

귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 항산화 성분 및 항산화 활성

- 연구노트 -

함현미¹ · 우관식¹ · 박지영¹ · 이병원¹ · 최혜선¹ · 최용환¹ · 이준수² · 이유영¹

¹농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부

²충북대학교 식품생명·축산과학부

Antioxidant Compounds and Antioxidant Activities of Methanolic Extracts from Milling Fractions of Oat

Hyeonmi Ham¹, Koan Sik Woo¹, Ji-Young Park¹, Byongwon Lee¹, Hye Sun Choi¹, Yong-Hwan Choi¹, Junsoo Lee², and Yu-Young Lee¹

¹Department of Central Area, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

²Department of Food and Animal Sciences, Chungbuk National University

ABSTRACT Oats (*Avena sativa* L.) are well known for having high contents of bioactive compounds and health benefits. The objective of this study was to evaluate the antioxidant compounds and antioxidant activities of methanolic extracts from milling fractions and whole grains of oat. The contents of total polyphenolics and flavonoids were analyzed by spectrophotometric methods. ABTS radical and DPPH radical scavenging activities and reducing power were used to compare relative antioxidant activities of milling fractions from oat. Total polyphenolics and flavonoids were much more abundant in oat bran extract than in extracts from whole grain and endosperm. In addition, high levels of ABTS radical (42.34 mg Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)/100 g sample) and DPPH radical (24.18 mg TEAC/100 g sample) scavenging activities and reducing power ($A_{700}=0.76$) were detected in oat bran. The results of this study indicate that oat bran has significantly higher antioxidant activities and appears to have significant health benefits.

Key words: oat, polyphenolics, flavonoids, antioxidant activity

서 론

체내 신진대사와 산화된 식품의 섭취, 환경오염, 흡연, 음주 등으로 인해 기인하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 세포 구성성분인 지질, 단백질, DNA 등을 비가역적으로 파괴하여 노화 및 만성질환을 유발하는 것으로 알려져 있다(1,2). 생체 내에는 ROS의 과잉 생성을 억제하는 방어 시스템을 가지고 있으나, ROS가 과다하게 생성되거나 항산화 방어 시스템의 균형이 깨지면 다양한 질병이 유발될 수 있다. 이에 따라 과잉 생성된 ROS의 제거 및 생체 내 항산화 방어 시스템의 증진에 대한 관심이 높아지고 있으며, 합성물질이 아닌 천연성분에서 그 효능을 찾는 연구가 진행되고 있다(3,4). 곡류에는 탄수화물, 단백질, 미네랄 등의 다양한 영양소를 비롯하여 phenolic compounds, flavonoids, vitamin E, carotenoids, anthocyanins, lignans 등의 생리활성 성분이 다량 존재하며, 특히 phenolic compounds, flavonoids 등과 같은 성분들은 ROS의 작용을 억

제하여 암, 심혈관계 질환, 노화 등과 같은 스트레스와 관련된 질환을 예방하는 데 효과적인 것으로 알려져 있다(5,6).

귀리(*Avena sativa* L.)는 벼과(Gramineae)에 속하는 곡류로 쌀귀리와 겉귀리가 재배되고 있으며, 쌀귀리는 탈곡 과정 시 겉껍질이 쉽게 제거되고 겉귀리는 탈곡 과정 후에도 종실에 겉껍질이 붙어있는 차이가 있다. 귀리는 2002년 타임지가 선정한 10대 식품 중 통곡물로는 유일하게 포함되었으며 건강기능성 식품에 대한 관심 증가로 인해 소비가 증가하고 있다. 귀리에는 식이섬유인 β -glucan이 2~6% 함유되어 있으며 곡류 중 특이적으로 귀리에만 존재하는 phenolic antioxidants인 avenanthramides가 존재한다(7-9). 귀리의 섭취는 담즙산의 배설을 증가시켜 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시키는 데 효과가 있으며 이는 β -glucan에 기인하는 것으로 보고되어 있다(10,11). 또한, 심혈관계 질환 예방, 비만 및 당뇨병 예방 등 귀리의 다양한 생리활성이 보고되었다(12-15). ROS의 생성을 감소시키는 다양한 생리활성 성분들은 주로 외피를 구성하는 bran층에 집중되어 존재하는 것으로 알려져 있으며, 귀리의 bran층이 우수한 혈중 콜레스테롤 저하 효과 및 항산화 활성 등의 생리활성을 나타냄이 보고되어 있다(10,16). 하지만 국내 육성 귀리의 도정 부위별 항산화 성분 및 항산화 활성을 비교한 연구는 미비한 실

Received 20 July 2016; Accepted 7 October 2016

Corresponding author: Yu-Young Lee, Department of Central Area, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon, Gyeonggi 16613, Korea
E-mail: leeyy260@korea.kr, Phone: +82-31-695-0621

정이다. 따라서 본 연구에서는 귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 항산화 성분 및 항산화 활성을 측정하여 이를 비교·분석하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용된 귀리는 2014년 경기도 수원시 소재의 국립식량과학원에서 생산된 쌀귀리인 조양 품종을 사용하였다. 항산화 성분 분석에 사용된 gallic acid, (+)-catechin, Folin-Ciocalteu reagent, sodium carbonate와 항산화 활성 측정에 사용된 Trolox, ABTS(2,2-azino-bis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonic acid)), DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), potassium persulfate, potassium ferricyanide, trichloroacetic acid, ferric chloride 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖에 사용된 추출용매 및 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

메탄올 추출물의 제조

시료는 Vibrating sample mill(CMT Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 분쇄하였으며, 분쇄된 시료 25 g에 메탄올 300 mL를 가한 후 상온에서 24시간 교반하면서 추출하였다. 추출 후 고형분은 Whatman NO. 2 filter paper (Whatman International Limited, Kent, UK)를 이용하여 분리하였고 용매는 감압 농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 증발시켰다. 추출 수율을 측정 후 잔사는 메탄올로 재용해하였다. 각 추출물은 질소 충전 후 -20 °C에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 하여 측정하였다(17). 각 추출물 50 μ L에 2% Na_2CO_3 용액 1 mL를 가하고 3분 방치한 후 50% Folin-Ciocalteu's reagent 50 μ L를 가하였다. 3분 반응 후 반응액의 흡광도를 750 nm에서 측정하였고 표준물질로 0.1% gallic acid를 사용하였으며, mg gallic acid equivalents(GAE)/100 g sample로 나타내었다.

총플라보노이드 함량 측정

총플라보노이드 함량은 Zhishen 등(18)의 방법을 응용하여 측정하였다. 추출물 250 μ L에 증류수 1.25 mL와 5% NaNO_2 75 μ L를 가하였다. 6분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 용액 150 μ L를 가하여 5분 방치하고 1 M NaOH 500 μ L를 가하였다. 11분 후 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였고 표준물질로 (+)-catechin을 사용하였으며, mg catechin equivalents(CE)/100 g sample로 나타내었다.

ABTS 라디칼 제거능

ABTS 라디칼 제거능은 Re 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되도록 물 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS 라디칼 용액 1 mL에 추출물 50 μ L를 가하여 60분 후에 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화력(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)을 계산하였으며, mg TEAC/100 g sample로 나타내었다.

DPPH 라디칼 제거능

DPPH 라디칼 제거능은 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 추출물 50 μ L를 가하고 흡광도의 변화를 30분 후에 520 nm에서 측정하였으며 표준물질로 Trolox를 이용하였다(20). DPPH 라디칼 제거능은 ABTS 라디칼 제거능과 같은 방식에 의해 계산되었으며 mg TEAC/100 g sample로 나타내었다.

환원력

환원력은 Mau 등(21)의 방법을 응용하여 측정하였다. 추출물 250 μ L에 200 mM sodium phosphate buffer(pH 6.6) 250 μ L, 1% potassium ferricyanide(w/v) 250 μ L를 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid(w/v) 250 μ L를 가하였다. 위 반응액을 10,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 하여 상등액 500 μ L에 증류수 500 μ L를 혼합하고, 0.1% ferric chloride(w/v) 100 μ L를 가하여 700 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하였다. 반응액은 Fe^{3+} 과 Fe^{2+} 간의 상호전환에 의하여 청록색을 나타내며 흡광도 값이 클수록 높은 환원력을 의미한다.

통계분석

모든 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 결과에 대한 유의성 검정은 SAS version 9.2(Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 ANOVA 분석 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 항산화 성분 함량

귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 수율은 Table 1에 나타내었다. Whole grain, bran, endosperm의 순서로 4.83, 5.42, 4.09%의 수율을 보였다. 곡류의 항산화 성분 및 활성의 측정에 있어 추출물의 수율은 중요한 요소로 작용하며, 항산화 성분의 추출은 추출 용매에 대한 항산화 성분의 용해도 차이에 의해 달라진다고 보고되어 있다(22). Ham 등(23)

Table 1. Antioxidant compounds and extraction yields of the methanolic extracts from milling fractions and whole grain of oat

Milling fractions of oat	Antioxidant compounds		Yield (%)
	Polyphenolics ¹⁾	Flavonoids ²⁾	
Whole grain	32.99±0.99 ^{b3)}	8.25±0.93 ^b	4.83
Bran	41.53±2.25 ^a	12.07±1.13 ^a	5.42
Endosperm	25.56±1.40 ^c	6.80±0.87 ^c	4.09

¹⁾Mean of triplicate determinations±standard deviation (SD) expressed as mg gallic acid equivalents per 100 g of sample.

²⁾Mean of triplicate determinations±standard deviation (SD) expressed as mg catechin equivalents per 100 g of sample.

³⁾Different letters in the same column indicate significant differences at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

은 귀리를 methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate로 추출하여 각 추출물의 항산화 활성을 비교한 결과 methanol을 추출용매로 사용하였을 경우 항산화 활성이 다른 용매 추출물보다 우수함을 보고하였다. 또한, Duh 등(24)은 추출에 사용된 용매의 극성이 증가할수록 유용 성분의 추출률이 높아지며 추출물의 항산화 활성 역시 증가하는 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 메탄올을 추출용매로 사용하여 귀리의 항산화 성분을 추출하고자 하였다.

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 분자 내 phenolic hydroxyl group이 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질이 있어 항산화, 항암, 항균 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 보고되어 있다(25). 곡류에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물은 효과적인 항산화 성분 중 하나로, 분자 내에 phenolic hydroxyl group이 free radical을 안정화하기 때문에 항산화 활성을 나타낸다(26). 귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 총폴리페놀(mg GAE/100 g sample) 함량은 Table 1에 나타내었다. Whole grain, bran, endosperm에서 각각 32.99, 41.53, 25.56 mg GAE/100 g sample의 함량을 보였으며 bran층에 폴리페놀이 다량 함유되어 있는 것으로 나타났다. Gray 등(16)은 귀리의 bran-rich fraction에서 총폴리페놀 함량이 가장 높게 나타났음을 보고하였으며 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 플라보노이드(mg CE/100 g sample) 함량을 측정된 결과 Table 1과 같이 whole grain, bran, endosperm에서 각각 8.25, 12.07, 6.80 mg CE/100 g sample의 함량을 보였으며 bran층에 플라보노이드가 다량 함유되어 있는 것으로 나타났다. Villaño 등(27)은 폴리페놀 화합물 중 플라보노이드 계열 화합물의 DPPH 라디칼 제거능이 우수함을 보고하였으며, 본 연구 결과에서 측정된 귀리 bran층의 우수한 DPPH 라디칼 제거능은 bran층에 높게 함유되어 있는 플라보노이드 계열 화합물의 활성과 연관이 있을 것으로 생각한다.

귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 항산화 활성

ABTS 라디칼 제거능은 mg TEAC/100 g sample로 나타내었으며 결과는 Table 2에 나타내었다. Whole grain, bran,

Table 2. Antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions and whole grain of oat

Milling fractions of oat	ABTS radical scavenging activity	DPPH radical scavenging activity	Reducing power (A ₇₀₀)
Whole grain	38.73±3.77 ^{a2)}	18.38±1.32 ^b	0.63±0.02 ^b
Bran	42.34±6.03 ^a	24.18±0.75 ^a	0.76±0.02 ^a
Endosperm	27.26±2.50 ^b	11.47±0.99 ^c	0.37±0.02 ^c

¹⁾Mean of triplicate determinations±standard deviation (SD) expressed as mg Trolox equivalents antioxidant capacity per 100 g of sample.

²⁾Different letters in the same column indicate significant differences at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

endosperm 등 귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 제거능은 각각 38.73, 42.34 및 27.26 mg TEAC/100 g sample로 나타나 bran층의 ABTS 라디칼 제거능이 가장 높았으나 whole grain과 통계적으로 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 제거능 역시 mg TEAC/100 g sample로 나타내었으며 결과는 Table 2에 나타내었다. 측정 결과 whole grain, bran, endosperm에서 각각 18.38, 24.18, 11.47 mg TEAC/100 g sample의 함량을 보였으며 bran층의 DPPH 라디칼 제거능이 가장 높고 endosperm이 가장 낮은 것으로 나타났다. Peterson 등(28)은 귀리의 도정 정도가 적을수록 항산화 활성이 높고 폴리페놀 함량 역시 높으며 endosperm 함량이 높을수록 항산화 활성이 낮음을 보고하였다. 또한, 이전 연구에 의하면 곡류의 ABTS 및 DPPH 라디칼 제거능은 총폴리페놀 함량과 상관관계가 높은 것으로 보고되었다(29). 따라서 귀리의 총폴리페놀이 효과적으로 유리 라디칼을 제거하여 높은 항산화 활성을 나타낸 것으로 생각된다.

귀리 도정 부위별 메탄올 추출물의 환원력을 측정한 결과 bran층이 A₇₀₀=0.76으로 가장 높았고 whole grain과 endosperm은 각각 A₇₀₀=0.63 및 A₇₀₀=0.37로 나타났다(Table 2). 이는 항산화 성분의 수소 공여능에 의한 색의 차이를 700 nm에서의 흡광도 값으로 나타낸 것으로, 환원력이 가장 높게 나타난 귀리 bran층은 수소 또는 전자를 공여함으로써 유리 라디칼을 안정화시키고 산화반응을 종결시킬 수 있는 reductone, 즉 indophenol 화합물을 환원시킬 수 있는 물질이 많이 함유되어 있는 것으로 생각한다(30).

요 약

본 연구에서는 국내에서 개발된 귀리의 도정 부위별 메탄올 추출물의 항산화 성분 및 항산화 활성을 비교·분석하고자 하였다. 항산화 성분으로는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며 항산화 활성은 ABTS 및 DPPH 라디칼 제거능, 환원력을 측정하였다. 실험 결과 귀리의 도정 부위별 메탄올 추출물 중 bran 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 각각 41.53 mg gallic acid equivalents/

100 g sample 및 12.07 mg catechin equivalents/100 g sample로 whole grain 및 endosperm 추출물보다 높은 함량이 함유되어 있는 것을 확인하였다. 또한, 이러한 항산화 성분이 다량 분포하는 bran 추출물의 ABTS 및 DPPH 라디칼 제거능, 환원력이 각각 42.34 mg Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC)/100 g sample, 24.18 mg TEAC/100 g sample, $A_{700}=0.76$ 으로 나타나 whole grain 및 endosperm 추출물보다 우수한 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났다. 본 연구 결과는 귀리의 도정 부위별 항산화 성분 및 항산화 활성 연구에 있어 기초 자료로써 활용될 수 있을 것으로 생각하며, 우수한 항산화 성분 및 활성을 가지는 귀리의 bran층은 기능성 식품의 제조에 있어 좋은 소재로 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01050802)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Halliwell B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 16: 33-50.
- Biesalski HK, Hans K. 2002. Free radical theory of aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5: 5-10.
- Block G, Langseth L. 1994. Antioxidant vitamins and disease prevention. *Food Technol* 48: 80-85.
- Urquiaga I, Leighton F. 2000. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res* 33: 55-64.
- Adom KK, Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem* 50: 6182-6187.
- Zielinski H, Kozłowska H, Lewczuk B. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Sci Emerging Technol* 2: 159-169.
- Aman P, Graham H. 1987. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1→3),(1→4)- β -D-glucans in barley and oats. *J Agric Food Chem* 35: 704-709.
- Klopfenstein CF. 1988. The role of cereal β -glucans in nutrition and health. *Cereal Foods World* 33: 865-869.
- Dimberg LH, Theander O, Lingnert H. 1993. Avenanthramides - A group of phenolic antioxidants in oats. *Cereal Chem* 70: 637-641.
- Marlett JA, Hosig KB, Vollendorf NW, Shinnick FL, Haack VS, Story JA. 1994. Mechanism of serum cholesterol reduction by oat bran. *Hepatology* 20: 1450-1457.
- Davidson MH, Dugan LD, Burns JH, Bova J, Story K, Drennan KB. 1991. The hypocholesterolemic effects of β -glucan in oatmeal and oat bran. *JAMA* 265: 1833-1839.
- Berg A, König D, Deibert P, Grathwohl D, Berg A, Baumstark MW, Franz IW. 2003. Effect of an oat bran enriched diet on the atherogenic lipid profile in patients with an increased coronary heart disease risk. A controlled randomized lifestyle intervention study. *Ann Nutr Metab* 47: 306-311.
- Maki KC, Beiseigel JM, Jonnalagadda SS, Gugger CK, Reeves MS, Farmer MV, Kaden VN, Rains TM. 2010. Whole-grain ready-to-eat oat cereal, as part of a dietary program for weight loss, reduces low-density lipoprotein cholesterol in adults with overweight and obesity more than a dietary program including low-fiber control foods. *J Am Diet Assoc* 110: 205-214.
- Braaten JT, Scott FW, Wood PJ, Riedel KD, Wolynetz MS, Brulé D, Collins MW. 1994. High beta-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin in subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetic Med* 11: 312-318.
- Dong J, Cai F, Shen R, Liu Y. 2011. Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Chem* 129: 1066-1071.
- Gray DA, Auerbach RH, Hill S, Wang R, Campbell GM, Webb C, South JB. 2000. Enrichment of oat antioxidant activity by dry milling and sieving. *J Cereal Sci* 32: 89-98.
- Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Sharma OP, Bhat TK. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem* 113: 1202-1205.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Res Int* 35: 519-526.
- Kong S, Choi Y, Lee SM, Lee J. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic extracts from milling fractions of black rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 815-819.
- Ham H, Woo KS, Park JY, Lee B, Choi YH, Lee C, Kim WH, Lee J, Lee YY. 2016. Antioxidant and anti-proliferative activities of oats under different solvent extraction conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 918-922.
- Duh PH, Yeh DB, Yen GC. 1992. Extraction and identification of an antioxidative component from peanut hulls. *J Am Oil Chem Soc* 69: 814-818.
- Rice-Evans CA, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2: 152-159.
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81: 215S-217S.
- Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71: 230-235.
- Peterson DM, Emmons CL, Hibbs AH. 2001. Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J Cereal Sci* 33: 97-103.
- Choi Y, Jeong HS, Lee J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103: 130-138.
- Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. 1992. Antioxidant properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric Food Chem* 40: 945-948.