

국내산 보리와 밀 추출물의 항산화 및 항균 활성

조성훈 · 조차영 · 하경수 · 최은지 · 강유리 · 권영인[†]

한남대학교 식품영양학과

The Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Selected Barley and Wheat Inhabited in Korean Peninsula

Sung-Hoon Jo, Cha-Young Cho, Kyoung-Soo Ha, Eun-Ji Choi, Yu-Ri Kang, and Young-In Kwon[†]

Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

ABSTRACT In this study, the antibacterial activities of selected barleys (UB, unhulled barley; PB, pearl barley; and NB, naked barley) and wheat (WG, wheat with germ and endosperm) extracts were evaluated against the food-borne pathogens *Staphylococcus aureus* KCTC 1927, *Escherichia coli* KCTC 2593, *Salmonella* Typhimurium KCTC 2054, and *Bacillus cereus* KCTC 1014. The amount of the antibacterial biomarker, 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone (DMBQ), present in selected barleys and wheat, was measured by HPLC. Furthermore, antioxidant activity of samples was determined using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. WG (22.35±0.04 mm) was found to be highly inhibitory to *Staphylococcus aureus* followed by UB (17.91±0.10 mm), PB (16.87±0.05 mm), and NB (15.69±0.20 mm). The antibacterial activity of the selected grains was correlated with antioxidant activities and the amount of DMBQ (Pearson's correlation coefficient, 0.7831). The antioxidant activity of the selected grains was also correlated with the total phenolic content (Pearson's correlation coefficient, 0.9934). WG extract showed significantly higher antibacterial activity, compared with barley extracts such as UB, PB, and NB. The results of this study suggest that barley has a potential in the development of natural antimicrobials and food preservatives for controlling food-borne pathogens.

Key words: antimicrobials, 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone, antioxidant, wheat, barley

서 론

식품의 부패, 변질의 원인은 화학적 원인, 생물학적 원인, 물리적 원인으로 나눌 수 있다. 이중 화학적 원인으로 산화와 산패, 생물학적 원인으로 미생물에 의한 오염이 식품을 보존하는데 가장 문제가 되고 있다. 이를 방지하기 위해 대부분 화학적 합성품으로 이루어진 보존료를 사용하고 있다. 그러나 경제성장과 더불어 소비자 의식의 변화에 의해 건강에 도움을 주는 식품을 바라는 욕구가 증대됨에 따라 식품업체에서도 식품을 보존함에 있어 화학적 합성 첨가물을 제한하고 천연물 유래의 식품보존제를 사용하고자 하는 추세이다(1,2). 따라서 효과적인 식품보존을 위해서는 미생물에 의한 오염을 저해하고 산패를 막을 수 있는 항산화 효과와 항균 효과를 지니고 있는 천연물 유래의 천연 보존제 개발이 필요하다.

최근 연구에 의하면 천연 보존제는 자몽종자 추출물, 허브류, 블루베리, 무스카딘(3-5) 등으로 식물 유래의 천연 보존제가 많이 연구가 되고 있으나 전 세계적으로 오랫동안 섭

취하여온 맥류 유래의 천연보존제 연구는 미진한 상태이다.

맥류는 귀리, 보리, 밀 등을 총칭하며 약 1만 5000년 전부터 식용작물로서 사용되어 왔다(6). 이 중 보리는 껍질이 잘 분리되어 식용으로 사용하는 쌀보리(naked barley)와 껍질이 분리되지 않아서 사료로 사용하는 겉보리(unhulled barley)로 나눌 수 있으며, 쌀보리는 다시 아밀로스와 아밀로펙틴의 함량에 따라서 찰보리(glutinous barley, waxy barley)와 메보리(non waxy barley)로 나누는데, 찰보리는 메보리보다 아밀로펙틴의 함량이 높은 특성을 가지고 있으며, 취반 특성과 식감을 개선되어 소비자들이 식용으로 주로 이용하고 있다(7,8).

밀은 전세계에 약 22종이 있는데 크게 보통계 밀(*Triticum aestivum*)과 1립계 밀, 2립계 밀, 티모피비계 밀로 나눈다. 보통계 밀은 세계 재배 면적의 90%를 차지하고 있으며 한국에서 재배하는 밀도 모두 이 종에 속한다. 밀과 보리와 같은 맥류에는 세포벽을 구성하는 식이섬유가 다량 함유되어 있어 식이섬유의 중요한 급원으로 이용할 수 있다. 수용성 식이섬유는 체내 혈중 콜레스테롤을 경감시키는 효과가 있으며 맥류내 β -glucan은 콜레스테롤 저하효과, 혈중 포도당 농도 조절, 암 예방 효과 등 생리적 기능은 많이 알려져 있다(9,10). 따라서 본 연구에서는 국내외적으로 대량생산 및 소

Received 8 March 2013; Accepted 18 March 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: youngk@hnu.kr, Phone: 82-42-629-8790

비가 이루어지고 있는 맥류 중 도정도가 다른 국내산 보리와 밀의 추출물로부터 항균, 항산화 활성을 탐색하고 이에 따른 지표물질들을 분석함으로써 경제성이 확보된 천연보존제로의 활용 가능성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 균주는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1927(*S. aureus*), *Bacillus cereus* KCTC 1014(*B. cereus*), *Escherichia coli* KCTC 2593(*E. coli*)과 *Salmonella* Typhimurium KCTC 2054(*S. Typhimurium*)로 한국생명자원센터(대전)에서 분양 받아 사용하였으며, 배양배지는 nutrient broth(0.03% beef extract, 0.05% peptone)를 사용하였고, 실험에 사용된 밀은 통밀(WG, wheat with germ and endosperm)로 (주)콩두울(고창)에서 제공 받았고, 보리는 왕겨와 배아 배유를 포함한 겉보리(UB, unhulled barley), 배아와 배유만을 포함한 통보리(PB, pearl barley), 배유만을 포함한 쌀보리(NB, naked barley)로 국립식량과학원(수원)에서 분양 받아 사용하였다.

시료의 추출

각 시료는 10 g당 250 mL 증류수를 넣고 혼합한 후 100 mL의 100% chloroform(CHCl_3)을 넣고 다시 혼합하였다. 이 혼합액을 centrifuge(Hanil Industrial Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 $6,000 \times g$, 30 min, 4°C 에서 원심분리하고, chloroform 층만 회수 후 Whatman No.5 필터를 사용하여 필터한 다음 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 용매를 완전히 제거 후 freeze dryer(Ilshin lab Co. Ltd., Yangju, Korea)로 동결건조 하여 사용하였다.

항균효과 검정

식중독을 유발하는 세균에 대한 항균효과는 well diffusion 방법으로 실시하였다(11). 각 균주는 nutrient medium를 사용하여 16시간(*E. coli*는 8시간 배양) 37°C (*B. cereus*는 30°C 배양)에서 배양 후 사용하였다. 각 균주는 0.5 mL씩 40°C , 150 mL의 nutrient agar와 혼합하여 agar plate(23×23 cm)를 제조하였다. Well diffusion 실험에 사용된 시료는 150 μL 의 CHCl_3 에 녹인 후 멸균된 천공기를 이용하여 8 mm의 구멍을 낸 후 150 μL 의 시료를 주입하여 37°C 에서 배양 후 well 주위에 생성된 inhibition zone의 직경을 측정하여 항균력을 계산하였다.

Oxygen radical absorbance capacity(ORAC)

ORAC assay는 식품이나 음료의 total antioxidant capacity를 양적으로 측정하여 항산화 활성을 평가하기 위한 도구로 널리 활용되는 방법으로 free radical에 의해 유도되

는 손상으로부터 시료에 의한 보호 능력을 측정한다. ORAC 법을 이용한 항산화 활성 측정은 peroxy radical scavenging capacity(ORAC_{ROO}) assay를 사용하였다(12). ORAC_{ROO} assay에는 40 nM fluorescein과 5 mM 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH)를 사용하여 fluorescence plate reader(Tecan, Salzburg, Austria)로 excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm에서 형광을 측정하였다. ORAC_{ROO}의 결과는 vitamin E 수용성유도체인 trolox(6-hydroxy-2, 5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) 1 μM 에 의해 보호된 curve area와 비교하여 배수로 나타냈다.

HPLC 분석

본 실험에 사용된 시료들의 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone(DMBQ) 함량은 HPLC를 이용하여 분석하였다. DMBQ 함량의 HPLC 분석은 Tosoh 8010 series(Tosoh Co, Tokyo, Japan), UV 8010 diodearray UV-Vis detector(Tosoh), RP-Amide C16(250×4.6 mm) column(Supelco, Bellefonte, PA, USA)을 사용하였고, 분석 용매로는 0.0025 M KH_2PO_4 : acetonitrile[80:20(v/v)]을 혼합한 단일 용매를 이동상으로 사용하여 50분간 분석하였으며, 유속은 0.7 mL/min, 주입량은 20 μL 로 270 nm 파장에서 분석하였다(13).

총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량의 측정은 건조하여 분말화시킨 5종의 시료 0.1 g을 distilled water 10 mL에 넣고 20분간 교반한 후 원심분리 하여 상등액을 취하였다. 시험관에 시료의 희석액 1.0 mL, 95% ethanol 1.0 mL, 증류수 5.0 mL, 50% Folin-Ciocalteu phenol reagent 0.5 mL를 가하고, 5분간 상온($25^\circ\text{C} \pm 1$)에서 반응시켰다. 그 후 5% Na_2CO_3 1 mL 가하고 암실에서 1시간 보관하였다. Voltex 후 725 nm에서 spectrophotometer(UV160A, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 지표물질인 gallic acid를 증류수에 녹여 추출물 희석액과 같은 방법으로 반응시켜 표준 검량 곡선을 작성한 후, 총 페놀 함량은 gallic acid-equivalent 값으로 계산하였으며, 모든 측정은 3회 반복하여 평균 값을 내어 계산하였다(14).

통계처리

SPSS(Statistical Package for Social Science, v 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)에 의한 Duncan의 다범위검정(Duncan's multiple range test)을 통하여 $P < 0.05$ 에서 각 시료 간의 유의적인 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

항균활성 검정과 보리의 HPLC 분석

전자 수송체에 관여하여 미생물이나 곰팡이들의 생장을

Table 1. DMBQ content ($\mu\text{g}/100$ g-fresh weight) analyzed by HPLC in chloroform extracts of barley and wheat

| | DMBQ ($\mu\text{g}/100$ g-f.w) |
|------------------------------------|----------------------------------|
| Naked barley (NB) | 19.3 \pm 0.9 ^{1) b2)} |
| Pearl barley (PB) | 20.4 \pm 0.7 ^b |
| Unhulled barley (UB) | 29.8 \pm 0.9 ^b |
| Wheat with germ and endosperm (WG) | 280.0 \pm 60.0 ^a |

¹⁾Values are mean \pm SD (n=3).

²⁾Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

억제하는 것으로 알려져 있는 DMBQ의 함량과 그에 따른 항균활성을 측정하였다(15,16). 도정 정도에 따른 보리(NB, PB, UB, WG) 추출물의 HPLC를 통한 분석 결과, 모든 추출물에서 항균 활성물질인 DMBQ를 확인할 수 있었으며, 이중 통밀(WG)이 280.0 \pm 60.0 $\mu\text{g}/100$ g-f.w으로 함량이 가장 높았고 겉보리(UB), 통보리(PB), 쌀보리(NB) 순으로 함량이 나타났다(29.8 \pm 0.9, 20.4 \pm 0.7, 19.3 \pm 0.9 $\mu\text{g}/100$ g-f.w)(Table 1). 그리고 추출물들의 항균 활성을 well diffusion 방법으로 식중독 유발 미생물인 *S. Typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*를 대상으로 측정하였다. 그람 양성균(*S. aureus*, *B. cereus*)과 음성균(*S. Typhimurium*, *E. coli*)에 항균작용을 하는 chloramphenicol(CMP)을 대조군으로 항균 효과를 분석한 결과, 모든 추출물에서 *S. aureus*에 대한 항균활성을 나타내었고, NB, PB, UB 순으로 (15.69 \pm 0.20, 16.87 \pm 0.05, 17.91 \pm 0.10 mm) *S. aureus* 항균활성을 나타내었으며, WG 추출물은 22.35 \pm 0.04 mm로 보리 추출물들과 비교하였을 때 상대적으로 높은 활성을 나타내었다(Table 2). 그리고 이와 같은 결과를 DMBQ 함량과 항균활성(anti-*S. aureus*)의 상관성을 피어슨 상관계수(Pearson's correlation coefficient)로 비교분석해 보았을 때, 0.9597로 높은 유의성을 나타냄을 알 수 있었다(Table 3).

이러한 결과는 *Gunnera perpensa*의 뿌리와 *Eucalyptus* tar에 DMBQ 함량이 높았고 이에 따라 이들 식물의 추출물이 높은 항균 활성을 나타낸다고 보고(14-16)와 같이 항균 활성의 활성지표물질이 동일하였으며, Kim 등(17)이 DMBQ가 그람양성 및 음성세균에 항균활성이 있다는 보고와도 일치하였다.

Table 2. Antibacterial activities of barley and wheat extracts, chloramphenicol (CMP, positive control), and chloroform (CHCl₃, negative control) as measured by the inhibition zone test (units: mm)

| | <i>S. Typhimurium</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>B. cereus</i> |
|-------------------|-----------------------|------------------|------------------|------------------|
| CMP 100 ppm | 19.37 \pm 0.02 | 15.12 \pm 0.00 | 27.30 \pm 0.03 | 30.70 \pm 0.05 |
| CMP 500 ppm | 36.14 \pm 0.20 | 20.12 \pm 0.02 | 48.44 \pm 0.32 | 39.41 \pm 0.40 |
| CMP 1,000 ppm | 36.21 \pm 0.65 | 26.91 \pm 0.12 | 53.20 \pm 0.22 | 44.04 \pm 0.17 |
| CHCl ₃ | 10.00 \pm 0.14 | 11.99 \pm 0.01 | 11.53 \pm 0.01 | 11.24 \pm 0.08 |
| NB ¹⁾ | — | 13.10 \pm 0.25 | 15.69 \pm 0.20 | 13.27 \pm 0.21 |
| PB | 9.25 \pm 0.05 | 14.73 \pm 0.15 | 16.87 \pm 0.05 | 13.70 \pm 0.09 |
| UB | 9.48 \pm 0.01 | 14.45 \pm 0.20 | 17.91 \pm 0.10 | 14.28 \pm 0.11 |
| WG | 10.53 \pm 0.07 | 15.31 \pm 0.35 | 22.35 \pm 0.04 | 15.00 \pm 0.04 |

¹⁾NB: naked barley extract, PB: pearl barley, UB: unhulled barley, WG: wheat with germ and endosperm.

Table 3. Pearson's correlation coefficient of barley and wheat

| | Pearson's correlation coefficient |
|--|-----------------------------------|
| DMBQ contents: antibacterial activity | 0.9597 |
| Total phenolics contents: antioxidant activity | 0.9934 |
| Antibacterial activity: antioxidant activity | 0.7832 |

또한 보리 추출물의 경우, 도정이 진행됨에 따라 항균 활성과 DMBQ 함량이 감소하는 것으로 보아 도정 시 제거되는 배아와 겨 부분에 항균 활성을 나타내는 DMBQ의 함량이 높을 것을 예측할 수 있었다. 대조군으로 분석한 통밀 추출물 또한 높은 DMBQ의 함량으로 인해 상대적으로 높은 항균 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과들은 결론적으로 밀 배아로부터 DMBQ 함량과 항균 효과를 확인한 Kim 등(17)과 Lana 등(18)의 결과와 일치하였으며, 곡류의 가공 정도에 따라 항균활성이 상이함을 이용하여 천연물 유래의 보존제 개발이 가능할 것을 의미하며, 보존제 개발 시 지표물질로서 DMBQ의 함량분석을 통해 소재의 효능을 평가할 수 있을 것으로 사료된다.

보리, 밀 추출물의 총 페놀 함량과 항산화 효과

보리와 밀 추출물을 peroxy radical scavenging capacity를 ORAC assay를 이용하여 측정된 결과, Fig. 1에서 보듯이 vitamin E 수용성유도체인 trolox 1 μM 의 항산화 활성과 비교하였을 때 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 WG와 UB의 항산화 활성이 가장 높았고 PB, NB 순으로 항산화 활성이 감소하였다. 그리고 보리와 밀 추출물의 총 페놀 함량을 측정된 결과, Fig. 2에서 보듯이 NB(3.06 \pm 0.18 mg/100 g), PB(4.76 \pm 0.33 mg/100 g), UB(5.67 \pm 0.32 mg/100 g) 순으로 도정이 진행됨에 따라 보리의 총 페놀 함량은 점차 감소하였다. 그리고 이와 같은 결과를 총 페놀 함량과 항산화 활성의 상관성을 피어슨 상관계수(Pearson's correlation coefficient)로 비교분석해 보았을 때, 0.9934로 높은 유의성을 나타냄을 알 수 있었다(Table 3). 위와 같은 결과는 Goupy 등(19), Liu와 Yao(20), Adam 등(21), Onyeneho와 Hettiarachchy(22)가 보고한 것과 동일하게 밀 및 보리추출물에 높은 항산화 효능이 있다는 결과와 일치하였으며, 열수

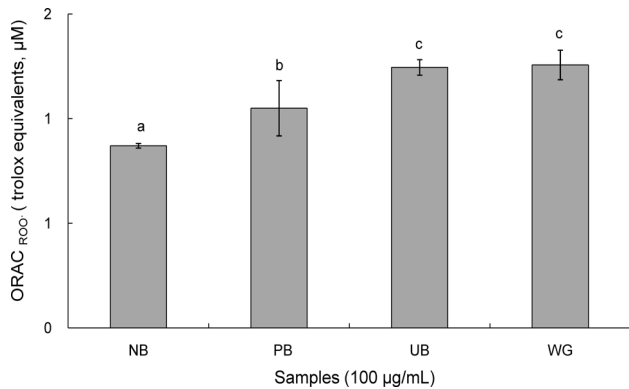


Fig. 1. Chloroform extracts of barley and wheat extracts on peroxy radical scavenging activities using ORAC assay. The results represent the mean±SD of values obtained from three measurements. Different corresponding letters indicate significant differences at $P<0.05$ by Duncan's test. Samples are the same as in Table 2.

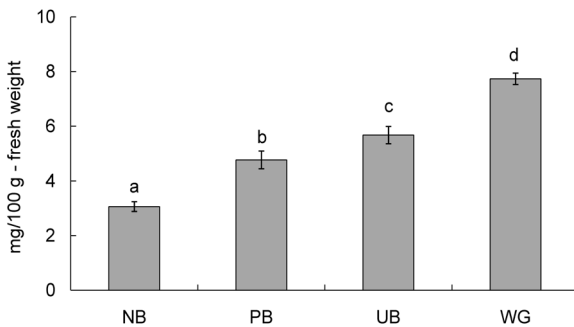


Fig. 2. Total phenolic content in barley and wheat extracts. The results represent the mean±SD of values obtained from three measurements. Different corresponding letters indicate significant differences at $P<0.05$ by Duncan's test. Samples are the same as in Table 2.

추출물뿐만 아니라 본 연구에서 추출을 위해 사용한 CHCl_3 에 추출되는 지용성 항산화 물질 역시 높은 항산화능을 보유하고 있다는 것을 알 수 있었다.

또한 대표적인 그람양성 세균인 *S. aureus*에 대한 항균활성(Table 2)과 항산화활성(Fig. 1)의 상관성을 피어슨 상관계수(Pearson's correlation coefficient)로 비교분석해 보았을 때, 0.7832로 비례관계에 있음을 알 수 있었다. 총페놀 함량이 항산화활성과 높은 상관관계를 보이는 것으로 보아 대부분의 항산화활성은 페놀성분의 함량에 기인하는 것을 알 수 있었고(Table 3), 이들 항산화 활성이 항균활성과 유의적으로 비례하는 것을 통해 보리 및 밀 추출물은 항균 및 항산화활성을 모두 보유한 소재인 것을 알 수 있었다. 따라서 산업적으로 유용한 천연보존제의 경우, 항균활성과 항산화활성을 동시에 갖는 소재의 발굴이 시급한 현실이므로 이상의 결과로 유추해 볼 때 보리와 밀 추출물은 항균과 항산화 활성을 동시에 나타내는 원료소재로서 식품 및 화장품 등의 다양한 기능성 첨가물 소재로서의 응용이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 4가지의 맥류 추출물의 항산화 활성과 항균 활성 그리고 지표성분인 DMBQ의 함량을 분석하였다. 4가지 맥류 추출물의 항산화 활성 측정 결과 겉보리(UB), 통보리(PB), 쌀보리(NB) 순으로 도정도가 진행됨에 따라 항산화 활성이 감소하는 것으로 나타났고, 통밀(WG)은 겉보리와 유사한 항산화 활성을 나타냈다. 총 페놀 함량과 항산화 활성을 피어슨 상관계수로 비교 분석한 결과, 0.9934로 높은 유의성을 나타냈다. 4가지 대표적인 식중독 유발균을 대상으로 항균 활성을 측정한 결과 모든 추출물에서 *Staphylococcus(S.) aureus*에 대한 항균활성을 나타내었고, NB, PB, UB 추출물은 15.69 ± 0.20 , 16.87 ± 0.05 , 17.91 ± 0.10 mm 순으로 *S. aureus* 항균활성을 나타내었다. 겉보리(UB)는 배아와 겨, 통보리(PB)는 배아, 쌀보리(NB)는 배유만을 포함하고 있는 상태인데, 도정이 진행됨에 따라 DMBQ가 함유되어 있는 배아와 겨 부분이 제거되어 항균 활성이 낮아지는 것을 알 수 있었다. 대조군으로 분석한 통밀(WG) 추출물은 22.37 ± 0.04 mm로 보리 추출물들과 비교하였을 때 상대적으로 높은 활성을 나타내었다. 항균활성을 나타내는 DMBQ의 양을 분석하였을 때 WG 추출물이 가장 높은 함량을 나타냈다. 이와 같은 결과를 비교해 보았을 때 배아와 겨 부분에 주로 함유되어 있는 DMBQ의 양에 따라 맥류의 항균, 항산화력에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다. 따라서 가공정도에 따라 각기 다른 기능성을 나타내는 것을 이용해 용도에 따라 가공공정을 조절하여 새로운 소재로의 개발이 가능할 것을 알 수 있었다. 맥류 추출물은 항산화력과 항균력 두 가지를 모두 갖춘 천연물 유래 식품보존제로서의 개발 가능성이 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 한남대학교 학술연구 조성비 지원에 의하여 수행한 연구결과이며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Sofos JN, Beuchat LR, Davidson PM, Johnson EA. 1998. Naturally occurring antimicrobials in foods. *Regul Toxicol Pharmacol* 28: 71-72.
2. No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. 2001. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *J Food Sci* 72: R87-R100.
3. Park YJ, Biswas R, Phillips RD, Chen J. 2011. Antibacterial activities of blueberry and muscadine phenolic extracts. *J Food Sci* 76: M101-M105.
4. Saidi M, Ghafourian S, Zarin-Abaadi M, Movahedi K, Sadeghifard N. 2012. In vitro antimicrobial and antioxidant activity of black thyme (*Thymbra spicata* L.) essential oils. *Roum Arch Microbiol Immunol* 71: 61-69.
5. Schirmer BC, Langsrud S. 2010. Evaluation of natural antimicrobials on typical meat spoilage bacteria *in vitro* and

- in vacuum-packed pork meat. *J Food Sci* 75: M98-M102.
6. Lee YT. 2008. Effects of malt modification on β -glucan solubility and beer viscosity. *Korean J Food Sci Technol* 40: 360-363.
 7. Cha MN, Jun HI, Song GS, Kim YS. 2012. The effects of germination conditions on GABA and the nutritional components of barley. *Korean J Food Sci Technol* 44: 41-47.
 8. Kim YS, Lee YT, Seong HM. 1999. Physicochemical properties of starches from waxy and non-waxy hull-less barleys. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 240-245.
 9. Lee YT. 2001. Dietary fiber composition and viscosity of extracts from domestic barley, wheat, oat and rye. *Korean J. Food & Nutr* 14: 233-238.
 10. Klopfenstein CF. 1988. The role of cereal β -glucans in nutrition and health. *Cereal Foods World* 33: 865-866.
 11. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496.
 12. Kurihara H, Fukami H, Asami S, Toyoda Y, Nakai M, Shibata H, Yao XS. 2004. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Biol Pharm Bull* 27: 1093-1098.
 13. Tomoskozi-Farkas R, Daoood HG. 2004. Modification of chromatographic method for the determination of benzoquinones in cereal products. *Chromatographia* 60: S227-S230.
 14. Shetty K, Curtis OF, Levin R, Wikowsky R, Ang W. 1995. Prevention of verification associated with *in vitro* shoot culture of oregano (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. *J Plant Physiol* 147: 447-451.
 15. Meganathan R. 2001. Biosynthesis of menaquinone (vitamin K2) and ubiquinone (coenzyme Q): a perspective on enzymatic mechanisms. *Vitam Horm* 61: 173-218.
 16. Drewes SE, Khan F, van Vuuren SF, Viljoen AM. 2005. Simple 1,4-benzoquinones with antibacterial activity from stems and leaves of *Gunnera perperisa*. *Phytochemistry* 66: 1812-1816.
 17. Kim MH, Jo SH, Ha KY, Song JH, Jang HD, Kwon YI. 2010. Antimicrobial activities of 1,4-benzoquinones and wheat germ extract. *J Microbiol Biotechnol* 20: 1204-1209.
 18. Lana EJ, Carazza F, Takahashi JA. 2006. Antibacterial evaluation of 1,4-benzoquinone derivatives. *J Agric Food Chem* 54: 2053-2056.
 19. Goupy P, Hugues M, Boivin P, Amiot MJ. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J Sci Food Agric* 79: 1625-1634.
 20. Liu Q, Yao H. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chem* 102: 732-737.
 21. Adom KK, Sorrells ME, Liu RH. 2003. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *J Agric Food Chem* 51: 7825-7834.
 22. Onyeneho SN, Hettiarachchy NS. 1992. Antioxidant activity of durum wheat bran. *J Agric Food Chem* 40: 1496-1500.