

새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 산화방지 활성

채규서¹ · 류은혜¹ · 김기덕² · 김용석³ · 권지웅^{1,*}

¹베리&바이오식품연구소, ²고창군청 농업진흥과, ³전북대학교 농업생명과학대학 식품공학과

Antioxidant activities of ethanol extracts from barley sprouts

Kyu Seo Chae¹, Eun Hye Ryu¹, Ki Deok Kim², Yong-Suk Kim³, and Ji Wung Kwon^{1,*}

¹Berry&Biofood Research Institute

²Gochang County Rural Development Department

³Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

Abstract Phenolic compounds and antioxidant activities of ethanol extracts from barley sprouts were evaluated in this study. Barley sprouts were extracted using water and ethanol in various concentration (25, 50, and 75%) using reflux extraction methods. Ultra performance liquid chromatography (UPLC) analysis showed that barley sprouts are mainly composed of rutin, gallic acid, ferulic acid, and *p*-coumaric acid. The 75% ethanol extracts had higher total polyphenol contents (44.01±1.32 mg/g) and total flavonoid contents (102.96±2.49 mg/g). 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (EC₅₀ value: 1.65±0.02 mg/mL) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt radical scavenging activity (EC₅₀ value: 1.67±0.02 mg/mL) of the 75% ethanol extracts of barley sprouts were found to be the most effective. The 75% ethanol extracts of barley sprouts exhibited a strong reducing activity and ferric reducing antioxidant activity. As a result, the 75% ethanol extracts of barley sprouts showed stronger antioxidant activity than other extracts.

Keywords: antioxidant activities, ethanol extracts, phenolic compounds, barley sprouts

서 론

현대사회는 경제발전과 더불어 국민 소득이 증대되고 생활수준은 향상되고 있지만 많은 스트레스와 서구화된 식습관 및 생활 불균형으로 인해 다양한 질병이 증가되고 있는 추세이다(Bae, 2003). 이에 천연 소재를 가지고 다양한 연구가 진행되고 있는데, 특히 다양한 질병에 원인이 되는 것으로 알려져 있는 산화방지 관련 연구가 많이 진행되고 있다. 산화적 스트레스를 유발시키는 자유라디칼은 수많은 화합물의 화학적 반응 및 여러 산화, 환원 반응 등 내적 요인과 흡연, 음주, 스트레스 등 외적요인에 의해 생성되고, 인체 내에서 자유라디칼 반응에 의해 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 체내에서 물리적 또는 환경적 요소에 의해 끊임없이 생성되고, 대부분 체내 항산화 방어 체계에 의해 제거되지만 ROS는 매우 불안정하고 반응성이 높아 과생성 될 경우 DNA 분절과 단백질의 불활성화 및 과산화 반응을 일으켜 세포들을 공격하고 세포와 조직에 비가역적인 손상을 유발하여 다양한 질환에 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Fridovich, 1989; Halliwell, 1996; Morrissey와 O'brien, 1998; Valko 등, 2007). 이에 천연 항산화제 및 기능성 식품에 대한 필

요성 및 소비자 수요에 따라 안전한 기능성 식품들에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 다양한 식품 소재들이 산화방지 및 다양한 생리활성 연구의 소재로 이용되고 있다(Han과 Kim, 2017).

새싹보리(*Hordeum vulgare* L.)는 보리를 파종하고 15-20 cm 자란 어린잎으로 의떡잎식물 벼목 화본과에 속하는 두해살이풀로 알려져 있다(Lee 등, 2017). 새싹보리는 강력한 항산화제인 비타민 C, 비타민 E, β -carotene 등의 기능성 물질이 다량 함유되어 있어(Kim, 2006) 항산화 활성, 지질 및 당의 대사작용에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Byun 등, 2015). 새싹보리를 이용한 연구로는 건조방법에 따른 새싹보리 설기떡의 품질특성(Lim 등, 2017), 새싹보리를 첨가한 스트링치즈의 품질 특성(Park 등, 2017), 보리순 분말의 첨가가 케이크의 품질특성에 미치는 영향(Kim, 2011), 보리순 분말을 첨가한 쿠키의 품질특성(Kim, 2015), 보리순 가루를 첨가한 머핀의 품질 특성(Cho와 Kim, 2014) 등의 가공 연구와 보리순 에탄올 추출물의 항염증 효과(Kim과 Kim, 2015), 보리순 분말이 당뇨쥐의 혈당조절에 미치는 효과(Son 등, 2016a), 피부미용소재로서 보리순 추출물의 생리활성 특성 연구(Kim과 Kim, 2016), 보리순의 영양성분과 항산화 효과(Son 등, 2016b) 등의 생리활성 연구가 활발히 진행되고 있다.

이처럼 새싹보리에 대한 기능성 연구 및 식품 소재 연구가 이루어지고 있지만 추출용매를 달리한 새싹보리 추출물의 산화방지에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 최근 소비자들의 관심이 높아져 재배농가가 늘어나고 있는 새싹보리를 에탄올 농도를 달리하여 추출물을 제조하고 이에 대한 기능성 성분 분석 및 산화방지 활성을 비교하여, 천연 산화방지 소재로써 새싹보리의 이용 가능성을 탐색하고자 하였다.

*Corresponding author: Ji Wung Kwon, Berry&Bio food Research Institute, 558 Bokbunja-ro, Buan-myun, Gochang-gun, Jeollabuk-do, Korea
Tel: +82-63-560-5190
Fax: +82-63-563-6680
E-mail: kjwung@daum.net
Received July 12, 2019; revised August 6, 2019;
accepted August 7, 2019

재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 사용한 새싹보리는 전라북도 고창군 부안면에서 2019년도에 수확한 것으로, 세척 후 그늘에서 건조한 것을 분쇄기 (Cyclotec 1093 mill, Foss, Hoganas, Sweden)로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

시약

실험에 사용된 폴린시오칼토 페놀시약(folin-ciocalteu's phenol reagent), 탄산나트륨(sodium carbonate), 탄닌산(tannic acid), 퀘세틴(querctetin), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)와 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 아세트산칼륨(potassium acetate), 질산알루미늄(aluminum nitrate)은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 에탄올(ethanol)과 메탄올(methanol)은 J.T. Baker (Boston, MA, USA)에서 구입하였으며, 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

물 및 에탄올 농도별 추출물 제조

새싹보리의 산화방지 활성 및 페놀성 화합물 분석을 위한 추출물 제조는 Kwon 등(2011)의 방법을 응용하였다. 즉 분쇄된 새싹보리 100 g을 정량하여 30배의 물 및 25, 50, 75% 에탄올을 넣고 4시간 동안 물은 100°C에서, 25, 50, 75% 에탄올은 80°C에서 추출한 것을 감압농축기(Buchi R210, Flawil, Switzerland)로 농축 후 동결건조 하였다. 이때 추출수율은 아래의 식에 의해 함량을 구하였고, -70°C deep freezer (CLN-71UWM, Nihon freezer Ltd., Tokyo, Japan)에서 보관하며 시료로 사용하였다.

$$\text{추출수율(\%)} = \frac{\text{동결건조 후 추출물의 무게(g)}}{\text{추출 전 시료의 무게(g)}} \times 100$$

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 폴리페놀 함량은 건강기능식품공전 방법(2012)을 응용하여 측정하였다. 즉 새싹보리 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물 10 mg/10 mL 농도로 제조한 용액 1 mL에 증류수 7.5 mL와 folin-ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL, 35% sodium carbonate 1 mL를 가한 후 실온 암조건에서 1시간 동안 정치한 후, UV/VIS spectrophotometer (UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 760 nm에서 비색정량 하였다. 이때 tannic acid를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 Chang 등(2002)의 방법을 응용하여 측정하였다. 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물을 10 mg/10 mL 농도로 제조한 용액에 diethylene glycol 2 mL, 1 N sodium hydroxide 0.02 mL를 가한 다음 37°C 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 rutin (Sigma-Aldrich)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

페놀성 화합물의 HPLC 분석

새싹보리의 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 페놀성 화합물 함량을 분석하기 위하여 rutin, myricetin, kaempferol, quercetin, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, gallic acid, resveratrol, ellagic acid를 Sigma-Aldrich에서 구입하여 ACQUITY UPLC

H-Class (Waters Corp., Milford, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석에 사용된 각각의 추출물 100 mg을 정밀하게 달아 증류수 3 mL로 현탁액을 조제한 다음 0.45 µm syringe filter로 여과한 것을 Table 1의 조건으로 분석하였다.

카테킨류의 HPLC 분석

새싹보리의 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 caffeine 및 catechins의 함량은 Han 등(2010)의 방법을 응용하여 분석하였는데, caffeine 및 catechins는 Sigma-Aldrich에서 구입하여 ACQUITY UPLC H-Class를 이용하여 Table 2의 조건으로 분석하였다. 실험 용액은 각각의 추출물 100 mg에 70% 메탄올 20 mL로 녹인 용액을 0.45 µm syringe filter로 여과하여 분석에 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

새싹보리의 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 산화방지 활성을 측정하기 위하여 자유라디칼인 DPPH를 사용한 산화방지 활성 측정법(Choi 등, 1993)을 응용하였다. 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/mL 농도로 조제한 각각의 추출물 0.1 mL에 에탄올 0.2 mL를 가하고 2×10⁻⁴ M DPPH용액 0.3 mL를 가한 후 교반하였고, 실온에서 30분간 반응시키고 마이크로플레이트 판독기 (Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였다.

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS assay는 Art 등(2004)의 방법을 응용하였다. 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/mL 농도로 조제한 새싹보리 물 및 25, 50,

Table 1. HPLC conditions for phenolic compounds analysis

Items	Conditions		
System	ACQUITY UPLC H-class (Waters)		
Column	Shiseido capcellpak C18 UG (5 µm, 250×4.6 mm)		
Column temperature	25°C		
Flow rate	1 mL/min		
Injection volume	10 µL		
Wavelength	360 nm	rutin, myricetin, kaempferol, luteolin, quercetin	
	320 nm	caffeic acid, <i>p</i> -coumaric acid, ferulic acid, resveratrol	
	280 nm	gallic acid	
	260 nm	ellagic acid	
		Time (min)	A (%)
Gradient condition	0.0	95.0	5.0
	10.0	80.0	20.0
	15.0	70.0	30.0
	20.0	60.0	40.0
	25.0	10.0	90.0
	30.0	10.0	90.0
	32.0	95.0	5.0
	40.0	95.0	5.0
Mobile phase	A: 0.2 M ortho-phosphoric acid, pH 1.57 B: 20% 50 mM ammonium dihydrogen phosphate, pH 2.6 in 80% acetonitrile		

Table 2. HPLC conditions for catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechingallate (EGCG), epicatechingallate (ECG) analysis

Items	Conditions		
System	ACQUITY UPLC H-class (Waters)		
Column	Shiseido capcellpak C18 UG (5 µm, 250×4.6 mm)		
Column temperature	Room temperature		
Flow rate	1 mL/min		
Injection volume	10 µL		
Wavelength	280 nm		
Gradient condition	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	100.0	0.0
	10.0	10.0	90.0
	12.0	80.0	20.0
	20.0	80.0	20.0
	25.0	0.0	100.0
	30.0	0.0	100.0
	40.0	100.0	0.0
Mobile phase	A: acetonitrile/ethyl acetate/0.05% H ₃ PO ₄ = 6:2:86 (v/v/v) B: acetonitrile/ethyl acetate/0.05% H ₃ PO ₄ = 44:1:43 (v/v/v)		

75% 에탄올 추출물 0.005 mL에 ABTS 라디칼 용액 0.195 mL를 첨가하여 7분간 반응시킨 후 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였다.

환원력

새싹보리의 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 환원력은 Oyaizu(1986)의 방법을 이용하여 측정하였다. 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/mL 농도별로 조제한 추출물 0.1 mL에 0.2 M 인산나트륨 완충용액(pH 6.6) 0.25 mL 및 1% 페리시아안화 포타슘 0.25 mL를 첨가하고 50°C 항온수조에서 20분 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid 0.25 mL을 가하였다. 그 후 0.1% 염화철(III) 0.05 mL를 첨가하여 마이크로플레이트 판독기로 700 nm에서 환원력을 측정하였다.

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

새싹보리 물 및 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 FRAP은 Blois (1958)의 방법을 응용하여 측정하였다. 즉 0.3 M 아세트산나트륨

완충용액(pH 3.6), 10 mM TPTZ (Sigma-Aldrich) 및 20 mM FeCl₃·6H₂O를 제조하여 실험 직전에 10:1:1의 비율로 혼합하여 FRAP 용액을 제조하였다. FRAP 용액 0.75 mL와 농도별(0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/mL)로 조제한 시료 0.03 mL씩 첨가한 후 37°C 항온수조에서 15분간 반응 후 마이크로플레이트 판독기를 이용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

본 연구의 각 시험항목별 실험결과는 3회 반복 분석하여, SPSS program 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계처리 후 평균 및 표준편차로 나타내었다. 각 시험군 간의 통계적 유의성 검증은 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 실시하였으며, 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

추출물의 수율, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

새싹보리의 최적 추출조건을 확인하기 위하여 물 및 25, 50, 75% 에탄올을 추출용매로 사용하여 제조한 추출물의 추출수율은 Table 3과 같다. 새싹보리 물 추출물의 수율은 29.52±0.36%로 다른 추출물에 비해 유의적으로 낮았고, 25, 50, 75% 에탄올 추출물의 추출수율은 각각 32.04±0.35, 32.78±0.26, 33.50±1.29%로 추출용매의 에탄올 농도가 증가할수록 추출수율도 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과는 시료 내 다양한 화합물들이 단일 추출용매보다 물과 유기용매가 혼합된 용매에서 친화력이 증가되어 수율이 증가된 것으로 판단되며(Shin과 Lee, 2011), 에탄올 농도가 올라갈수록 추출수율이 증가된 것은 비극성 물질이 극성물질에 비해 많이 포함되어 있는 것으로 생각된다.

식물체에 존재하는 폴리페놀과 플라보노이드는 2차 대사산물 중 하나로 방향족 고리에 페놀릭 하이드록실 (OH)기를 바탕으로 단백질 및 큰 분자들과 결합이 용이하며 활성산소를 제거하는 항산화 물질로 알려져 있다(Lee와 Lee, 2016). 새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과(Table 3) 추출용매의 에탄올 농도가 높을수록 총 폴리페놀 함량도 높게 나타났는데, 75% 에탄올 추출물이 44.01±1.32 TAE mg/g으로 가장 높은 함량을 보였다. 물 추출물은 37.82±0.39 TAE mg/g으로 가장 낮은 함량을 보였고, 25% 및 50% 에탄올 추출물이 각각 39.32±0.66, 41.41±0.88 TAE mg/g으로 나타났다.

또한 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과에서도 75% 에탄올 추출물이 102.96±2.49 RUE mg/g으로 가장 높은 함량을 보였는데, 물 추출물(40.14±2.00 RUE mg/g) 보다 약 2.5배 이상 높게 나타났다. 25 및 50% 에탄올 추출물은 각각 49.10±1.13, 65.70±3.91 RUE mg/g으로 추출용매의 에탄올 농도가 높아질수록 총 플

Table 3. Extracts yield, total polyphenol, and total flavonoid contents of extracts from barley sprouts

Extraction solvents	Yield (%)	Total polyphenol contents (TAE ¹⁾ mg/g)	Total flavonoid contents (RUE ²⁾ mg/g)
Water	29.52±0.36 ^{3b}	37.82±0.39 ^c	40.14±2.00 ^d
25% Ethanol	32.04±0.35 ^a	39.32±0.66 ^c	49.10±1.13 ^c
50% Ethanol	32.78±0.26 ^a	41.41±0.88 ^b	65.70±3.91 ^b
75% Ethanol	33.50±1.29 ^a	44.01±1.32 ^a	102.96±2.49 ^a

¹⁾Total polyphenol contents was expressed as mg tannin acid (TAE) per 100 g.

²⁾Total flavonoid contents was expressed as mg rutin (RUE) per 100 gram.

³⁾Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

^{a-d)}Indicate statistically significant differences of ethanol concentration on the extraction from barley sprouts ($p < 0.05$).

Table 4. Phenolic acid contents of extracts from barley sprouts

Compound	Extraction solvents (mg/100 g)			
	Water	25% Ethanol	50% Ethanol	75% Ethanol
Rutin	66.43±0.15 ^{1)c}	62.76±0.09 ^d	79.85±0.20 ^b	88.12±1.75 ^a
Myricetin	5.42±0.08 ^a	2.96±0.02 ^d	3.60±0.03 ^c	4.29±0.08 ^b
Kaempferol	9.86±0.14 ^b	2.43±0.02 ^d	13.60±0.09 ^a	2.64±0.03 ^c
Quercetin	6.44±0.03 ^b	5.39±0.03 ^c	7.13±0.17 ^a	6.27±0.15 ^b
Caffeic acid	11.63±0.08 ^a	7.53±0.11 ^c	8.45±0.34 ^b	8.91±0.21 ^b
<i>p</i> -Coumaric acid	37.83±0.65 ^a	30.75±0.26 ^b	38.06±0.47 ^a	38.35±0.73 ^a
Ferulic acid	47.18±0.82 ^a	18.03±0.37 ^d	20.73±0.60 ^c	22.49±0.16 ^b
Gallic acid	69.70±0.33 ^a	23.75±0.16 ^d	46.53±2.56 ^b	30.91±0.62 ^c
Resveratrol	2.83±0.06 ^b	2.26±0.11 ^c	2.76±0.05 ^b	4.42±0.07 ^a
Ellagic acid	12.91±0.17 ^a	8.70±0.10 ^d	10.68±0.37 ^c	11.43±0.16 ^b

¹⁾Date are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

^{a-d)}Indicate statistically significant differences of ethanol concentration on the extraction from barley sprouts ($p<0.05$).

Table 5. Comparison of catechins of extracts from barley sprouts

Compound	Extraction solvents (mg/100 g)			
	Water	25% Ethanol	50% Ethanol	75% Ethanol
Caffeine (CAF)	ND ¹⁾	ND	ND	ND
Catechin (C)	204.31±4.17 ^{2)a}	183.81±2.53 ^c	169.77±3.05 ^d	195.51±3.43 ^b
Epicatechin (EC)	97.39±4.57 ^d	163.38±4.48 ^c	188.10±9.28 ^b	223.03±11.65 ^a
Epigallocatechin (EGC)	ND	ND	ND	ND
Epicatechingallate (ECG)	162.76±1.92 ^b	200.76±4.18 ^a	157.74±2.71 ^b	140.31±0.92 ^c
Epigallocatechingallate (EGCG)	58.21±1.28 ^a	18.67±0.59 ^c	15.73±0.35 ^d	21.70±1.20 ^b

¹⁾Not detected.

²⁾Date are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

^{a-d)}Indicate statistically significant differences of ethanol concentration on the extraction from barley sprouts ($p<0.05$).

라보노이드 함량도 높게 나타났다. 결과적으로 페놀성 화합물은 수용성 또는 지용성 화합물로 구분되어 추출되는 용매에 따라 추출되는 성분들이 달라지는 것으로 알려져 있는데(Cha 등, 2006; Kim 등, 1995), 새싹보리의 경우 지용성 화합물의 함량이 높아 에탄올 농도가 증가할수록 추출수율, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높게 나타난 것으로 판단된다.

페놀성 화합물 분석

새싹보리의 농도별 에탄올 추출물의 페놀성 화합물 10종을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 새싹보리 물 추출물의 경우 gallic acid, rutin, ferulic acid이 각각 69.70±0.33, 66.43±0.15, 47.18±0.82 mg/100 g 순으로 가장 높은 함량을 보였고, 25% 에탄올 추출물은 rutin (62.76±0.09 mg/100 g), *p*-coumaric acid (30.75±0.26 mg/100 g), gallic acid (23.75±0.16 mg/100 g)이 주요 화합물이었고, 50% 에탄올 추출물은 rutin (79.85±0.20 mg/100 g), gallic acid (46.53±2.56 mg/100 g), *p*-coumaric acid (38.06±0.47 mg/100 g)가 가장 많은 함량을 보였다. 75% 에탄올 추출물도 50% 에탄올 추출물과 같은 경향으로 rutin (88.12±1.75 mg/100 g), *p*-coumaric acid (38.35±0.73 mg/100 g), gallic acid (30.91±0.62 mg/100 g)가 가장 높은 함량으로 나타났다. 결과적으로 추출용매에 따라 차이는 있으나 새싹보리의 주된 페놀성 화합물은 rutin, gallic acid, ferulic acid 및 *p*-coumaric acid으로 분석되었다. Rutin은 quercetin에 rutinose가 결합한 배당체 구조로써 다양한 식물체에 존재하는 것으로 알려져 있으며, 항산화 효과가 우수한 것으로 알려져 있다(Kamalakkannan과 Prince, 2006). 또한 탄닌 성분의 일종인 gal-

lic acid는 항바이러스 작용, 항알러지 효과, 항산화 및 중금속 제거 등의 생리활성에 효과가 높은 것으로 알려져 있다(Ahn 등, 1996; Salunkhe 등, 1990). 이와 같이 페놀성 화합물은 천연의 항산화제의 기능을 지닌 것으로 알려져 있는 대표적인 물질로, 새싹보리 추출물의 산화방지 활성에 관여하는 페놀성 화합물 중에서 주된 페놀성 화합물은 rutin, gallic acid, ferulic acid 및 *p*-coumaric acid로 나타났다.

카테킨류 분석

새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 카페인 및 카테킨류 함량을 HPLC를 이용하여 동시에 분석한 결과는 Table 5와 같다. Catechin 함량은 물 추출물이 204.31±4.17 mg/100 g으로 가장 높게 나타났고, epicatechin은 추출용매의 에탄올 농도가 높을수록 높은 함량을 보이는 경향으로 75% 에탄올 추출물이 221.46±2.61 mg/100 g으로 물 추출물 보다 약 2.2배 이상 높은 함량을 보였다. epicatechingallate는 25% 에탄올 추출물이 200.76±4.18 mg/100 g으로 가장 높게 나타났고, epigallocatechingallate는 물 추출물에서 58.21±1.28 mg/100 g으로 에탄올이 첨가된 추출물보다 최소 2배 이상 높게 나타났다. 또한 caffeine과 epigallocatechin은 모든 시료에서 존재하지 않는 것으로 나타났다. Catechin은 플라보노이드의 한 종류로 녹차의 대표적인 효능인 산화방지 활성이 catechin에 의해서 나타나는 효과로 알려져 있어(Yoshida 등, 1999; Coimbra 등, 2006), 새싹보리의 에탄올 농도별 추출물에 epigallocatechin은 존재하지 않지만 그 외에 4종의 catechins가 존재함에 따라 산화방지 활성에 직접적인 영향을 미칠 것으로 판단된다.

Table 6. Comparison of IC₅₀ values of DPPH and ABTS radical scavenging activities of extracts from barley sprouts

Extraction solvents	DPPH radical scavenging	ABTS radical scavenging
	(IC ₅₀ mg/mL) ¹⁾	
Water	1.93±0.02 ^{2a}	1.98±0.01 ^a
25% Ethanol	1.82±0.01 ^b	1.80±0.02 ^b
50% Ethanol	1.68±0.01 ^c	1.78±0.03 ^b
75% Ethanol	1.65±0.02 ^c	1.67±0.02 ^c

¹⁾Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration inhibition curve.

²⁾Date are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

^{a-d)}Indicate statistically significant differences of ethanol concentration on the extraction from barley sprouts ($p < 0.05$).

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능

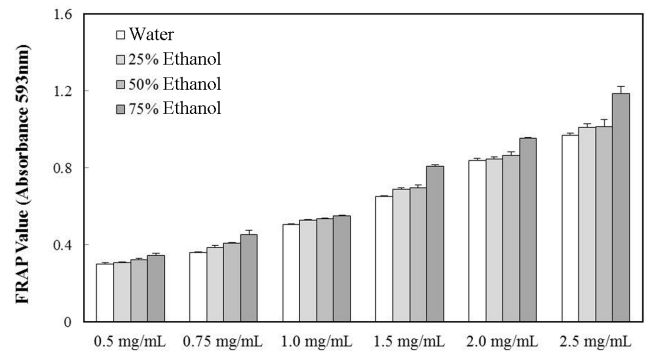
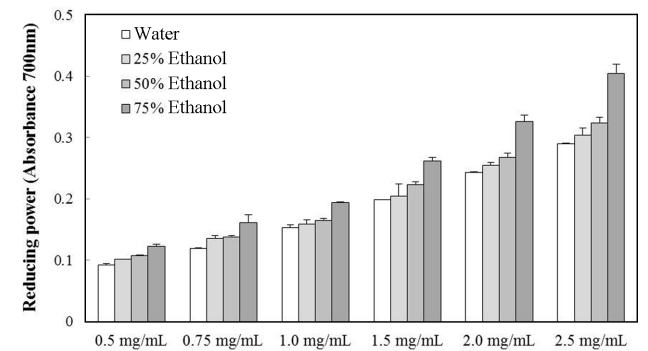
새싹보리의 에탄올 농도별 추출물의 산화방지 활성 측정을 위해 DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값을 측정된 결과(Table 6) 추출용매의 에탄올 농도가 증가할수록 라디칼 소거능이 증가하는 경향을 보였다. 특히 새싹보리 75% 에탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능의 IC₅₀ 값은 각각 1.65±0.02, 1.67±0.02 mg/mL로 가장 높은 활성을 보였고, 물 추출물은 각각 1.93±0.02, 1.98±0.01 mg/mL로 가장 낮은 소거능을 보였다. Al-Dabbagh 등(2018)은 페놀성 화합물의 함량과 라디칼 소거능은 비례한다는 연구결과와 같이 본 실험에서도 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높은 추출물이 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능도 높게 나타났으며, 새싹보리의 경우 추출용매의 극성에 따라 항산화 효과에 차이를 보였다는 보고(Lee 등, 1994)와도 같은 경향을 보였다.

환원력 및 FRAP

일반적으로 다른 물질에 대한 환원능력이 높을수록 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있어(Song 등, 2007), 새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 환원력을 측정하였다(Fig. 1). 모든 추출물은 에탄올 농도 의존적으로 환원력이 증가하는 경향을 보였고, 75% 에탄올 추출물이 가장 높은 환원력을 보였으며, 추출용매의 극성도가 높을수록 환원력은 낮게 나타났다. 이는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높은 추출물이 환원력도 높게 나타난 것으로, 총 폴리페놀 함량이 높을수록 라디칼 소거활성 및 환원력도 높다는 Park 등(2008)의 연구결과와 같은 경향으로 나타났다.

또한 FRAP 측정법은 DPPH를 이용한 라디칼 소거능을 측정하는 방법과는 달리 철이온의 산화 및 환원 반응을 이용한 방법이다. Moon 등(2003)에 따르면 FRAP 측정법과 DPPH 측정법은 높은 상관관계를 나타낸다고 보고하였는데, 본 실험에서도 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 우수했던 75% 에탄올 추출물이 가장 높은 활성을 보였고, 물 추출물이 가장 낮은 활성을 보였다. Osawa (1994)는 식물로부터 추출된 페놀류의 화합물은 산화방지 활성을 나타낸다고 보고하였으며, 이런 효능은 주로 산화 환원력에 의한 것이라고 보고하였다.

이러한 결과를 종합하여 볼 때 새싹보리에는 다양한 생리활성을 지니는 것으로 알려진 기능성분들이 다량 함유되어 있으며, 특히 산화방지 활성에 간접적인 지표가 되는 것으로 알려진 페놀성 화합물들(Lee 등, 2008; Kwak 등, 2010)이 다량 존재하여 높은 산화방지 활성을 보이는 것으로 판단된다. 또한 새싹보리는 추출용매의 극성도에 따라서 기능성분 및 산화방지 활성에 차이

**Fig. 1. FRAP of extracts from barley sprouts.****Fig. 2. Reducing power of extracts from barley sprouts.**

를 보이는 것을 확인하였고, 새싹보리의 기능성 물질들은 지용성 물질의 함량이 높아 추출용매의 극성도가 낮을수록 높은 산화방지 활성을 보이는 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 최근 소비자에 대한 관심이 높아져 재배량 및 생산량이 증가하고 있는 새싹보리를 물 및 25, 50, 75% 에탄올 농도별로 추출물을 제조하여 기능성분 분석 및 산화방지 활성을 측정하였다. 추출수율은 추출용매의 극성도가 낮을수록 높아졌는데, 75% 에탄올 추출물의 수율이 가장 높게 나타났다. 또한 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량도 75% 에탄올 추출물에서 가장 높게 나타났는데, 특히 총 플라보노이드 함량은 다른 추출물보다 약 2.5배 이상 차이를 보이는 것으로 나타났다. 새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 페놀성 화합물을 분석한 결과 추출용매의 에탄올 농도와 상관없이 새싹보리의 주된 페놀성 화합물은 rutin, gallic acid, ferulic acid 및 p -coumaric acid로 나타났다. 또한 새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 catechins 분석 결과 catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechingallate 및 epigallocatechingallate가 분석되었다. 새싹보리 에탄올 농도별 추출물의 산화방지 활성을 측정하기 위하여 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성, 환원력 및 FRAP를 측정된 결과 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높았던 75% 에탄올 추출물이 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, 환원력 및 FRAP 모두 가장 높은 활성을 보였다. 결과적으로 새싹보리에 존재하는 기능성 물질들은 비극성 화합물의 함량이 높은 것으로 나타나 새싹보리를 에탄올을 용매로 추출물을 제조할 때 에탄올 농도가 높은 용매로 추출하는 것이 산화방지 활성에 효과가 좋을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부가 지원하는 2015년 농촌자원복합산업화지원사업 향토건강식품명품화사업으로 수행된 연구 결과입니다.

References

- Ahn YJ, Lee SH, Kang SJ, Hwang BY. The phenolic components of *Sapium japonocum*. *Yakhak Haeji*. 40: 183-192 (1996)
- Al-Dabbagh B, Elhaty IA, Hroust AA, Sakkaf RA, El-Awady R, Ashraf S, Amin A. Antioxidant and anticancer activities of *trigonella foenum-graecum*, *Cassia acutifolia* and *Rhazya stricta*. *BMC Complem Altern M*. 18: 240-253 (2018)
- Arts MJTJ, Haenen GRMM, Voss HP, Bast A. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem. Toxicol*. 42: 45-49 (2004)
- Bae SJ. The antimicrobial activities of waste food fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 32: 825-828 (2003)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199-1200 (1958)
- Byun AR, Chun HJ, Lee J, Lee SW, Lee HS, Shim KW. Effects of a dietary supplement with barley sprout extract on blood cholesterol metabolism. *J. Evidence Based Complementary Altern Med*. 2015: 1-7 (2015)
- Cho JS, Kim HY. Quality characteristics of muffins by the addition of dried barley sprout powder. *Korean J. Food Cook. Sci*. 30: 1-10 (2014)
- Chang CC, Yang MH, Chen JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal*. 10: 178-182 (2002)
- Choi JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Korean J. Pharmacol*. 24: 299-303 (1993)
- Cha JY, Jeong JJ, Kim YT, Seo WS, Yang HJ, Kim JS, Lee YS. Detection of chemical characteristics in Hamcho (*Salicornia herbacea* L.) according to harvest periods. *J. Life Sci.*, 16: 683-690 (2006)
- Coimbra S, Castro E, Rocha-Pereira P, Rebelo I, Rocha S, Santos Silva A. The effect of green tea in oxidative stress. *Clin. Nutr*. 25: 790-796 (2006)
- Fridovich I. Superoxide dismutase an adaption to paramagnetic gas. *J. Biol. Chem*. 264: 7761-7762 (1989)
- Halliwel B. Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr*. 16: 33-49 (1996)
- Han IH, Kim JH. Antioxidant and physiological activities of water and ethanol extracts of diverse parts of Welsh onion. *J. Korean Soc Food Sci Nutr*. 46: 426-434 (2017)
- Han SK, Song YS, Lee JS, Bang JK, Suh SJ, Cho JY, Moon JH, Park KH. Change of the chemical constituents and antioxidant activity during microbial-fermented tea (*Camellia sinensis* L.) processing. *Korean J. Food Sci. Technol*. 42(1): 21-26 (2010)
- Kamalakkannan N, Prince PSM. Antihyperglycemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Basic & Clin Pharmacol Toxicol*. 98: 97-103 (2006)
- KFDA. Korea health supplements food standard codex. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 529 (2012)
- Kim YA. Effects of young barley leaf powders on the quality characteristics of yellow layer cakes. *Korean J. Food Preserv*. 18: 830-835 (2011)
- Kim JM. Quality characteristics of cookies added with barley sprout powder. *Korean J. Food Nutr*. 28: 802-812 (2015)
- Kim MK, Kim DY. Anti-inflammatory effect of barley leaf ethanol extract in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage. *Korean J. Food Preserv*. 2: 735-743 (2015)
- Kim DC. Preparation of barley leaf powder tea and its quality characteristics. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 35: 734-737 (2006)
- Kim DY, Kim MK. Study on the bioactive characteristics of barley sprout extracts as a raw material for beauty products. *J. Korean Soc. Beauty Art*. 17: 143-155 (2016)
- Kim JY, Maeng YS, Lee KY. Antioxidative effects of soybean extracts by using various solvents. *Korean J. Food Sci. Technol*. 27: 635-639 (1995)
- Kwak JH, Choi GN, Park JH, Kim JH, Jeong HR, Jeong CH, Heo HJ. Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J. Agric. Life Sci*. 44: 57-66 (2010)
- Kwon JW, Lee HK, Park HJ, Kwon TO, Choi HR, Song JY. Screening of biological activities to different ethanol extracts of *Rubus coreanus* Miq. *Korean J. Medicinal Crop. Sci*. 19: 325-333 (2011)
- Lee JJ, Park DH, Lee WY. Optimization of microwave assisted extraction process of *Hordeum vulgare* L. by response surface methodology. *Korean J. Food Preserv*. 24: 949-956 (2017)
- Lee YC, Son JY, Kim KT, Kim SS. Antioxidant activity of solvent extract isolated from barley leaves. *Korean J. Food & Nutr*. 7: 332-337 (1994)
- Lee SH, Lee SO. Polyphenol contents and antioxidant activities of lentil extracts from different cultivars. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 45: 973-979 (2016)
- Lee SY, Shin YJ, Park JH, Kim SM, Park CS. An analysis of the Gyungokgo's ingredients and a comparison study on anti-oxidation effects according to the kinds of extract. *Korean J. Herbology* 23: 23-136 (2008)
- Lim YS, Kim MJ, Kang YS. Quality characteristics of *Sulgidduk* added with barley sprout using different drying methods. *Culinary Science & Hospitality Res*. 23: 220-233 (2017)
- Moon GS, Ryu BM, Lee MJ. Components and antioxidative activities of buchu (Chinese chives) harvested at different times. *Korean J. Food Sci. Technol*. 35: 493-498 (2003)
- Morrissey PA, O'Brien NM. Dietary antioxidants in health and disease. *Int. Dairy. J*. 8: 463-472 (1998)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction-antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japan J. Nutr*. 44: 307-315 (1986)
- Osawa T. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. pp. 241-251 (1994)
- Park YK, Cho SH, Kim SH, Jang YS, Han JY, Chun HG. Functional composition and antioxidant activity from the fruits *Rubus coreanus* according to cultivars. *Mokchae Konghak*. 36: 102-109 (2008)
- Park SE, Seo SH, Kim EJ, Lee KM, Son HS. Quality characteristics of string cheese prepared with barley sprouts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*. 46: 841-847 (2017)
- Salunkhe DK, Chavan JK, Kadam SS. Dietary tannins. Consequences and Remedies. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida (1990)
- Son HK, Lee YM, Park YH, Lee JJ. Effect of young barley leaf powder on glucose control in the diabetic rats. *Korean J. Community Living Sci*. 27: 19-29 (2016a)
- Son HK, Lee YM, Lee JJ. Nutrient composition and antioxidative effects of young barley leaf. *Korean J. Community Living Sci*. 27: 851-862 (2016b)
- Shin SL, Lee CH. Screening of effective extraction conditions for increasing antioxidant activities from fronds of *Osmunda japonica*. *Korean J. Plant Res*. 24: 174-180 (2011)
- Song HS, Kim DP, Jung YH, Lee MK. Antioxidant activities of red Hamcho (*Salicornia herbacea* L.) against lipid peroxidation and the formation of radicals. *Korean J. Food & Nutr*. 20: 150-157 (2007)
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 39: 44-84 (2007)
- Yoshida Y, Kiso M, Goto T. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chem*. 67: 429-433 (1999)