



Changes in chemical composition and physiological activity of Jeju-Tatary buckwheat tea according to leaching temperature

Hyun-A Ko¹ · Hyun Ju Park¹ · Inhae Kang^{1,2}

제주 타타리메밀의 침출 조건에 따른 제주 타타리메밀침출차의 이화학적 특성 및 생리활성

고현아¹ · 박현주¹ · 강인혜^{1,2}

Received: 11 November 2022 / Accepted: 5 December 2022 / Published Online: 31 December 2022
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

Abstract In this study, Jeju Tatary buckwheat tea's chemical composition and physiological activities were compared according to the leaching temperature (60, 80, 100 °C). As the leaching temperature is increased, the degree of browning is induced. However, there was no significant change in pH. The total polyphenol content was higher at 80 °C than at 60 °C leaching temperature, but significantly decreased at 100 °C leaching temperature (60 °C: 17.06 mg GA/g, 80 °C: 20.09 mg GA/g, 100 °C: 18.45 mg GA/g). There were high content of flavonoid and rutin as the leaching temperature increased. Consistently, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity were significantly higher with increasing temperature (DPPH % inhibition: 60 °C: 41.88%, 80 °C: 46.01%, 100 °C: 46.80%/tyrosinase inhibitory activity: 60 °C: 9.38%, 80 °C: 22.94%, 100 °C: 28.17%). However, there was no significant difference in DPPH radical scavenging activity between 80 and 100 °C. A cytotoxicity test was performed by

treating with Jeju Tatary buckwheat extract into mouse macrophage cells (Raw264.7). 100 and 200 µg/mL treatment (100 °C extract) were significantly upregulated the survival rate, but there was no significant difference in other concentrations. Collectively, most of the bioactive components, antioxidant activity, and tyrosinase inhibitory activity were induced as the leaching temperature increased. However, the content of polyphenols which are known to have antioxidant activity, was significantly reduced at 100 °C leaching temperature. Several reports have demonstrated that leaching at too high temperature lowered the overall acceptability, so the optimal leaching condition of Tatary Buckwheat is 80 °C, 5 min in this study.

Keywords Antioxidant · Brewing · Jeju-tatary buckwheat · Tea · Tyrosinase inhibition

Inhae Kang (✉)
E-mail: inhaek@jejunu.ac.kr

¹Department of Food Science and Nutrition, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Interdisciplinary Graduate Program in Advanced Convergence Technology and Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

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.

서론

만성질환이란 원인이 불명확하고 복합적으로 작용하며, 장기간 앓고 서서히 진행되는 비감염성 질환을 말하며, 주로 당뇨, 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증이 이에 해당한다[1]. 한국인의 사망 원인으로 과거에는 감염성질환이 그 빈도수가 가장 높았으나 근래에는 만성질환으로 인한 사망이 전체 사망의 81%를 차지하며, 사망원인 상위 10위 중 7개가 만성질환에 해당된다[2]. Phytochemicals이란 미량영양소이며 채소 및 과일 등 식물에 존재하는 천연화합물로 박테리아, 곰팡이 등 외부 위험성 물질에 대한 식물의 자체 방어기능뿐만 아니라 인체의 대사조절기능을

하는 물질을 통틀어 일컫는다[3]. 식물의 색을 나타내는 청색, 황색, 백색, 적색, 흑색 등에 많이 포함되어있으며, 식물의 씨, 꽃, 열매, 잎, 뿌리 등 각 기관에 고루 분포되어 있다. 이러한 phytochemicals은 항산화작용, 항암작용, 독성제거, 세포성장조절, 면역 반응 조절, 항염증 작용등의 건강에 유익한 영향이 있다고 다양한 연구를 통해 입증되어 왔다[4,5]. 그 중에서도 만성 질환 개선 효능이 뛰어나며, 안전하면서도 부작용이 적은 약물에 대한 연구의 필요성이 꾸준히 제기되고 있으며, 천연물로부터의 생리활성물질을 찾는 연구 또한 활발히 진행 중이다.

메밀(*Fagopyrum spp.*)은 마디풀과(*Polygonaceae*)의 메밀속(*Fagopyrum*)에 속하는 일년생 초본으로 재배종과 야생종을 포함하여 20여종이 분포되어 있다. 우리나라에서는 주로 일반메밀(*Fagopyrum esculentum* Moench)과 쓴메밀(*Fagopyrum tataricum* L. Gaertn.)이 재배되고 있다. 일반메밀은 단메밀(Common buckwheat)라 부르기도 하며 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등의 아시아지역과 유럽, 캐나다, 미국 등지에서 재배된다[6]. 쓴메밀은 타타리메밀(Tatary buckwheat)이라 부르며 히말라야의 에베레스트 주변의 고산지대 등에 주로 자식하는데, 우리나라에서는 제주도가 전국 생산량의 40% 가까이에 해당하는 국내 최대 재배지로 알려져 있다[7,8]. 타타리메밀은 삼각뿔 모양의 검은 갈색 혹은 회색을 띠고 있고, 탄수화물이 65-70%로 주성분을 구성하고 있으며, 단백질 10-15%, 지방 2-3% (대부분 불포화 지방산), 회분 2-4%를 함유하고 있어 영양학적 가치가 높은 식물로 여겨진다[9-11]. 특히 메밀 내에는 다양한 기능성 페놀화합물들이 있다고 알려져 있는데, quercetin 등의 flavonol과 vitexin, isovitexin 등의 flavones 그리고 caffeic acid 유도체 등이 있다고 알려져 있다[12,13]. 특히 메밀에서 최초 분리되어 메밀의 기원식물성분이라 불리기도 하는 rutin이 다량 함유되어 있는데, quercetin에 rutinose가 결합된 것으로 황색에서 담황색을 띠며 동맥경화 및 뇌졸중의 예방, 관절염 예방, 항당뇨 및 항암 등의 기능을 가진 것으로 알려져 있다[14-16]. 타타리메밀은 총 페놀함량, flavonol 함량이 일반메밀에 비해 높은 것으로 알려져 있다[17]. 또한 메밀을 주요 생리활성물질로 알려진 rutin은 타타리메밀에서 1,712-1,783 mg/100 g으로 [18] 일반메밀의 13-15 mg/100 g보다 300-100배 이상 많다고 보고되었다[18-20]. 이렇게 다양한 phytochemicals을 함유하고 있는 메밀을 용이하게 이용하는 방법 중 하나로 침출에 의한 차의 형태로 용출시켜 응용하는 방법이 있다. 메밀의 껍질을 제거하고 찌서 볶은 다음 볶은 알곡에 뜨거운 물을 부어 우려는 방식으로 주로 가공되는 메밀차는 rutin을 함유할 뿐만 아니라 구수한 향기와 맛 때문에 널리 응용되고 있다.

현재까지 연구를 통해 메밀의 항산화작용, DNA 손상 보호 효과, 세포 독성 억제효과, 돌연변이 억제효과, 항알러지 효과, 혈압 강하작용이 보고된 바가 있으며[12,21], 이러한 생리적효과는 메밀의 rutin 함량과 밀접한 관련이 있다는 잠재성을 시사하지만 소비자가 가장 쉽게 응용할 수 있는 방법인 침출 차에서의 어떠한 조건에서 침출 시 가장 높은 생리활성을 지닌 타타리메밀을 얻을 수 있는지에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 제주 타타리메밀 침출 온도(60, 80, 100 °C)에 따라 pH, 갈변도, 총폴리페놀 및 플라보노이드, rutin 함량을 비교하였고, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성 및 tyrosinase 저해 활성을 측정하여 타타리메밀 침

출조건에 따른 생리활성을 비교하였다. 또한 제주타타리메밀 침출액을 마우스 대식세포(Raw264.7)에 처리하여 세포 독성 실험을 수행 하여 추후 항염증 효과를 측정하기 위한 기초데이터를 축적하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

국내산 타타리 메밀을 제주메밀영농조합법인에서 생산된 타타리메밀 알곡차를 이용하여 실험을 진행하였다. 본 실험에서 사용한 대부분의 시약은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 세포 실험을 위한 세포 배양 재료는 SPL (Seoul, Korea)에서 구입하였다.

타타리메밀 침출물 제조

5분간 끓인 증류수 100 mL를 항온조에서 60, 80, 100 °C로 유지하면서 제주메밀영농조합법인에서 제공한 볶은 타타리 메밀 알곡 3 g을 넣어 5분간 침출시킨 다음 와트만여과지(No. 3)로 흡인 여과한 후 cap tube에 넣고 밀봉, 냉동하여 분석용 시료로 사용하였다.

이화학적 특성

pH측정은 pH meter (Thermo Orion, Beverly, MA, USA)로 실온에서 측정하였다. 갈변도는 시료 원액을 Synergy H1 hybrid microplate reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT)로 420 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 값을 나타내었다.

총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법[22]을 96-well plate에 맞게 변형하여 비색 정량하였다. 각 추출물 50 µL에 2 N Folin-Ciocalteu 용액 50 µL를 첨가하여 5분간 반응시킨 후 4% Na₂CO₃ 100 µL를 첨가하여 1시간 방치하였다. Synergy H1 hybrid microplate reader (BioTek Instruments, Inc.)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하여 총 페놀 함량으로 환산하였으며, gallic acid (Sigma)를 이용한 검량선과 비교하여 mg GAE (Gallic Acid Equivalent)/g을 사용하였다.

총 플라보노이드 함량은 질산알루미늄법[22]을 96-well plate에 맞게 변형하여 비색 정량하였다. 각 추출물 25 µL에 증류수 125 µL를 넣고 5% NaNO₂ 7.5 µL를 넣고 섞은 후 6분간 방치하였다. 10% aluminium chloride hexahydrate 100 µL를 첨가하여 실온에서 5분 동안 반응시킨 후, 1 M NaOH 50 µL를 넣은 다음 Synergy H1 hybrid microplate reader (BioTek Instruments, Inc.)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하여 총 플라보노이드 함량으로 환산하였다. 이 때 추출물에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Catechin (Sigma)을 이용한 검량선과 비교하여 측정단위로는 mg catechin/g을 사용하였다.

Rutin 함량 측정

Rutin 분석은 수원여자대학교 식품분석연구센터에 분석 의뢰하여 Cho 등[23]의 방법을 약간 변형하여 HPLC로 분석하였다. 시료 5-10 g에 메탄올 80 mL를 가하여 80 °C 항온수조에서 2시

간 추출 후 원심분리하여 상등액을 0.45 µm membrane filter로 여과하였다. 이 과정을 1회 더 반복하여 얻은 추출물을 60 °C에서 감압 농축한 후 HPLC water 2 mL로 용해하여 0.45 µm membrane filter로 여과해 분석하였다. UV 검출기(diode array detector (DAD, HPLC 1200 series, Agilent Co., Santa Clara, CA, USA) 359nm)를 장착한 HPLC (Agilent 1200) 기기와 분석 칼럼(CAPCELL PAK UG120 역상계 C18 (4.6×250 mm, 5 µm) column)을 사용하였다. 이동상 용매는 용매 A (2% Acetic acid)와 용매 B (2%Acetic acid 50%ACN (6:4))를 사용하여 유속은 1 mL/min으로 일정하게 흘려주었다. 용매 이송은 기울기(gradient) 방식이며 기기내 칼럼 온도를 30 °C로 설정하였고 본 분석에 사용된 표준물질과 샘플의 각 피크는 표준물질의 머무름 시간(retention time, RT) 와 비교하였고, 루틴의 RT는 20분이었다. 관측에 사용된 검출파장은 359 nm이고, 시료 주입량은 20 µL로 하였다.

일반성분 분석

일반성분 분석은 수원여자대학교 식품분석연구센터에 분석 의뢰하여 식품공전(Ministry of Food and Drug Safety 2012a)에 따라 측정하였다. 조지방은 Soxhlet 추출법(Soxtec 1043, Foss Tecator AB)을 사용하였고, 조단백질은 킨달(Kjeldahl)분해 법를 이용하여 질소계수 6.25를 곱하여 g/100 g 함량으로 표시하였다. 탄수화물은 다음 공식에 의하여 계산하였다[24]. 무기질은 AOAC법(2005)에 준하여 습식분해법으로 측정 하였다. 시료 0.5 g에 산 함액(HNO₃/H₂O₂=9:1) 10 mL를 teflon bottle에 담아 전처리를 시행하였으며, microwave digestion system (Ethos TC Digestion Labstation 5000, Milestone Inc., Monroe, CT, USA)으로 총 30분 동안 산분해를 실시하였다. 산분해가 끝난 시료용액은 여과지(Whatman No. 5A, Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과하여 Na은 Inductively coupled plasma spectrometer (ICPOES, PerkinElmer Co., Shelton, CT, USA)로 분석하였다. ICP-OES를 사용하여 분석한 흡수 파장은 Na (589.592 nm)이었다. 기기분석 중 refected power는 1.4 kW, plasma flow는 10 L/min, auxiliary gas flow는 0.2 L/min, nebulizer gas flow는 0.92 L/min이었으며, ICP-Mass를 사용하여 분석한 Se의 refected power는 1.4 kW, plasma flow는 18 L/min, auxiliary gas flow는 1.5 L/min, lens voltage는 9.6 V, nebulizer flow는 0.92 L/min, dwelling time은 100 m/s이었다.

DPPH 라디칼 소거 활성

시료의 DPPH radical 소거능은 Seo의 방법[25]을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 시료 추출액 10 µL과 0.12 mM DPPH 190 µL 첨가 한 후 혼합한 후 37 °C에 30분간 반응시켰다. 그 후 UV-spectrophotometer를 이용하여 흡광도(517 nm)를 분석하였고 표준물질로서 L-ascorbic acid (Sigma Chemical Co.)를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 DPPH % inhibition 로 표현하였다.

Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Kim등의 방법에 따라 측정하였다[26]. 반응구는 0.175 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA 0.2 mL 및 시료용액 0.1 mL의 혼

합액에 mushroom tyrosinase (110 U/mL) 0.2 mL을 첨가하여 37 °C에서 2분간 반응시켜서 반응액 중에 생성된 DOPAchrome 475 nm 파장에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

세포주 및 세포배양

쥐의 대식세포주인 RAW264.7 세포는 ATCC로부터 구입하였으며, 각각 10% Fetal Bovine Serum와 항생제(Antibiotic antimycotic)를 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium을 배양액으로 37 °C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다[27]. 세포는 2-3일마다 culture dish의 80-90% 정도 자랐을 때 PBS로 세척하여 Trypsin-EDTA (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)을 처리하여 계대 배양하였다.

세포 독성 확인

타타리메밀침출추출액이 Raw264.7 세포 생존율에 미치는 영향을 XTT cell viability test kit (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA)를 사용하여 프로토콜에 따라 확인하였다[27]. 온도에 따라 침출한 침출액을 동결건조하여 Powder type을 얻고, 동량의 100 mg/mL 농도로 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다. Raw264.7 쥐 대식세포를 ~20,000 cells/well의 밀도로 96-well plate 에서 배양 하였다. 세포를 DMSO 또는 증가하는 농도의 타타리메밀침출추출액과 함께 24시간 동안 항온 배양 하였다. 배지를 37 °C에서 3 시간 동안 XTT 용액이 담긴 새로운 배지로 교체 한 후, Multi-mode Microplate Reader (SpectraMaxi3X, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA, in Bio-Health Materials Core-Facility, Jeju National University, Jeju)를 이용하여 OD 450 nm를 측정 하였다.

통계처리

본 실험의 결과는 평균(mean)± 표준오차(SEM)로 표현하였으며, 유의적 차이에 대한 해석은 ANOVA (GraphPad Prism 7.0, La Jolla, CA, USA)를 사용하였다. 유의성 차이 검증은 *p*-value <0.05 수준에서 실시하였고, 사후검증은 Bonferroni test를 사용하였다.

결과 및 고찰

침출조건에 따른 침출액의 이화학적 특성

60, 80, 100 °C에서 5분간 침출시킨 침출 용액의 pH와 갈변도는 Table 1과 같다. pH에는 제주타타리메밀 침출온도에 따른 유의적인 변화가 없었다. 갈변도는 100 °C > 80 °C > 60 °C의 순으로 온도가 높을수록 갈색도가 증가하는 경향을 보였으며 유의적인 차이가 있었다(*p* <0.0001). Jang 등의 연구에 따르면 침출 조건에 따른 보리잎차 및 녹차의 갈색도가 침출 온도가 높을수록 갈색도가 증가하는 경향을 보였는데[28] 이는 본 연구의 결과와 일치한다. 식품의 갈변은 가열처리 및 식품의 가공 공정 중에서 생성되고, 이러한 갈변물질의 경우 주로 당과 아미노산의 중합반응으로 생성되는 것으로 주로 가열처리 온도 및 시간이 길어질수록 갈변에 관련된 가용성 성분은 감소하고 갈변물질의 생성은 증가하는 것으로 알려져 있다. 따라서 온도가

Table 1 pH and browning index of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching condition¹⁾

Samples	pH	Browning index
60 °C	7.85±0.01	0.05±0.00 ^a
80 °C	7.89±0.02	0.09±0.00 ^b
100 °C	7.91±0.01	0.10±0.00 ^a

Values are mean ± SEM. Means in row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ levels by Bonferroni multiple range test (n = 3–4 times/ group)

높을수록 갈색도가 증가하는 것은 갈변물질의 생성 증가와 관련이 있을 것으로 추측한다[29]. 이 등의 연구에 따르면 타타리 메밀의 볶음 온도 및 시간에 따른 이화학적 반응, 항산화 활성 등을 연구하였다. 측정 연구에 따르면 볶음 처리의 온도가 증가할수록 갈변도가 증가하였고, 항산화 물질은 과도한 볶음 시간에 따라 감소하였지만, 크게 감소하지 않는 이유를 캐러멜화 반응과 마이야르 반응에 의한 갈변 화합물의 복합적인 영향으로 추측한다고 밝혔다[11]. 하지만 본 연구는 타타리 메밀의 볶음 온도는 일정하며, 침출 온도 변화에 따른 이화학적, 생리학적 특성이므로 볶음에 따른 갈변과는 상이 할 것이라 판단된다. 하지만 추후 볶음 온도 및 침출 온도 두 독립변수의 변화를 통한 연구 필요하다고 판단된다. 갈변물질로 알려져 있는 catechol, hydroquinone 등과 같은 aromatic acid-reductone의 추가적 분석을 시행하여 갈변물질의 생성과 갈변도의 상관성을 확인할 필요가 있다고 판단된다.

침출조건에 따른 침출액의 total polyphenol, total flavonoid, rutin 농도

식물성 식품에는 다양하고 많은 페놀성 분자들이 함유되어 있는데, 이러한 페놀성 분자들은 체내에서 항산화, 항비만 및 항염증 등과 같은 생리활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다 [12,30]. 60, 80, 100 °C에서 5분간 침출시킨 침출 용액의 총 페놀 및 플라보노이드 분석은 Folin-Ciocalteu법과 질산알루미늄법을 통해 측정하였고, 이를 Table 2에 나타내었다. 제주타타리메밀 침출액의 침출온도에 따른 총 폴리페놀 함량은 60 °C는 17.06 mg Gallic acid/g, 80 °C는 20.09 mg Gallic acid/g, 100 °C는 18.45 mg Gallic acid/g으로 80 °C에서 가장 높은 폴리페놀의 함량을 가짐을 확인하였다. 제주타타리메밀 침출액의 침출 온도에 따른 총 플라보노이드 함량은 60 °C는 18.95 mg Catechin/g, 80 °C는 20.80 mg Catechin/g, 100 °C는 25.07 mg Catechin/g으로 나타났다. 제주타타리메밀 침출액의 침출온도에 따른 Rutin 함량은 60 °C는 0.08, 80 °C는 0.08, 100 °C는 0.09 mg/g으로 100 °C에서 가장 높은 Rutin 함량을 가진 것을 확인할 수 있었

다. Lee 등의 연구에 따르면 메밀의 외피층보다는 알곡에 Rutin 함량이 많다(16.41 또는 14.24 mg/100 g 알곡)고 보고하였고[31], 본 연구의 침출 차에서는 약 9 mg/100 g으로 나온것으로 보아 적절한 수치라고 판단된다. Lee 등의 연구에 따르면 차(녹차, 백차, 황차, 우롱차, 홍차)의 침출 온도가 증가할수록 페놀성 화합물의 양이 늘어났다고 보고 했고[32], Jang 등의 연구에서도 녹차 및 보리잎차의 침출온도가 높을수록 플라보노이드 함량이 유의적으로 증가하는 경향을 보였다[28]. 본 연구에서도 동일하게 100 °C 온도의 침출은 80 °C 침출에 비해 플라보노이드 및 Rutin의 함량은 증가함을 확인하였다. 하지만 페놀의 함량은 100 °C 온도의 침출에서 감소되었지만, Jang 등의 연구에 따르면 침출온도가 90 °C로 사용하였고, 100 °C로 사용한 본 연구에서는 물의 끓는 점이 100 °C인 것을 감안할 때 페놀류의 성분이 높은 온도에 의해 오히려 감소되는 것이라 사료된다. 추후 다양한 온도 구간에서의 침출과 페놀함량을 추가 분석할 필요가 있을 것으로 판단된다. Lee 등의 연구에 따르면 침출시간이 5분보다 길수록 그 함량이 감소하였고, 5-10분 사이는 그 함량이 5분과 유의적 차이가 없다고 보고하여[32], 본 연구에서의 5분 침출은 적절하였다고 사료된다. Lee 등의 연구에 따르면 침출 저장기간 또는 온도에 따라 Rutin이 quercetin으로 분해된다는 보고가 있어[31], 추후 quercetin의 함량도 비교 분석할 필요가 있다고 판단된다.

DPPH radical 소거 활성 및 tyrosinase 저해 효과

DPPH assay는 페놀성 화합물, 방향족 아민류 및 아스코르빈산 등과 같은 항산화 물질에 의해 수소나 전자를 받아 환원되어 활성산소가 제거되면 보라색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는 방법으로 비교적 간단하게 항산화 활성을 측정할 수 있는 방법으로 알려져 있다. 제주타타리메밀 침출액의 침출온도에 따른 유리라디칼 소거능(DPPH inhibition)은 60 °C에서는 41.88%, 80 °C는 46.01%, 100 °C는 46.80%로 나타났고, 80 및 100 °C에서의 항산화능이 60 °C 침출액 보다 더 높음을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이는 발아 벼차의 갈변도는 침출 시간이 길수록 갈변도는 증가하는 경향을 나타낸 결과와 일치하였다[33]. 또한 Ko 등의 연구에 따르면 갈변 물질로 알려져 있는 catechol, hydroquinone 등과 같은 aromatic acid-reductone의 경우 항산화 활성을 증가시킨다고도 알려져 있어[29], 온도가 높을수록 갈변도가 증가함에 따라 항산화능이 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 이 등의 연구에서는 새싹 울무의 DPPH 및 ABTS 항산화 활성과 페놀성 물질의 상관관계를 비교한 결과 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량은 항산화 활성과 밀접하게 연관되어 있음을 보고하였다[34]. 본 연구에서도 또한 플라보노이드 및 Rutin의 함량과 항산화력이 상관성이 있는 것으

Table 2 Total polyphenols, flavonoid and rutin contents of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching condition

Samples	Total polyphenols (mg GA/ g) ¹⁾	Total flavonoid (mg catechin/ g) ¹⁾	Rutin (mg/g)
60 °C	17.06±0.48 ^b	18.95±0.86 ^{bc}	0.08
80 °C	20.09±0.06 ^a	20.80±0.31 ^b	0.08
100 °C	18.45±0.08 ^b	25.07±0.20 ^a	0.09

Values are mean ± SEM. Means in row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ levels by Bonferroni multiple range test (n = 3–4 times/group)

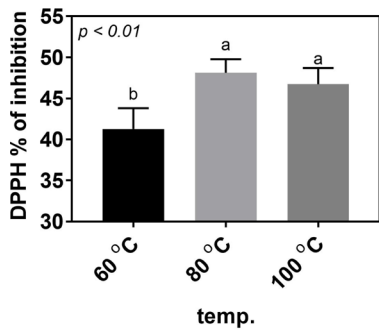


Fig. 1 DPPH radical scavenging activities of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching condition. The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity were determined by Multi Plate Reader. All values are presented as the mean ± SEM. Means in row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ levels by Bonferroni multiple range test (n = 3-4 times/group). temp.: temperature

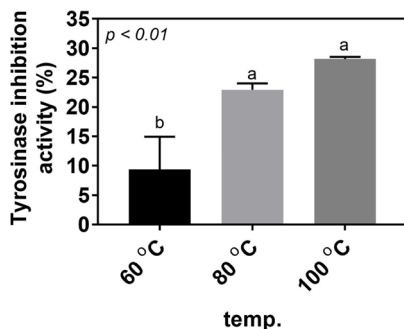


Fig. 2 Tyrosinase inhibition activities of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching condition. Tyrosinase inhibition activity (%) were determined by Multi Plate Reader. All values are presented as the mean ± SEM. Means in row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ levels by Bonferroni multiple range test (n = 3-4 times/group). temp.: temperature

로 사료된다.

기미, 노인성 홍반등을 자외선 노출에 의한 피부노화과정중 생기는 것으로 이 과정 중 중요하게 작용하는 tyrosinase 효소의 억제제는 melanin 합성을 억제하는 것으로 알려져 있다[35]. 제주타타리메밀 침출액의 침출온도에 따른 tyrosinase 저해 효과는 60°C에서는 9.38%, 80°C는 22.94%, 100°C는 28.17%로 나타났고, 80 및 100°C에서의 tyrosinase 억제 효과가 60°C 침출액 보다 더 높음을 확인할 수 있었다(Fig. 2). Tyrosinase 억제 효과는 제주 타타리메밀 침출액의 항산화능 결과와 비슷하게 온도가 높을수록 미백효과가 나타남을 확인할 수 있었다. 본 연구결과에서는 온도가 높아질수록(특히 100°C) 갈변도, 플라보노이드·Rutin 함량의 증가, 항산화능 및 tyrosinase 억제효과가 증가함을 확인하였다. Jang 등의 연구에 따르면 온도가 높을수록 다양한 생리활성물질이 증가하나 침출시간이 길고 온도가 높을수록 색상에 대한 기호도가 높아졌다가 지나치게 높은 온도에서는 기호도가 낮아졌고, 높은온도에서의 침출은 떫은맛에 대한 기호도가 감소하는 것으로 나타났다[36], 따라서 지나치게 높은 온도에서의 추출(예: 100°C)는 쓴맛, 떫은맛을 증가시키고, 색상에 대한 기호도를 낮추어 관능적 품질을 떨어뜨리

Table 3 Nutrient contents of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching condition

Samples	Results	% Daily Value
Calories (kcal/100 mL)	0.67	-
Total fat (g/100 mL)	0.03	0%
Saturated fat (g/100 mL)	0.00	-
Trans fat (g/100 mL)	0.00	-
Cholesterol (mg/100 mL)	0.00	0%
Sodium (mg/100 mL)	0.06	0%
Total carbohydrate (g/100 mL)	0.03	0%
Total sugar (g/100 mL)	0.01	-
Protein (g/100 mL) ¹⁾	0.07	0%

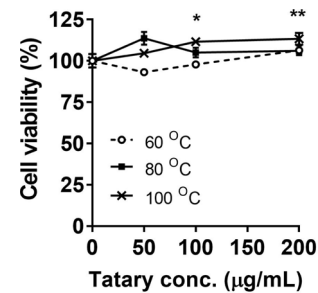


Fig. 3 Cell viability of Jeju-tatary buckwheat tea by leaching temperature and different concentration. RAW264.7 cells were treated with 0-200 µg/mL of Jeju-tatary buckwheat tea extract (leaching temperature: 60, 80, and 100°C) for 24 h. 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulphophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide (XTT) reagent was added 3 h before measurement of OD 450nm. Cell viability assay in RAW264.7 cells. All values are presented as the mean ± SEM. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; compared with vehicle control vs. 100°C extract by one-way ANOVA with Bonferroni's comparison test. conc.: concentration

는 것으로 보고되었고, 종합적 기호도 또한 낮아지는 결과를 보여, 특히 녹차의 경우 침출온도 80°C, 5분 이내의 침출을 관능적으로 우수하다고 나타내었다. 본 연구에서는 항산화력과 tyrosinase 억제효과는 80°C와 100°C의 유의적 차이는 없으나, 80°C에서 총 페놀함량이 가장 높은 결과를 얻었고, 관능적 품질비교 연구를 수행하지는 않아 확인할 수는 없으나 타 연구들과 비교 시 100°C의 침출은 기호를 떨어뜨리므로 80°C가 가장 좋은 침출조건으로 판단된다. 이는 페놀 성분들이 100°C에서 감소한 것과 연관이 있는 것으로 사료되며, Rutin의 양 또한 60°C에서 80°C로의 온도 증가에 따른 증가량이 100°C에는 보이지 않는 것과 그 양상이 일치하는 것으로 보아 이 결과가 항산화력과 tyrosinase 억제효과와 관련이 있음을 추측할 수 있다. 따라서 80°C에서의 음용이 적절하다 판단되어 해당 침출액을 여과 및 동결건조한 메밀 침출액 성분의 일반성분을 분석한 것은 Table 3과 같다.

RAW 264.7 대식세포에서의 세포독성 효과

세포에 독성이 없는 제주타타리메밀 침출액의 최적 용량을 설정하기 위하여 마우스 유래 대식세포인 RAW264.7에 제주타타리메밀 침출액의 온도별, 농도별 추출물을 처리하여 세포 생

존율을 측정하였다. 온도별 침출액을 여과 및 동결건조한 추출물을 DMSO에 녹인 후 마우스 유래 대식세포에 농도별(0, 50, 100, 200 µg/mL)로 처리한 다음 24시간 배양한 후 생존율을 XTT cell viability test kit (Cell Signaling Technology)를 사용하여 프로토콜에 따라 확인 하였다(Fig. 3). 대부분의 농도의 침출 조건별 처리는 세포에 생존률에 영향을 미치지 않았으나 100 °C 추출물 100, 200 µg/mL 처리는 생존율을 유의적으로 증가시켰다(100 µg/mL: $p < 0.05$, 200 µg/mL: $p < 0.01$)(Fig. 3). 이 결과를 토대로 온도별(60, 80, 100 °C) 및 농도별(0, 50, 100, 200 µg/mL)제주 타타리메밀 침출액의 추출액이 독성이 없음을 확인하였고, 이 결과는 추후 제주 타타리메밀 침출액의 항염증 *in vitro* 실험을 수행하기 이전 독성이 없는 최적 용량을 설정하기 위한 기초 데이터베이스로 사용되어질 것이다.

초 록

본 연구에서는 제주 타타리메밀을 이용하여 침출 온도(60, 80, 100 °C)에 따라 이화학적 특성 및 생리활성도를 비교하여 제주 타타리메밀의 최적의 침출조건을 설정하고자 하였다. 제주 타타리메밀의 침출 온도가 높을수록 갈변도가 증가함(60 °C: 0.05, 80 °C: 0.09, 100 °C: 0.10)을 확인하였으나 pH에는 유의적 변화가 없었다. 총폴리페놀 함량은 60 °C 침출보다 80 °C에서 그 함량이 높았으나, 오히려 100 °C 침출 온도에서는 유의적으로 감소하였다(60 °C: 17.06 mg GA/g, 80 °C: 20.09 mg GA/g, 100 °C: 18.45 mg GA/g). 플라보노이드(60 °C: 18.95 mg catechin/g, 80 °C: 20.80 mg catechin/g, 100 °C: 25.07 mg catechin/g) 및 Rutin (60 °C: 0.08 mg/g, 80 °C: 0.08 mg/g, 100 °C: 0.09 mg/g)은 온도가 증가할수록 그 함량이 증가하였다. DPPH 라디칼 소거 활성(60 °C: 41.88%, 80 °C: 46.01%, 100 °C: 46.80%) 및 tyrosinase 저해 활성(60 °C: 9.38%, 80 °C: 22.94%, 100 °C: 28.17%) 또한 온도가 증가함에 따라 유의적으로 높게 나타났으나 DPPH 라디칼 소거활성의 경우 80와 100 °C의 유의적인 차이는 없었다. 마우스 대식세포(Raw264.7)에 제주 타타리메밀 침출액을 처리하여 세포 독성 실험을 수행한 결과 100 °C 추출물의 100, 200 µg/mL 처리는 생존율을 유의적으로 증가시켰고 그 외 조건에서는 유의적 차이가 없어 추후 항염증 효과를 측정하기 위한 기초데이터로 사용되어 질 것이다. 본 연구에서는 대부분의 생리활성물질과 항산화능, tyrosinase 저해정도가 온도가 높을수록 증가하는 것으로 나타났으나, 항산화능을 가진 것으로 알려진 폴리페놀의 함량이 100 °C 침출 온도 에서는 유의적으로 감소하였던 점, 그리고 타 연구들에서 지나치게 높은 농도에서의 침출은 종합적 기호도가 낮아졌다는 점을 감안할 때 최적의 침출 조건은 80 °C인 것으로 예측되었다.

Keywords 제주타타리메밀 · 차 · 침출 · 타이로시나제 · 항산화 · 활성 저해

감사의 글 이 논문은 2019년도 및 2020년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2019R1A6A1A10072987, 2020R1C1C1012547)

Conflict of interest The authors declare no conflict of interest.

References

- Despres JP, Lemieux I (2006) Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 444: 881–887. doi:10.1038/nature05488
- Lee SE, Han K, Kang YM, Kim S-O, Cho YK, Ko KS, Park J-Y, Lee K-U, Koh EH, Association TToDFsotKD (2018) Trends in the prevalence of metabolic syndrome and its components in South Korea: Findings from the Korean National Health Insurance Service Database (2009–2013). *PLoS one* 13: e0194490. doi: 10.1371/journal.pone.0194490
- Holst B, Williamson G (2008) Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Curr Opin Biotechnol* 19: 73–82. doi: 10.1016/j.copbio.2008.03.003
- Leitzmann C (2016) Characteristics and health benefits of phytochemicals. *Complement Med Res* 23: 69–74. doi: 10.1159/000444063
- Okarter N, Liu RH (2010) Health benefits of whole grain phytochemicals. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50: 193–208. doi: 10.1080/10408390802248734
- Kim S, NICS R, Sohn H, NICS R, Suh J, NICS R, Kim G, NICS R, Hong S, NICS R (2017) Domestic and overseas status of buckwheat production and future trends. *J Korean Soc Int Agric* 29: 226–233
- Oh D-J, Hyun H-B, Lim T-J, Yoon S-A, Ham Y-M, Yoon W-J, Yang W-S, Jung Y-H (2018) Discriminability of Molecular Markers Based on Nuclear Ribosomal ITS Sequences of *Fagopyrum esculentum* and *F. tataricum*. *Korean J Org Agric* 26: 745–757. doi: 10.11625/KJOA.2018.26.4.745
- Ryu J-y, Choi Y, Hong K-H, Chung YS, Cho SK (2020) Effect of roasting and brewing on the antioxidant and antiproliferative activities of tartary buckwheat. *Foods* 9: 1331. doi: 10.3390/foods9091331
- Choi B-H, Kim S-L, Kim S-K (1996) Rutin and functional ingredients of buckwheat and their variations. *Korean J Crop Sci* 41: 69–93
- Choi H-S, Lee S-Y, Baek S-Y, Koo B-S, Yoon H-S, Park H-Y, Yeo S-H (2011) Quality characteristics of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) Soksungjang. *Korean J Food Sci Technol* 43: 77–82. doi: 10.9721/KJFST.2011.43.1.077
- Lee M-H, Cho J-H, Kim B-K (2013) Effect of roasting conditions on the antioxidant activities of *Cassia tora* L. *Korean J Food Sci Technol* 45: 657–660. doi: 10.9721/KJFST.2013.45.5.657
- Ahmed A, Khalid N, Ahmad A, Abbasi N, Latif M, Randhawa M (2014) Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review. *Journal Agric Sci* 152: 349–369
- Raguindin PF, Itodo OA, Stoyanov J, Dejanovic GM, Gamba M, Asllanaj E, Minder B, Bussler W, Metzger B, Muka T (2021) A systematic review of phytochemicals in oat and buckwheat. *Food Chem* 338: 127982. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127982
- Ghorbani A (2017) Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomed Pharmacother* 96: 305–312. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.001
- Imani A, Maleki N, Bohlouli S, Kouhsoltani M, Sharifi S, Maleki Dizaj S (2021) Molecular mechanisms of anticancer effect of rutin. *Phytother Res* 35: 2500–2513. doi: 10.1002/ptr.6977
- Ganeshpurkar A, Saluja AK (2017) The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharm J* 25: 149–164. doi: 10.1016/j.jsps.2016.04.025
- Park B-J, Kwon SM, Park JI, Chang KJ, Park CH (2005) Phenolic compounds in common and tartary buckwheat. *Korean J Crop Sci* 50: 175–180
- Yoon S-J, Cho N-J, Na S-H, Kim Y-H, Kim Y-M (2006) Development of optimum rutin extraction process from *Fagopyrum tataricum*. *Journal of the East Asian Society of Dietary Life* 16: 573–577
- Kim SJ, Sohn HB, Hong SY, Lee JN, Kim KD, Suh JT, Nam JH, Chang DC, Park MW, Kim YH (2020) Construction of data system on seed morphological traits and functional component in tartary buckwheat germplasms. *Korean J Plant Res* 33: 446–459
- Kim SJ, Sohn HB, Nam JH, Lee JN, Chang DC, Kim YH (2022) Comparison of rutin content and quality characteristics of tea products from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and tartary

- buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) by different processing and brewing methods. *Korean J Food Sci Technol* 54: 185–195. doi: doi.org/10.9721/KJFST.2022.54.2.185
21. Gimenez-Bastida JA, Zielinski H (2015) Buckwheat as a functional food and its effects on health. *J Agric Food Chem* 63: 7896–7913. doi: 10.1021/acs.jafc.5b02498
 22. Seo SH, Jo SM, Kim J, Lee M, Lee Y, Kang I (2019) Peanut Sprout Extracts Attenuate Triglyceride Accumulation by Promoting Mitochondrial Fatty Acid Oxidation in Adipocytes. *Int J Mol Sci* 20: 1216. doi: 10.3390/ijms20051216
 23. Cho M, Choi S-i, Lee J-H, Cho B-J, Lee H-k, Rhee S-K, Lim J-H, Lee O-H (2016) Evaluation of quality characteristics of Korean and Chinese buckwheats. *Korean J Food Preserv* 23: 225–232. doi: 10.11002/kjfp.2016.23.2.225
 24. Mattila P, Salo-Väänänen P, Könkö K, Aro H, Jalava T (2002) Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *J Agric Food Chem* 50: 6419–6422. doi: 10.1021/jf020608m
 25. Seo SH, Jo S-M, Truong TTM, Zhang G, Kim D-S, Lee M, Lee Y, Kang I (2021) Peanut sprout rich in p-coumaric acid ameliorates obesity and lipopolysaccharide-induced inflammation and the inhibition of browning in adipocytes via mitochondrial activation. *Food Funct* 12: 5361–5374. doi: 10.1039/D1FO00342A
 26. Kim H-W, Shin H, Hwang D, Lee J, Jeong H, Kim D (2015) Functional cosmetic characteristics of *Momordica charantia* fruit extract. *Korean Chem Eng Res* 53: 289–294. doi: 10.9713/kcer.2015.53.3.289
 27. Park HJ, Jo SM, Seo SH, Lee M, Lee Y, Kang I (2020) Anti-Inflammatory Potential of Cultured Ginseng Roots Extract in Lipopolysaccharide-Stimulated Mouse Macrophages and Adipocytes. *Int J Environ Res Public Health* 17: 4716. doi: 10.3390/ijerph17134716
 28. Jang J-H, Choi H-S, Cheong H-S, Kang O-J (2007) A comparison of the antioxidant activity of barley leaf tea and green tea according to leaching conditions in distilled water. *Korean J Food Cook Sci* 23: 165–172
 29. Ko W-J, Ko K-S, Kim Y-D, Jeong K-W, Lee S-H, Koh J-S (2006) Changes in functional constituents and stability of green tea beverage during different storing conditions. *Korean J Food Preserv* 13: 421–426
 30. Khang DT, Dung TN, Elzaawely AA, Xuan TD (2016) Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Germinated Legumes. *Foods* 5: 27. doi: 10.3390/foods5020027
 31. Lee M-S, Sohn K-H (1994) Content comparison on dietary fiber and rutin of Korean buckwheat according to growing district and classification. *Korean J Food Cook Sci* 10: 249–253
 32. Lee Y-S, Jung S-A, Kim J-H, Cho K-S, Shin E-K, Lee H-Y, Ryu H-K, Ahn H-J, Jung W-I, Hong S-H (2015) A study on change in chemical composition of green tea, white tea, yellow tea, oolong tea and black tea with different extraction conditions. *Korean J Food & Nutr* 28: 766–773
 33. Lee S-H, Lee Y-R, Hwang I-G, Woo K-S, Kim K-H, Kim K-J, Jeong H-S (2009) Antioxidant activities and quality characteristics of germinated rough rice tea according to roasting temperature, time and leaching condition. *Korean J Food Sci Technol* 41: 386–391
 34. Lee HJ, Lee JH, Jung JT, Lee YJ, Oh MW, Chang JK, Jeong HS, Park CG (2019) Changes in free sugar, coixol contents and antioxidant activities of adlay sprout (*Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* Stapf.) according to different growth stage. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 27: 339–347. doi: 10.7783/KJMCS.2019.27.5.339
 35. Bonesi M, Xiao J, Tundis R, Aiello F, Sicari V, Loizzo MR (2019) Advances in the tyrosinase inhibitors from plant source. *Curr Med Chem* 26: 3279–3299. doi: 10.2174/0929867325666180522091311
 36. Jang M-J, Ha H-J, Yoon S-R, Noh J-E, Kwon J-H (2006) Prediction of optimal leaching conditions for green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 747–753. doi: 10.3746/jkfn.2006.35.6.747