

볶음귀리의 추출물 종류에 따른 생리활성 성분 및 항산화 효능 분석

이지혜 · 이병규 · 이병원 · 김현주 · 박지영 · 한상익 · 이유영*
국립식량과학원 중부작물부

Evaluation of bioactive compounds and antioxidant activity of roasted oats in different extraction solvents

Ji Hae Lee, Byoung-kyu Lee, Byong Won Lee, Hyun-Joo Kim, Ji-Young Park, Sangik Han, and Yu Young Lee*
Department of Central Area, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

Abstract Roasting process of grains modifies their physicochemical characteristics that affect flavor, color, taste, and textures, as well as composition of bioactive compounds. We roasted oats at different temperatures (150, 200, and 250°C) and for different time periods (15 and 30 min). The polyphenol and flavonoid contents in different solvent extracts (methanol, fermented ethanol, and water) were also investigated. The total polyphenol and flavonoid contents were highest in the methanolic extract (135 mg gallic acid equivalent/g and 29 mg catechin equivalent/g, respectively, at 250°C/30 min roasting) and increased with roasting time and temperature. In addition, the avenanthramides were most abundant as accessed (266 µg/g) in the methanolic extract upon roasting at 200°C for 15 min. The radical scavenging activities, using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid scavenging, increased with roasting temperature and time. The roasting process may modify the physicochemical structure of oats, thereby, improving polyphenol extraction and antioxidant activity. The results of this study could be used for the manufacture of foods using roasted oats.

Keywords: oats, roasting, antioxidant, polyphenol, avenanthramide

서 론

귀리(*Avena sativa*)는 다른 작물에 비하여 높은 수용성 식품섬유, 단백질, 지방질을 함유하고 있어 오트밀, 시리얼 등 다양한 식품으로 이용되고 있는 식량작물이다(1). 귀리의 생리활성 성분으로는 비타민 E(vitamin E), 피트산(phytic acid), 페놀류, 식물성 스테롤(sterol) 등이 있으며, 페놀성분인 아베난쓰라마이드(avenanthramide)는 귀리에만 존재하는 특이적인 활성물질로 알려져 있다(2,3). 이와 같은 성분들은 식물 생장에 따른 방어 메커니즘에 의해 생성되는 이차대사산물이며(4), 인체 내부에서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 제거하여 산화적 스트레스로부터의 세포 손상을 제어하는 항산화제로서의 역할을 수행한다(5). 뿐만 아니라, 식품 가공 공정에서 귀리 성분을 첨가할 경우, 항산화 작용에 의한 지방산패를 억제하여 저장성을 향상시킨다(6). 이와 같은 귀리의 효능이 알려짐에 따라 자연 유래 항산화 물질의 섭취 방안으로 귀리 함유 제품이나 귀리 추출물을 이용하고자 하는 요구가 증가하고 있는 추세이다(7). 최근에는 귀리 펙타이드와 지방질의 항산화 효능에 관한 연구들도 보고됨에 따라 귀리의 다양한 활용 방안을 제시하고 있다(8-9).

곡류의 볶음 처리는 곡물의 텍스처, 색, 향을 향상시키고, 가열 반응에 의한 전분의 호화, 단백질의 변성을 통한 소화율을 향상시킨다(10). 볶음 과정이 가미된 곡물은 가열에 의한 세포벽 구조 변화로 인해 생리활성 성분과 내부 고형물의 용출이 용이해 지므로 차로 이용하기 적합하다(11). 볶음에 주로 이용되는 곡물인 보리에 관한 연구는 아시아, 유럽, 인도 등에서 이루어진 바 있다(12-14). 보리 볶음은 갈색 반응과 향미를 향상시켰으나 베타글루칸(β -glucan), 카테킨(catechin), 비타민 E, 루테인(lutein) 등과 같은 항산화 물질의 추출 수율을 감소시켜 항산화 효능이 억제되는 특징을 보인 반면(12,14), 모래를 이용한 볶음과정에서는 상반되는 결과를 보이기도 하여(13) 볶음 조건에 따라 다른 결과를 얻을 수 있음을 시사하였다.

본 연구에서는 귀리의 볶음 공정 이후 메탄올(methanol), 발효주정, 물 추출물을 제조하여 아베난쓰라마이드를 포함한 폴리페놀 함량의 변화를 볶음 시간과 온도 별로 비교하고, 항산화 효능을 비교 분석하고자 하였다. 이를 통해 아베난쓰라마이드와 그 밖의 생리활성 성분이 많이 함유된 귀리의 적정 볶음 조건을 탐색하고 이를 차 등의 개발에 이용하고자 한다.

재료 및 방법

귀리 볶음 시료의 준비

본 연구에서 사용된 귀리는 대양 품종으로, 국립식량과학원 중부작물부 시험포장인 수원에서 2016년 수확되었다. 정선된 귀리를 50 g 정량하여 볶음기(FEC-006, Biotech, Incheon, Korea)에 넣고 150, 200, 250°C에서 각 15, 30분간 볶음공정을 거쳤다. 볶아

*Corresponding author: Yu Young Lee, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea
Tel: +82-31-695-0621
E-mail: leeyy260@korea.kr
Received September 21, 2017; revised November 16, 2017; accepted December 31, 2017

진 시료는 분쇄하여 5 g씩 소분하고, 메탄올, 발효주정, 증류수를 50 mL씩 가하여 24시간 실온에서 교반추출하였다. 추출물은 거름종이(Whatman, Maidstone, UK)로 침전물을 거른 후 질소농축기(Buchi, Flawil, Switzerland)로 추출용매를 제거하고 실험목적에 맞게 재용해하여 분석에 사용하였다.

외형변화 특성 분석

볶음공정을 통한 귀리의 외형변화 측정을 위하여 분쇄 전 형태의 볶음귀리를 이용하여 길이, 폭, 두께, 색도, 수분함량 등을 측정하였다. 시료의 길이, 폭, 두께는 버니어 캘리퍼스(Mitutoyo, Kawasaki, Japan)으로 측정하였으며, 10개 종실에 대한 평균값을 구하였다. 수분함량은 수분함량분석계(Adam Equipment, Oxford, CT, USA)에 0.5 g의 원곡을 넣고 121°C로 가열하여 증발된 수분 질량 값으로 도출하였다. 색도는 색도측정기(CM-3500d, Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 헌터 값(Hunter's value)인 명도(L-value), 적색도(a-value)와 황색도(b-value)를 측정하였다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량 분석은 폴린시오칼토 페놀 시약(Folin-Ciocalteu phenol reagent)을 이용한 발색법으로 측정하였다(15). 이를 위해서, 추출물 100 µL과 2% 탄산소듐 용액 2 mL을 혼합 하고 상온에서 3분간 반응시켰다. 이후 50% 폴린시오칼토 페놀 시약을 100 µL 첨가하였다. 상온에서 3분간 반응을 거친 후 생성된 청색의 반응물을 96 well plate에 200 µL씩 옮기고 750 nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 구하였다. 표준물질로 갈산(gallic acid)이 사용되었으며, 결과값은 mg 갈산 당량(gallic acid equivalent, GAE)/g 추출물로 표기하였다. 플라보노이드(flavonoid) 함량 분석도 발색법을 이용하여 진행하였다. 분석을 위해서 볶음귀리 추출물별 시료 250 µL을 증류수 1 mL으로 희석하고, 75 µL의 5% 아질산소듐을 첨가하여 상온에서 5분간 반응시켰다. 반응물에 10% 염화알루미늄 육수화물($AlCl_3 \cdot 6H_2O$), 150 µL를 첨가하고 다시 6분을 방치한 후, 1 M의 수산화소듐을 50 µL 추가로 혼합하였다. 반응물 200 µL을 96 well plate로 옮겨 510 nm에서 흡광도를 측정하여 플라보노이드 함량을 구하였다. 표준물질로는 (+)-카테킨이 이용되었고, 결과값은 (+)-카테킨 당량(catechin equivalent, CE)/g 추출물로 표기하였다(16).

아베난쓰라마이드 함량 분석

분쇄된 귀리시료 1 g에 80% 에탄올(ethanol, v/v in 10 mM phosphate buffer, pH 2.8)을 10 mL 넣고 37°C 인큐베이터에서 16 시간 교반추출하였다. 질소농축기를 이용하여 농축한 추출물에 다시 80% 에탄올 2 mL을 넣어 재용해 하고 0.2 µm PVDF 필터로 여과한 후, UPLC로 분석하였다. 분석 컬럼은 Acquity UPLC-HSS C18 (1.8 µm, 2.1 mm×100 mm, Waters, Milford, MI, USA) 이고 이동상은 A: 0.01 M 인산 완충용액(pH 2.8), B: 100% 아세트나이트릴을 이용하였다. 유속은 0.6 mL/분, 시료주입량은 1 µL, 분석 파장은 340 nm이었다(17). 정량분석은 아베난쓰라마이드 표준물질 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 DMSO에 녹여 농도를 100 µg/mL로 만든 후 냉장보관하고, 이 용액을 희석하여 농도가 25, 50, 75, 100 µg/mL가 되도록 표준용액을 만들었다. 이 용액 일정량을 취하여 농도와 UPLC 상에서의 머무름 시간과 피크 면적과의 상관관계를 이용하여 보정선을 작성하였으며, 귀리 농축물 g당 아베난쓰라마이드 함량을 산출하였다.

항산화 활성 분석

발색법을 이용하여 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)와 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) 라디칼 제거능을 측정하는 방법으로 볶음귀리 추출물의 항산화 효능을 분석하였다. DPPH 라디칼을 이용한 분석법으로, DPPH 용액 (0.2 mM) 1 mL을 볶음귀리 추출물 50 µL과 혼합하여 상온에서 30분간 반응시켰다. 반응물은 96-well plate로 옮긴 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 제거능을 구하였으며, 트롤록스(Trolox)를 표준물질로 사용하여 비교 분석하였다. 결과는 mg 트롤록스 당량 산화방지능(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)/g 추출물로 표기하였다(18). ABTS 라디칼 제거능 분석에서는 ABTS 7.4 mM과 과황산포타슘 2.6 mM을 혼합하여 암소에서 24시간 방치하여 라디칼을 생성시켰다. 이 반응 용액은 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 나오도록 증류수로 희석하여 실험에 적용하였다. 희석한 ABTS 반응 용액 1 mL에 볶음귀리 추출물 50 µL를 첨가하여 60분간 반응시켰고, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 라디칼 제거능을 분석하였다. 트롤록스가 표준물질로 사용되었으며, 결과값은 mg TEAC/g 추출물로 나타내었다(19).

세포내 활성산소종 측정

실험을 위한 HepG2 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 구매하였으며, Dulbecco's modified Eagle's 배지(Caisson, North Logan, UT, USA)에 10% 소태아혈청(Gendepot, Barker, TX, USA)과 1% 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin, Caisson, USA)을 첨가하여 배양하였다. 세포 내 ROS는 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) 형광 표지물질을 이용하여 측정하였다. 세포를 검정색 96-well plate에 5×10^4 cell/well 농도로 분주하고 귀리볶음 메탄올 추출물을 DMSO로 재용해시킨 후, 세포에 100 µg/mL의 농도로 4시간 처리하였다. DCFH-DA (25 µM)을 추가로 1시간 처리한 후, 인산완충식염수(PBS)로 2회 세척하였다. 그 다음으로 1 mM의 삼차부틸 하이드로과산화물(*tert*-butyl hydroperoxide, t-BHP)를 세포에 처리하여 산화적 스트레스를 유도하였으며, 1시간 이후 형광을 485/530 nm (excitation/emission) 파장에서 측정하여 세포 내 ROS 생성량을 분석하였다.

통계분석

실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 결과에 대한 유의성 검정은 GraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)를 이용하여 ANOVA 분석 하였고, Tukey test 를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

귀리의 볶음 처리 후 외형 변화 비교 분석

귀리의 볶음처리 이후 외형변화 관측을 위해서 길이, 폭, 두께, 수분함량, 백립중을 측정하였다(Table 1). 귀리 알곡의 길이는 열을 가한 이후 대조군 9.3 mm에서 8.4-8.7 mm로 감소하였으나 가열 온도 간의 차이는 보이지 않았다. 반면 귀리 알곡의 폭과 두께는 가열온도와 시간이 증가할수록 증가하는 경향을 보여 볶음귀리는 대조군과 대비하여 길이가 짧고 폭과 두께가 두꺼워지는 특징을 보였다. 수분함량은 대조군 6.5%에서 볶음 처리시 2.3-2.8% 범위로 감소하였으나 온도에 따른 변화는 나타나지 않았다. 색도분석에서 명도를 나타내는 L값은 볶음 온도 및 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으며 이는 어두운 색에 가까워짐을

Table 1. Quality characteristics of roasted oat

	Length (mm)	Width (mm)	Thickness (mm)	Moisture content (%)	Chromaticity		
					L-value	a-value	b-value
Unroasted	9.3±1.0 ^{b1)}	2.8±0.2 ^{ab}	2.0±0.3 ^a	6.5±1.0 ^b	51.6±0.6 ^d	6.4±0.0 ^a	22.6±0.2 ^c
150°C/15 min	8.7±0.6 ^{ab}	2.6±0.1 ^a	2.0±0.2 ^a	2.8±0.3 ^a	53.0±0.3 ^c	6.7±0.1 ^{ab}	24.5±0.2 ^d
150°C/30 min	8.4±0.3 ^a	2.6±0.1 ^a	2.0±0.2 ^a	2.8±0.2 ^a	54.8±0.5 ^f	6.8±0.0 ^b	25.2±0.2 ^d
200°C/15 min	8.6±0.8 ^{ab}	2.9±0.1 ^{bc}	2.0±0.1 ^a	2.4±0.4 ^a	51.2±0.3 ^d	11.4±0.3 ^c	29.5±0.4 ^e
200°C/30 min	8.6±0.6 ^{ab}	3.1±0.1 ^{cd}	2.1±0.1 ^{ab}	2.3±0.2 ^a	43.6±0.2 ^c	13.3±0.1 ^f	24.6±0.4 ^b
250°C/15 min	8.6±0.6 ^{ab}	3.3±0.2 ^d	2.4±0.3 ^{bc}	2.6±0.4 ^a	37.3±0.3 ^b	10.4±0.2 ^d	16.7±0.3 ^b
250°C/30 min	8.7±0.4 ^{ab}	3.3±0.2 ^d	2.5±0.2 ^c	2.3±0.1 ^a	34.5±0.1 ^a	8.7±0.2 ^c	14.0±0.1 ^a

¹⁾The data are means±SD. Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ according to ANOVA analysis in the same row.

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents in roasted oat extracts

	Total polyphenol (mg GAE/g of extract)			Flavonoid (mg CE/g of extract)		
	Methanol	Fermented ethanol	DW	Methanol	Fermented ethanol	DW
Unroasted	77.0±2.5 ^{a1)}	11.0±0.2 ^c	27.6±0.3 ^a	13.0±0.6 ^a	20.6±0.0 ^c	2.4±0.1 ^a
150°C/15 min	81.4±3.4 ^{ab}	10.5±0.1 ^b	29.8±0.1 ^a	14.3±0.4 ^{ab}	13.6±0.2 ^a	3.0±0.2 ^b
150°C/30 min	81.6±2.0 ^{ab}	9.5±0.1 ^a	28.4±0.6 ^a	14.6±0.4 ^{ab}	17.2±0.7 ^b	2.8±0.0 ^b
200°C/15 min	88.4±3.1 ^b	9.2±0.2 ^a	26.4±0.6 ^a	16.7±0.6 ^b	17.6±0.2 ^b	4.1±0.0 ^c
200°C/30 min	114.4±3.9 ^c	13.2±0.1 ^d	42.6±2.6 ^c	23.7±1.6 ^c	21.2±0.3 ^c	9.4±0.1 ^d
250°C/15 min	126.4±3.6 ^d	15.5±0.2 ^f	39.9±1.8 ^{bc}	21.7±0.5 ^c	27.5±0.5 ^d	9.7±0.1 ^c
250°C/30 min	134.7±2.2 ^d	13.9±0.2 ^e	38.7±0.3 ^b	29.3±2.2 ^d	27.6±0.6 ^d	9.5±0.1 ^{de}

¹⁾The data are means±SD. Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ according to ANOVA analysis in the same row.

의미한다. 적색 정도를 나타내는 a값은 200°C, 30분 볶음에서 13.3으로 가장 높고, 황색 정도를 나타내는 b값은 200°C, 15분 볶음에서 29.5로 가장 높았다. 곡물의 볶음은 열이 동반되는 공정으로 물리화학적 특성을 변화시킨다. 본 연구에서는 외형적으로 크기의 변화가 관찰되었으며, 기존 귀리 볶음의 품질특성 연구에서도 볶음 후 장폭비가 감소하는 경향을 보였다(20). 또한 색의 변화도 관찰되었는데 이는 가열 과정에 의한 비효소적 갈색화 반응인 메일라드(Maillard) 반응 때문인 것으로 생각된다(21). 물질을 구성하고 있는 당과 아미노산의 종류, 반응 온도, 시간, 수분 함량 등이 마이야르 반응에 영향을 미치는 요소로 알려져 있으며 그에 따라 신생 물질의 종류와 양이 결정된다(22). 본 연구의 귀리 볶음에서는 이와 같은 메일라드 반응에 의해 명도가 낮아진 것으로 추측된다.

귀리의 볶음 처리 후 온도, 시간, 추출물 종류에 따른 폴리페놀 성분 변화 분석

추출용매에 따라 폴리페놀의 함량의 차이가 있었으며 가장 추출 수율이 좋은 용매는 메탄올로 나타났다(Table 2). 대조군의 총 폴리페놀 함량은 메탄올 77.0 mg GAE/g, 발효주정 11.0 mg GAE/g, 증류수 27.6 mg GAE/g으로 나타났다. 메탄올 추출물을 기준으로 볶음 온도와 시간이 증가할수록 총 폴리페놀의 농도가 증가함을 확인하였으며, 250°C, 30분 볶음 조건에서는 134.7 mg GAE/g까지 증가하여 대조군 대비 74% 증가하였다. 이전 연구결과에 따르면 귀리 추출물의 용매별로 폴리페놀 함량을 측정할 결과, 메탄올, 에탄올, 에틸아세테이트(ethyl acetate), 아세톤(acetone) 순으로 함량이 낮아졌고(23), 쌀을 이용한 Oki 등의 연구에서도 유사한 결과를 보인바 있어, 폴리페놀의 추출 효율은 용매의 극성에 비례하여 증가함을 시사하였다(24). 반면에 카테킨과 같은 일부 폴리페놀의 경우, 추출 효율이 극성 용매보다 물을 사용한 경

Table 3. Avenanthramide contents in roasted oat extracts ($\mu\text{g/g}$ of extract)

	Methanol	Fermented ethanol	DW
Unroasted	178.2±1.0 ^{a1)}	15.5±0.2 ^a	ND ²⁾
150°C/15 min	246.0±8.3 ^c	18.4±0.1 ^b	ND
150°C/30 min	256.6±7.7 ^c	16.2±0.2 ^a	ND
200°C/15 min	266.0±3.4 ^c	26.8±0.1 ^c	ND
200°C/30 min	252.4±5.7 ^c	26.3±0.0 ^c	1.5±0.0 ^a
250°C/15 min	244.2±14.6 ^c	33.1±0.4 ^d	2.5±0.2 ^b
250°C/30 min	219.8±4.5 ^b	30.2±0.5 ^d	4.1±0.0 ^c

¹⁾The data are means±SD. Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ according to ANOVA analysis in the same row.

²⁾ND, Not detected.

우에 더 뛰어났다(25). Turkmen 등의 차 유래 폴리페놀 연구에서는 물 추출물이 100% 메탄올보다 폴리페놀의 추출 효율이 더 높았으며, 에탄올의 추출 효율은 물 추출물의 10% 미만 수준이었다. 반면에 50, 80% (v/v) 메탄올 또는 에탄올을 추출 용매로 사용한 경우, 100% 유기용매만을 사용한 실험군보다 폴리페놀 추출 효율이 높았다(26). 따라서, 볶음 귀리의 폴리페놀 추출 효율을 높이기 위해서는 단일 용매를 사용하기보다 물과 극성이 높은 용매를 적정비율로 혼합할 경우 총 추출량이 더 증가할 것으로 예측된다(26).

플라보노이드와 아베난쓰라마이드의 함량을 용매별로 측정하고 비교한 결과에서(Table 2, 3), 플라보노이드는 메탄올과 발효주정 추출물의 함량이 유사한 수준이었으며, 메탄올 추출물을 기준으로 대조군 13.0 mg CE/g에서 250°C, 30분 볶음처리 시 29.3

Table 4. Radical scavenging effect of roasted oat extracts

	DPPH radicals (mg TEAC/g of extract)			ABTS radicals (mg TEAC/g of extract)		
	Methanol	Fermented ethanol	DW	Methanol	Fermented ethanol	DW
Unroasted	9.3±1.6 ^d	2.2±0.2 ^c	14.4±10.4 ^a	22.4±1.2 ^a	6.0±0.2 ^a	10.8±0.0 ^a
150°C/15 min	10.0±1.7 ^a	0.7±0.1 ^a	53.5±9.0 ^b	23.8±0.6 ^a	6.0±0.7 ^a	14.3±0.1 ^{abc}
150°C/30 min	10.1±2.1 ^a	0.6±0.2 ^a	66.2±4.3 ^b	23.8±0.9 ^a	5.4±0.3 ^a	13.8±0.0 ^{ab}
200°C/15 min	12.8±1.9 ^a	3.5±0.1 ^c	82.0±5.0 ^b	26.5±1.0 ^b	7.6±0.5 ^b	13.8±0.4 ^{ab}
200°C/30 min	14.6±2.1 ^{ab}	4.6±0.2 ^f	171.5±1.5 ^c	30.4±0.8 ^c	8.7±0.7 ^b	18.7±0.2 ^d
250°C/15 min	18.2±2.2 ^b	1.3±0.2 ^b	162.9±53.0 ^c	33.4±0.7 ^d	5.7±0.3 ^a	18.3±0.3 ^{cd}
250°C/30 min	18.8±1.9 ^b	2.3±0.2 ^d	215.3±17.4 ^c	33.4±0.7 ^d	7.7±0.5 ^b	16.8±4.1 ^{bcd}

The data are means±SD. Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ according to ANOVA analysis in the same row.

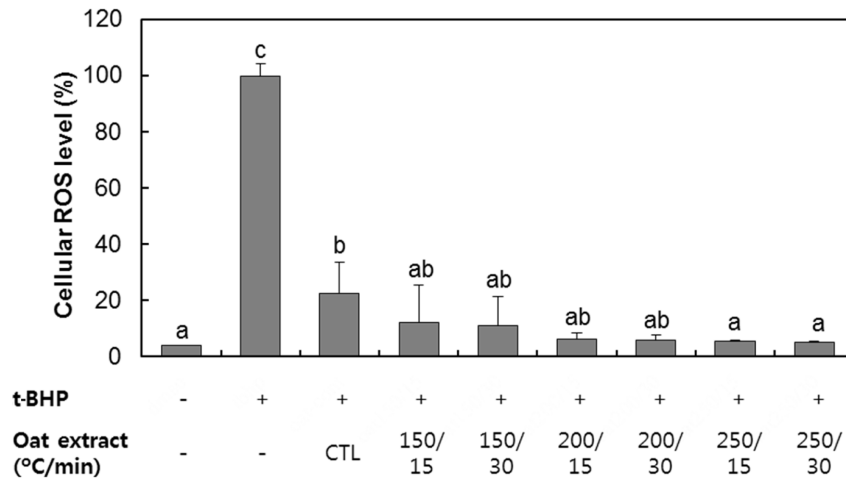


Fig. 1. Cellular ROS level in oxidative stress induced HepG2 cell. HepG2 cells were stimulated with various roasted oat extract (100 µg/mL) then t-BHP (1 mM) to induce formation of ROS. The cellular ROS level was determined using DCFA-DA fluorescent reporter. The data are means±SD. Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ according to ANOVA analysis.

mg CE/g으로 유의성 있게 증가하였다. 아베난쓰라마이드는 볶음 처리 시, 추출량이 증가하는 경향을 보였지만 메탄올 추출물에서는 볶음 온도와 시간에 의존적으로 증가하지는 않았다(Table 3). 반면, 발효주정과 증류수 추출물에서는 250°C 볶음에서 아베난쓰라마이드 함량이 가장 높게 측정되었다. 총 폴리페놀을 비롯한 유용 성분들이 볶음 처리 후, 추출량이 증가하는 현상은 가열공정에 의한 곡물 내부 구조의 변성과 내부공간 증대, 세포 구성 성분간 결합력 파괴로 인한 고형물 추출량의 증가에 따른 결과로 해석되며(11) 이는 감국(27), 율무(28)등을 이용한 볶음 실험에서도 유사한 경향을 보였다. 그러나, 아베난쓰라마이드의 경우에는 메탄올 추출물에서 200°C 볶음 조건까지 함량이 증가하나 이후, 250°C에서는 감소하는 경향을 보였다. 이는 볶음 처리에 의해 페놀성 화합물을 비롯한 아베난쓰라마이드의 추출효율이 증대 되었으나, 물질의 열 안정성이 떨어지기 때문인 것으로 생각된다. Dimberg 등에 의한 귀리 페놀화합물의 열 안정성에 대한 연구 결과를 보면, 100°C에서 3시간 이상 가열한 결과, 귀리껍질을 도정하지 않은 경우, 바닐산(vanillic acid), 파카쿠마르산(*p*-coumaric acid) 등의 페놀산은 증가하였으나, 아베난쓰라마이드는 감소하는 경향을 보였다(29). 특히, pH의 증가와 함께 열이 가해지는 경우, 아베난쓰라마이드의 구조적 안정성이 크게 감소하는 것으로 보고되어 있어(30), 아베난쓰라마이드 고함유 추출물을 제조하기 위해서는 적정 pH와 온도, 가열 시간을 설정할 필요가 있음을 시사하였다.

귀리의 볶음 처리에 의한 항산화 효능 분석

메탄올 추출물의 경우 볶음 온도 및 시간이 증가함에 따라 DPPH 라디칼 제거능이 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 대조군 9.3 mg TEAC/g에서 250°C, 30분 처리시 18.8 mg TEAC/g으로 2배 이상 향상되었다(Table 4). ABTS 라디칼 제거능 실험에서도 메탄올 추출물군은 볶음 온도와 시간에 비례하여 활성이 증가하는 경향을 보였다. 일반귀리의 메탄올 추출물에서의 ABTS 라디칼 제거능은 22.4 mg TEAC/g였으며, 250°C, 30분 볶음 처리를 거친 후, 33.4 mg TEAC/g로 증가하였다. 라디칼 제거능은 폴리페놀 함량이 증가함에 따라 함께 증가하는 것으로 이전 연구들에서도 밝혀진 바 있으며(31,32), 이는 폴리페놀의 수산기가 DPPH와 ABTS 라디칼에 수소 또는 전자를 공여함으로써 반응성을 안정화 시키기 때문인 것으로 생각된다(33).

증류수 추출물에서의 DPPH 라디칼 제거 활성은 볶음 전 14.4 mg TEAC/g에서 250°C, 30분 볶음시 215.3 mg TEAC/g으로 약 15배 증가하였으며, 메탄올과 발효주정 추출물과 비교하여 가장 큰 활성을 보였다(Table 4). 특히적으로 DPPH 라디칼 제거 활성이 폴리페놀 함량이 높은 메탄올 추출물에 비해 증류수 추출물에서 더 높게 나타난 것은 다음의 요인들에 따른 현상으로 생각된다. 첫째, *Spirulina platensis* 추출물의 항산화능을 평가한 실험에서도 유사한 결과가 보고된 바 있는데, 증류수 추출물에서 항산화 효능을 가진 색소단백질인 피코빌리단백질(phycoobiliprotein)의 함량이 더 높게 나타났고, 이것이 DPPH 라디칼 제거에 더 뛰

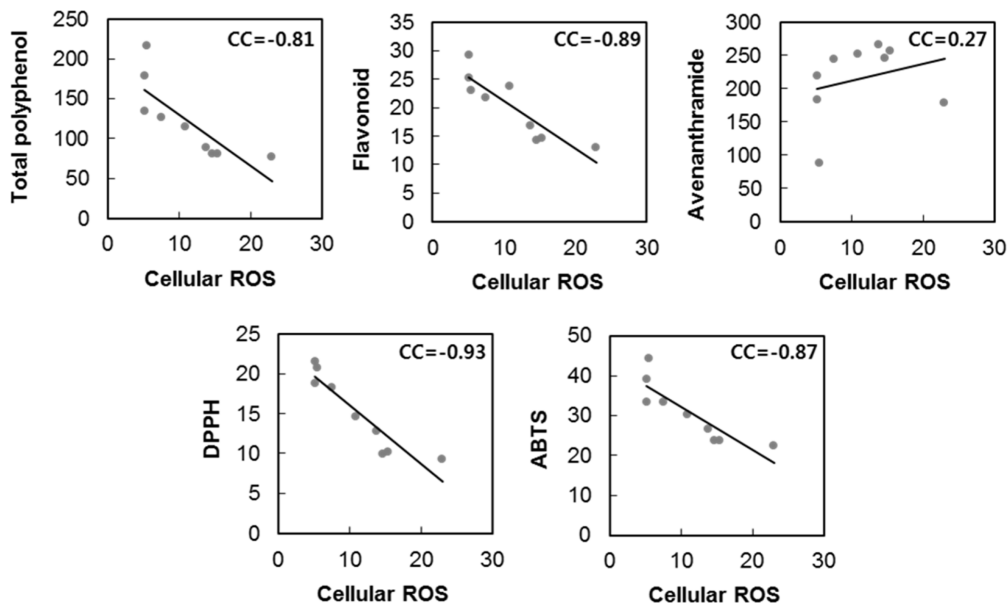


Fig. 2. Correlation coefficients between cellular ROS level and other factors. Means of cellular ROS level were compared with the total polyphenol, flavonoid, avenanthramide, DPPH, and ABTS, respectively and correlation coefficients (CC) were obtained.

어난 활성을 보인 반면, ABTS 라디칼 제거 활성은 페놀화합물 함량에 의존적인 결과를 나타내었다(34). 따라서, DPPH 라디칼 제거 활성은 ABTS에 비하여 페놀화합물 외의 항산화 성분에 더 민감하게 작용한 것으로 분석되며, 볶음 귀리 추출물에서도 수용성 항산화 성분에 의해 DPPH 라디칼 제거 활성이 높게 나타났을 가능성이 있을 것으로 예측된다. 둘째, DPPH 라디칼 제거 활성은 추출물의 극성, 추출물의 구성물질, pH 등에 영향을 받으며(35), ABTS 실험법에 비해 외적 요인에 민감하게 반응한다(36). 특히, DPPH 라디칼 제거능 실험에 일반적으로 사용되는 메탄올 용매는 수소원자와 강하게 결합하여 수소원자이동을 억제하지만, 물은 그 결합을 해제하여 라디칼 제거 반응 속도를 향상시킨다. 따라서 볶음 귀리의 수용성 추출물에서 메탄올 추출물에 비해 페놀 함량이 낮았으나 DPPH 라디칼 제거 활성은 더 높게 나타난 것으로 해석된다(36).

귀리의 볶음 처리에 의한 온도, 시간 조건 별 세포내 ROS 생성 억제 효능

세포 내 항산화 활성을 측정하기 위한 목적으로, 볶음 귀리를 간세포주인 HepG2 세포에 처리하고, t-BHP로 산화적 스트레스를 유발한 이후 세포 내 ROS 농도를 측정하였다(Fig. 1). t-BHP 처리는 세포내 ROS 농도를 크게 증가시켰으며, 귀리의 메탄올 추출물을 100 µg/mL 농도로 처리하였을 때 유의적으로 ROS 함량이 감소하여 산화적 스트레스로부터 세포 보호 효능이 있는 것을 확인하였다. 또한, 볶음 귀리의 메탄올 추출물(100 µg/mL)을 처리하였을 때, 볶음 온도 및 시간에 따라 ROS 농도가 낮아지는 경향을 보여, 250°C 15분, 30분 처리군의 경우 일반 귀리와 비교하여 유의적 수준으로 ROS를 낮췄으며, t-BHP를 처리하기 이전의 정상세포 수준의 ROS 농도로 회복하였다. 세포내 적정 농도의 ROS는 신호전달계를 활성화시키는 작용을 하지만, 산화적 스트레스에 의해 야기되는 고농도의 ROS는 DNA, 단백질, 지방질들을 손상시켜 관련 질환을 유발시키는 원인으로 작용한다(37).

상관관계를 분석한 결과에서(Fig. 2) 세포내 ROS 함량은 추출물의 총 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 제거

능, ABTS 라디칼 제거능과 -0.8 이상의 높은 부의 상관관계를 나타내었으며, 아베난쓰라마이드 함량과는 0.27로 낮은 정의 상관관계를 보였다. 본 결과에서는 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 세포내 ROS 제거에 미치는 영향이 큰 것으로 분석되며, 폴리페놀과 플라보노이드의 수산화는 ROS에 수소원자를 공여함으로써 안정화된 페녹시 라디칼(phenoxo radical) 중간생성물로 전환되며 이후의 라디칼 반응을 억제시키는 것으로 보인다(38). 즉, 귀리 볶음 공정에 의해 증가된 폴리페놀 추출량은 t-BHP와 같이 산화적 스트레스 유도제에 의해 비정상적으로 증가된 ROS를 효과적으로 제거하는데 기여한 것으로 보이며 이는 체내에서 산화적 스트레스에 의한 세포 손상을 억제 또는 예방하는 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 볶음 귀리의 항산화 효능이 최적화된 추출물 제조 조건을 설정하기 위한 목적으로, 생리활성 물질의 함량분석과 항산화능을 비교 분석하였다. 품질 특성 분석결과 볶음 귀리는 폭과 두께가 증가하였으며 볶음 온도에 따라 명도가 낮아지는 특징을 보였다. 주요 항산화 성분인 총 폴리페놀의 함량은 250°C, 30분 볶음조건에서 가장 높았으며, 메탄올, 발효주정, 물 추출물에서 각 134.7, 13.9, 38.7 mg GAE/g 이었다. 귀리의 주요 활성 성분인 아베난쓰라마이드 함량은 200°C, 15분 볶음 메탄올 추출물에서 266 µg/g으로 가장 높았고, 같은 조건의 발효주정 추출물에서는 26.8 µg/g, 증류수 추출물에서는 불검출 되었다. 항산화 효능을 측정하는 DPPH와 ABTS 라디칼 제거능 실험에서 볶음 온도와 시간이 증가함에 따라 활성도 증가하는 경향을 보여, 메탄올 추출물을 기준으로 하였을 때 250°C, 30분 볶음조건에서 DPPH 라디칼 제거 활성은 18.8 mg TEAC/g, ABTS 라디칼 제거 활성은 33.4 mg TEAC/g으로 나타났다. 또한, 세포에 직접적으로 메탄올 추출물을 처리한 실험에서도 볶음 온도와 시간이 증가함에 따라 ROS 제거능이 개선되는 것을 확인하였다. 귀리의 볶음 공정은 화학적, 물리적 특성 변화에 따라 색, 향미, 조직감 등에 영

향을 미쳤으며 항산화 효능이 증대되어 건강제품개발 및 볶음차 등의 소재로 활용될 수 있을 것으로 예상된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구비 지원(과제번호 PJ01255102)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Lee MJ, Park SY, Kim YK, Kim HS, Park HH, Lee YJ, Jeong HS. Physicochemical properties and β -glucan contents of Korean naked oat (*Avena sativa* L.) cultivars. Korean J. Food Sci. Technol. 49: 97-103 (2017)
- Collins FW. Oat phenolics: Avenanthramides, novel substituted N-cinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. J. Agr. Food Chem. 37: 60-66 (1989)
- Peterson DM. Oat antioxidants. J. Cereal Sci. 33: 115-129 (2001)
- Bennett RN, Wallsgrove RM. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytol. 127: 617-633 (1994)
- Korkina LG. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. Cell Mol. Biol. 53: 15-25 (2007)
- Peters FN. Oat flour as an antioxidant. Ind. Eng. Chem. 29: 146-151 (1937)
- Berghofer E, Grzeskowiak B, Mundigler N, Sentall WB, Walczak J. Antioxidative properties of faba bean-, soybean- and oat temp. Int. J. Food Sci. Nutr. 49: 45-54 (1998)
- Du Y, Esfandi R, Willmore WG, Tsopmo A. Antioxidant activity of oat proteins derived peptides in stressed hepatic HepG2 cells. Antioxidants 5: 39 (2016)
- Chen H, Qiu S, Gan J, Li Z, Nirasawa S, Yin L. New insights into the antioxidant activity and components in crude oat oil and soybean oil. J. Food Sci. Technol. 53: 808-815 (2016)
- Lee YT. Effect of heat treatments on in vitro starch hydrolysis of selected grains. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 35: 1102-1105 (2006)
- Yun UJ, Yang SY, Lee HS, Hong CO, Lee KW. Optimal roasting conditions for maximizing the quality of tea leached from high functional Perilla frutescens leaves. Korean J. Food Sci. Technol. 44: 34-40 (2012)
- Duh PD, Yen GC, Yen WJ, Chang LW. Antioxidant effects of water extracts from barley (*Hordeum vulgare* L.) prepared under different roasting temperatures. J. Agr. Food Chem. 49: 1455-1463 (2001)
- Sharma P, Gujral HS. Effect of sand roasting and microwave cooking on antioxidant activity of barley. Food Res. Int. 44: 235-240 (2011)
- Sharma P, Gujral HS, Rosell CM. Effects of roasting on barley β -glucan, thermal, textural and pasting properties. J. Cereal Sci. 53: 25-30 (2011)
- Ivanova D, Gerova D, Chervenkov T, Yankova T. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 96: 145 - 150 (2005)
- Chang C, Yang M, Wen H, Chern J. Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10: 178-182 (2002)
- Bryngelsson S, Dimberg LH, Kamal-Eldin A. Effects of commercial processing on levels of antioxidants in oats (*Avena sativa* L.). J. Agr. Food Chem. 50: 1890-1896 (2002)
- Bondet V, Brand-Williams W, Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH, free radical method. LWT-Food Sci. Technol. 30: 609-615 (1997)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. Med. 26: 1231-1237 (1999)
- Gujral HS, Sharma P, Rachna S. Effect of sand roasting on beta glucan extractability, physicochemical and antioxidant properties of oats. LWT- Food Sci. Technol. 44: 2223-2230 (2011)
- Boekel MA. Formation of flavour compounds in the maillard reaction. Biotechnol. Adv. 24: 230-233 (2006)
- Jousse F, Jongen T, Agterof W, Russell S, Braat P. Simplified kinetic scheme of flavor formation by the maillard reaction. J. Food Sci. 67: 2534-2542 (2002)
- Ham H, Woo KS, Park JY, Lee B, Choi YH, Lee C, Kim WH, Lee J, Lee YY. Antioxidant and anti-proliferative activities of oats under different solvent extraction conditions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 45: 918-922 (2016)
- Oki T, Masuda M, Kobayashi M, Nishiba Y, Furuta S, Suda I, Sato T. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in red-hulled rice. J. Agr. Food Chem. 50: 7524-7529 (2002)
- Khokhar S, Magnusdottir SGM. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. J. Agr. Food Chem. 50: 565-570 (2002)
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chem. 99: 835-841 (2006)
- Yu JS, Hwang IG, Woo KS, Chang YD, Lee CH, Jeong JH, Jeong HS. Physicochemical characteristics of *Chrysanthemum indicum* L. flower tea according to different pan-firing times. Korean J. Food. Sci. Technol. 40: 297-302 (2008)
- Chung HS, Kim JK, Youn KS. Effects of roasting temperature on phytochemical properties of job's tears powder and extracts. Korean Soc. Food Preserv. 13: 477-482 (2006)
- Dimberg LH, Molteberg EL, Solheim R, Frølich W. Variation in oat groats due to variety, storage and heat treatment. I: Phenolic compounds. J. Cereal Sci. 24: 263-272 (1996)
- Dimberg LH, Sunnerheim K, Sundberg B, Walsh K. Stability of oat avenanthramides. Cereal Chem. 78: 278-281 (2001)
- Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta 71: 230-235 (2007)
- Gorinstein S, Vargas OJM, Jaramillo NO, Salas IA, Ayala ALM, Arancibia-Avila P, Toledo F, Katrich E, Trakhtenberg S. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. Eur. Food Res. Technol. 225: 321-328 (2007)
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. Analyst 127: 183-198 (2002)
- Shalaby EA, Shanab SM. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of Spirulina platensis. Indian J. Mar. Sci. 42: 556-564 (2013)
- Sharma, OP, Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited. Food Chem. 113: 1202-1205 (2009)
- Schaich KM, Tian X, Xie J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: a critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. J. Funct. Foods 14: 111-125 (2015)
- Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. Curr. Biol. 24: R453-462 (2014)
- Wang HC, Brumaghim JL. Polyphenol compounds as antioxidants for disease prevention: Reactive oxygen species scavenging, enzyme regulation, and metal chelation mechanisms in *E. coli* and human cells. ACS Symposium, Washington, D.C., USA pp. 99-175 (2011)