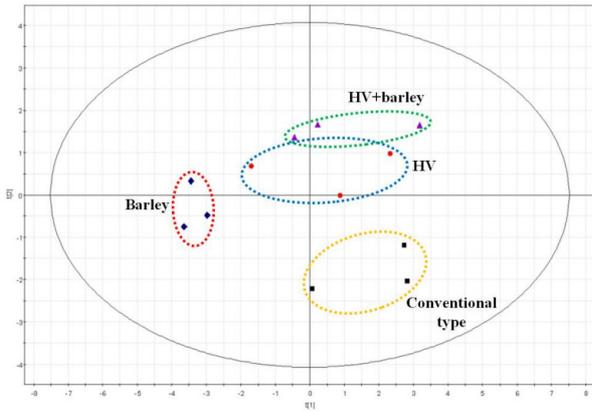


Fig. 2. Scores plotting chart of principal components 1 and 2 of the PLS-DA results obtained from the data set by γ -oryzanol profiling of Korean rice variety, Unkwang in green manure conditions (Classification by green manure conditions as chemical weeding in 2012 year).

각각의 관행 화학비료 처리구와 비슷하거나 약간 높았으며, 무비처리구보다는 확실히 높게 나타났다. 이러한 결과들은 벼 생육과정 중 질소가 oryzanol(다른 곳과 통일) 형성에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 사료되었다. γ -Oryzanol 역시 구조적인 면에서 엄밀히 따지면, ferulic acid esters 화합물로 페놀화합물에 속하며, 페놀화합물은 작물의 대표적인 이차대사산물로서 기후, 시비, 토양 등 재배환경에 영향을 많이 받으므로(Kalt, 2005; Nguyen and Niemeyer, 2008) 이와 연관성 있는 연구가 반드시 필요하다. 딸기의 경우, 질소 시비량 및 시비방법에 따라 당, 카로티노이드, 페놀화합물의 함량이 달라지는데, 특히 페놀화합물 함량은 질소시비량이 증가할수록 뚜렷하게 증가하는 경향을 나타냈고(Smolén and Sady, 2009), 콩에서는 토양의 적절한 염화칼륨(K)비료 처리에 의해 이소플라본 함량이 증진되었음이 보고된 바 있다(Vyn 등, 2002). 차후에 벼 종실에서 γ -oryzanol 이외에 기타 이차대사물질에 대한 평가, 비교도 중요할 것으로 사료되며, 벼 뿐만 아니라 다른 주요 작물에 대해서도 녹비처리가 미치는 영향조사가 필요할 것으로 판단된다.

PLS-DA는 기존의 PCA에 비하여 이미 정해진 군집별 특성을 판별하는데 훨씬 유리하며(Perez-Enciso and Tenenhaus, 2003), 대사체 분석 데이터는 정렬, 표준화 등의 작업을 거쳐 주성분 스코어를 통해 시각화시킬 수 있다. Fig. 2, 3에서 나타나는 개별 스코어에는 녹비 작물 및 처리별 운광벼 시료의 γ -oryzanol profiles에 따른 함량정보가 담겨있어 전체적인 패턴, 변이 및 클러스터 형성 여부 등을 한눈에 확인할 수 있다. 관행, 헤어리베치, HV+보리, 보리 녹비처리에 따른 각 집단 간의 γ -oryzanol 조성 및 함량에 대한 상관관계를 PLS-DA 스코어 plotting을 통해 표현한 결과, PC 1 및 PC 2는 각각 63.9%, 18.9%로 전체변이의 약 83%를 설명할 수 있었고, 녹비처리별로 독립된 4개의 클러스터를 각각 형성하였으며, 이는 미량이지만 처리별 함량 변화가 뚜렷함을 제시

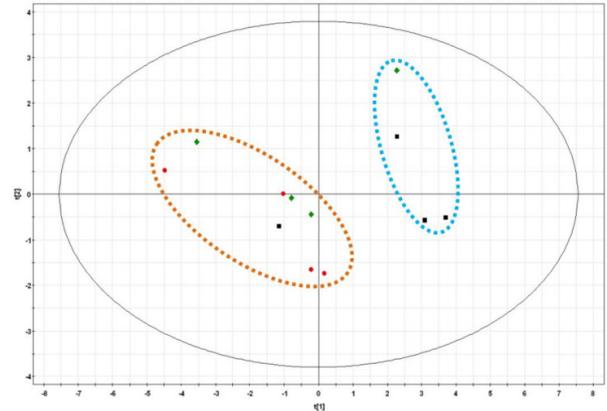


Fig. 3. Scores plotting chart of principal components 1 and 2 of the PLS-DA results obtained from the data set by γ -oryzanol profiling of Korean rice variety, Unkwang in green manure conditions (Classification by green manure crops and conditions). Class 1 (black box): no fertilization, Class 2 (red circle): conventional nitrogen fertilization, Class 3 (green diamond): green manure fertilization.

하였다. 클러스터 거리를 보면 관행을 기준으로 보리처리구가 가장 멀리 떨어져 있는 것으로 나타나, 2010년도 결과처럼(Kim 등, 2014) 좌측에 클러스터에 속한 보리처리구가 전체적으로 낮은 함량을 나타내는 것을 알 수 있다(Fig. 2).

Fig. 3의 경우, 무비처리구, 관행질소시비구, 녹비처리구에 따른 각 집단 간 γ -oryzanol 조성 및 함량에 대한 상관관계를 PLS-DA 스코어 plotting을 통해 표현한 결과, PC 1 및 PC 2는 각각 64.1%, 16.7%로 전체변이의 약 81%를 설명할 수 있었다. 녹비작물들이 시비조건에 따라 클러스터를 형성하였으며, 좌측의 화학비료 및 녹비처리구가 우측의 무비처리구보다 높은 함량을 나타내 확실히 두 집단으로 나뉘는 것을 확인하였다.

결론

한국산 벼 품종 운광벼 중 녹비작물의 종류 및 처리별 시료에 대해 역상 HPLC 방법을 이용하여 γ -oryzanol 함량 및 개별성분 조성을 평가한 결과는 다음과 같다.

운광벼 시료로부터 총 10종의 γ -oryzanol 성분이 분리되었으며, 이중 cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, campesteryl ferulate 및 sitosterlyl ferulate가 주요 성분으로 확인되었다. 2012년도 운광벼 품종 종실의 처리전체 γ -oryzanol 총평균함량은 현미 100 g당 각각 48.1 ± 3.0 mg 이었으며, 2010 및 2011 년도와 마찬가지로 녹비처리별 화학제초구는 관행보다 헤어리베치 및 HV+보리가 비슷하거나 다소 증가하는 경향을 보였으나, 보리에서는 약간 감소하는 경향을 보였다. γ -Oryzanol 총 함량에 있어 헤어리베치가 다른 녹비작물(양귀비, 크림손클로버, 수레국화)보다 평균 7-8 mg 높은 함량을 나타내었다. 뿐만 아니라 모든

녹비작물 처리구는 각각의 화학비료 처리구와 비슷하거나 약간 높았으며, 무비처리구 보다 현저히 높게 나타났다.

Acknowledgment

This study was carried out with the support of 'Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ009472) Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Berger, A., Rein, D., Schäfer, A., Monnard, I., Gremaud, G., Lambelet, P., & Bertoli, C. (2005). Similar cholesterol-lowering properties of rice bran oil, with varied γ -oryzanol, in mildly hypercholesterolemic men*. *European Journal of Nutrition*, 44(3), 163-173.
- Cho, H. S., Jeon, W. T., Seong, K. Y., Kim, M. T., Lee, J. K., Kim, C. G., & Jeong, K. H. (2010). Evaluation of Legume Green Manure Crops for Spring-Sowing in the Central Regions of Korea. *Korean Journal of Crop Science*, 55(4), 333-338.
- Diack, M., & Saska, M. (1994). Separation of vitamin E and γ -oryzanols from rice bran by normal-phase chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71(11), 1211-1217.
- Fang, N., Yu, S., & Badger, T. M. (2003). Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), 3260-3267.
- Islam, M. S., Yoshida, H., Matsuki, N., Ono, K., Nagasaka, R., Ushio, H., Guo, Y., Hiramatsu, T., Hosoya, T., Murata, T., Hori, M., & Ozaki, H. (2009). Antioxidant, Free Radical-Scavenging, and NF- κ B-Inhibitory Activities of Phytosterol Ferulates: Structure-Activity Studies. *Journal of Pharmacological Sciences*, 111(4), 328-337.
- Jeon, W. T., Seong, K. Y., Kim, M. T., Oh, I. S., Choi, B. S., & Kang, U. G. (2011). Effect of monoculture and mixtures of green manure crimson clover (*Trifolium incarnatum*) on rice growth and yield in paddy. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 44(5), 847-852.
- Jung, E. H., Ha, T. Y., & Hwang, I. K. (2010). Anti-hyperglycemic and antioxidative activities of phenolic acid concentrates of rice bran and hydroxycinnamic acids in cell assays. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 23(2), 233-239.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1), R11-R19.
- Kaneko, R., & Tsuchiya, T. (1954). New compound in rice bran and germ oils. *The Journal of the Society of Chemical Industry, Japan*, 57(7), 526.
- Kim, H. W., Kim, J. B., Shanmugavelan, P., Kim, S. N., Cho, Y. S., Kim, H. R., Lee, J. T., Jeon, W. T., & Lee, D. J. (2013). Evaluation of γ -oryzanol content and composition from the grains of pigmented rice-germplasms by LC-DAD-ESI/MS. *BioMed Central Research Notes* 6, 2-11.
- Kim, H. W., Lee, S. H., Lee, Y. M., Jang, H. H., Hwang, K. A., Cho, H. S., Lee, J. T., Jeon, W. T., & Kim, J. B. (2014). Variation of γ -oryzanol by incorporation of green manure crops in Korea rice cultivars. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 47(4), 275-283.
- Kim, Y. J., Ko, J. H., Kim, E. H., Nam, H. J., Jo, S. H., Kim, H. W., Kim, J. B., & Han, B. S. (2012). Quantification of γ -Oryzanol Components and Comparison Its Biological Activity in Brown Rice. *The Korean Journal of Food And Nutrition*, 25(3), 499-504.
- Lee, S. H., Jeon, W. T., Kim, M. T., Cho, H. S., & Song, B. H. (2009). Study on productivity, mineral contents, and the uptake amounts of hairy vetch as green manure crop with different seeding dates and amounts. *Journal of Agricultural Science*, 25(1), 1-6.
- Luo, H. F., Li, Q., Yu, S., Badger, T. M., & Fang, N. (2005). Cytotoxic hydroxylated triterpene alcohol ferulates from rice bran. *Journal of Natural Products*, 68(1), 94-97.
- Miller, A., & Engel, K. H. (2006). Content of γ -oryzanol and composition of sterol ferulates in brown rice (*Oryza sativa* L.) of European origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(21), 8127-8133.
- Nguyen, P. M., & Niemeyer, E. D. (2008). Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8685-8691.
- Pérez-Enciso, M., & Tenenhaus, M. (2003). Prediction of clinical outcome with microarray data: a partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) approach. *Human Genetics*, 112(5-6), 581-592.
- Rogers, E. J., Rice, S. M., Nicolosi, R. J., Carpenter, D. R., McClelland, C. A., & Romanczyk Jr, L. J. (1993). Identification and quantitation of γ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(3), 301-307.

- Seguin, P., & Zheng, W. (2006). Potassium, phosphorus, sulfur, and boron fertilization effects on soybean isoflavone content and other seed characteristics. *Journal of Plant Nutrition*, 29(4), 681-698.
- Smole, S., & Sady, W. (2009). The effect of various nitrogen fertilization and foliar nutrition regimes on the concentrations of sugars, carotenoids and phenolic compounds in carrot (*Daucus carota* L.). *Scientia Horticulturae*, 120(3), 315-324.
- Song, B. H., Lee, K. A., Jeon, W. T., Kim, M. T., Cho, H. S., Oh, I. S., Kim, C. G., & Kang, U. G. (2010). Effects of green manure crops of legume and gramineae on growth responses and yields in rice cultivation with respect to environment friendly agriculture, *Korean J. Crop Sci.* 55, 144-150.
- Vyn, T. J., Yin, X., Bruulsema, T. W., Jackson, C. J. C., Rajcan, I., & Brouder, S. M. (2002). Potassium fertilization effects on isoflavone concentrations in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3501-3506.
- Xu, Z., & Godber, J. S. (1999). Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7), 2724-2728.
- Xu, Z., Hua, N., & Godber, J. S. (2001). Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2, 2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 2077-2081.