creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

安 明 秀 敎授指導
博士學位 請求論文

보리 도정부산물로부터 분리한 폴리페놀추출물의 이화학적인 특성 및 항산화효과에 관한 연구

2008

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

徐 美 淑

보리 도정부산물로부터 분리한 폴리페놀추출물의 이화학적인 특성 및 항산화효과에 관한 연구

安 明 秀 敎授指導

이 論文을 博士學位論文으로 提出함

2007年 11月

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

徐 美 淑

認 准 書

徐美淑의 博士學位 論文을 認准함

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

審査委員 _____

誠信女子大學校 大學院

논 문 개 요

보리를 식용으로 하기 위해 도정, 할맥 또는 압맥 등으로 가공처리시 도정부산물로 발생하는 맥강, 배아, 파쇄립을 75%에탄올로 추출한 후 Sepabeads SP-850 수지와 Sephadex LH-20 column을 이용하여 유효성분을 분리하고, 분리된 유효성분을 이용하여 총 폴리페놀함량, 전자공여능, 아질산염 소거능, SOD유사활성 등의 이화학적 특성을 조사함과 동시에 모델계를 이용한 식용유지의 항산화능 및 동물실험을 통해 보리 도정부산물로 분리한 폴리페놀추출물의 항산화효과를 확인하였다.
이상의 연구에서 얻은 결과는 다음과 같았다.

1. 이화학적 특성

유리당의 조성 및 함량은 bran 시료의 총당 함량이 2.61~3.43% 범위로 시료간에 큰 차이가 없었으나 배아 획분은 17.1%로 가장 높게 측정되었다. 유리형 당류로서 sucrose, glucose, fructose, maltose, raffinose 및 1-kestose가 검출되었고 특히 배아 획분에 sucrose와 raffinose가 각각 8% 이상 높은 함량을 나타낸 것이 특징적이었다. 토코페롤 및 토코트리에놀의 조성과 함량을 HPLC로 분석한 결과 배아 획분에는 α-토코페롤과 α-토코트리에놀이 90.26 mg/kg 및 16.27 mg/kg으로서 주종을 이루었고 bran 획분 시료에서는 토코페롤 및 토코트리에놀이 bran Ⅱ 획분에서 가장 높은 값을 나타내었으며 특히 γ-토코트리에놀의 경우 10.33 mg/kg으로 획분 중 가장 높은 값을 보였다.

2. Polyphenol성 화합물의 추출, 분리 및 특성규명

n-Hexane으로 탈지시킨 bran 및 배아 시료를 75% 에탄올로 추출·여과 후 Sepabead-SP 850 수지를 사용하여 얻어진 폴리페놀 획분의 총 폴리페놀 함량은 bran Ⅰ이 43.68%로 가장 높게 측정되었다. 획분별 폴리페놀화합물의 유형을 HPLC로 살펴본 결과 항산화 및 항변이원성효과가 매우 높은 것으로 알려진 proanthocyanins와 prodelphinidin 다량체로 추정되었다. 획분별 추출물의 항산화 효과를 DPPH radical 소거활성으로 조사한 결과 bran Ⅰ의 EC_{50}이 1.59 mg/mL로 가장 높았으며 다음은 배아>bran Ⅱ>bran Ⅲ의 순 이었다. 시료농도 0.01% 수준의 농도에서 ACE 저해작용은 배아가 40.04%로 가장 높았고, 아질산염 소거작용은 모든 획분에서 70% 이상의 소거능을 나타내었으며 SOD 유사활성은 bran Ⅰ과 Ⅱ에서 64~78% 내외의 활성을 보여 보리 폴리페놀추출물의 기능성 식품소재로서의 가능성을 확인하였다.

3. 보리 폴리페놀추출물(BPE)의 산화안정성

보리 도정부산물인 맥강과 배아획분으로부터 항산화 효능과 높은 상관관계가 있는 폴리페놀성물질(barley polyphenol extract: BPE)을 분리하고 이들 획분을 linoleic acid를 사용한 모델계와 corn oil을 기질로 한 유지의 자동산화를 통하여 이들의 항산화 효과를 검토하였다. TBA가 측정결과 bran Ⅲ의 BPE는 α-tocopherol과 유사한 값을 나타내었고, 다른 획분 특히 bran I과 배아획분의 경우는 합성 항산화제인 BHT와 유사한 것으로 나타났다. 유지의 자동산화에 대한 BPE의 항산화효과를 과산화물가를 이용하여 측정한 결과 저장 초기 10일에서 15일 까지는 첨가 농도가 높아짐에 따라 α-tocopherol 및 BHT와 유사하거나 다소 높은 항산화력을 나타내었으나 저장 20일 이후부터는 첨가농도에 따른 차이는 보이지 않았다. 또한 100 meq/kg・oil에 도달하는 기간을 유도기간으로 정하고 유도기간에 따른 상대적 항산화효과(RAE)를 측정한 결과 bran Ⅰ과 배아획분의 BPE를 0.02% 첨가 시 RAE값은 각각 128 및 126이었고 0.1% 첨가시에는 135 및 133으로서 첨가량의 변화에 따른 차이는 나타나지 않았으나 BHT의 126보다 높게 측정되어 이들 획분은 천연 항산화제로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

4. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과

맥강과 배아획분으로부터 추출한 BPE를 200 ppm 농도가 되게 조정한 음료수를 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 당뇨쥐에 2주간 제공하면서 식이섭취량, 체중변화, 혈액내의 포도당농도와 간지질에 대한 과산화억제에 미치는 영향을 조사한 결과 이들 폴리페놀추출물에는 혈당강하와 과산화억제 효과가 있음을 확인하였다.

5. 도정부산물의 혈당강하 및 과산화억제 효과

파쇄립 등 도정부산물의 섭취가 혈당강하에 미치는 효과를 살펴보기 위해 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 당뇨쥐를 대상으로 동물실험 한 결과 파쇄립, 배아, 맥강 등의 도정부산물을 급여함에 의해 1주 후부터 혈당강하효과가 나타나기 시작하였고 6주 후에는 당뇨대조군에 비해 42~68% 정도의 유의적인 감소가 확인되어 보리도정부산물이 식품소재로서 활용되어져야 할 필요성을 재확인하였다.

목 차

논문개요
Ⅰ. 서론 ····· 1
Ⅱ. 문헌적 배경 ····· 6
Ⅲ. 실험재료 및 방법 ····· 12
1. 시료 ····· 12
2. 도정부산물로부터 분획한 맥강, 배아 및 파쇄립의 이화학적 특성 ··· 12
1) 일반성분 ····· 12
2) 색도 ····· 13
3) 입도 ····· 13
4) 유리당의 정량 ····· 14
5) Tocols의 정량 ····· 15
6) 지방산의 분석 ····· 16
3. 폴리페놀성 물질의 분리 및 이화학적 특성 ····· 17
1) 폴리페놀추출물(BPE)의 조제 ····· 17
2) HPLC에 의한 BPE의 분리 ····· 19
3) 총 폴리페놀 함량 측정 ····· 19
4) 전자공여능 측정 ····· 20
5) ACE저해작용 측정 ····· 21
6) 아질산염 소거작용 측정 ····· 22
7) Superoxide dismutase(SOD)유사활성 측정 ····· 23

4. 폴리페놀추출물(BPE)로부터 항산화성 물질의 분리 및 저장안정성 검토 …… 24
1) 시약 ……24
2) BPE로부터 프로시아니딘의 분리 ……24
3) BPE로부터 hydroxycinnamic acid의 분리정량 ……25
4) TLC에 의한 플라바놀 획분의 분획 ……26
5) BPE의 저장안정성 측정 ……26
5. BPE의 항산화력 측정 ……27
1) 시료 및 시약 ……27
2) 리놀산에 대한 항산화력 측정 …… 28
3) 자동산화에 대한 항산화 효과 측정 ……29
4) 상대적 항산화 효과 측정 …… 31
6. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과 측정 …… 32
7. 파쇄립, 배아 등 유효획분의 혈당강하 및 과산화억제 효과 ……34
Ⅳ. 결과 및 고찰 ……38
1. 도정부산물로부터 분획한 맥강, 배아 및 파쇄립의 이화학적 특성 … 38
1) 일반성분 ……38
2) 색도 ……40
3) 입도 ……41
4) 유리당의 조성 및 함량 ……42
5) Tocols의 분석 …… 44
2. 보리 도정부산물로부터 분리한 폴리페놀추출물(BPE)의 특성 ……47
1) 총 폴리페놀 함량 ……47

2) BPE의 산화안정성 ····· 49
3) HPLC에 의한 BPE의 분리 ····· 52
4) Sephadex LH 20에 의한 BPE의 분획 및 특성 ····· 56
5) TLC에 의한 플라바놀의 분리 ····· 59
6) HPLC에 의한 hydroxycinnamic acid의 분리 및 정량 ····· 61
7) BPE의 저장안정성 ····· 63
① 총 폴리페놀함량 ····· 63
② 전자공여능 ····· 64
3. 보리 폴리페놀추출물(BPE)의 항산화력 검증 ····· 65
1) 리놀산에 대한 항산화력 검증 ····· 65
2) 유지의 자동산화에 대한 BPE의 항산화 효과 ····· 68
① POV(Peroxide Value)의 변화 ····· 68
② CDV(Conjugated Diene Value)의 변화 ····· 73
4. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과 ····· 76
5. 파쇄립, 배아 등 유효획분의 혈당강하 및 과산화억제 효과 ····· 80
1) 식이섭취량 및 체중변화 ····· 80
2) 장기무게의 변화 ····· 82
3) 혈당의 변화 ····· 83
4) 과산화억제 효과 ····· 85
Ⅴ. 결론 ····· 87
Reference
Abstract

List of Figures

Fig. 1. Preparation of barley polyphenol extracts(BPE) separated from pearling by-products ……18
Fig. 2. Antiradical activities of barley polyphenol extracts separated from pearling by-products ……50
Fig. 3. HPLC chromatogram of authentic phenolic compounds ……52
Fig. 4. HPLC chromatograms of phenolic compounds in barley polyphenol extracts separated from pearling by-products ……55
Fig. 5. Separation of flavanol from BPE by Sephadex LH 20 column chromatography. ……58
Fig. 6. Thin layer chromatogram of flavanol fractions ……60
Fig. 7. HPLC chromatogram of authentic hydroxycinnamic acids ……61
Fig. 8. HPLC chromatograms of hydroxycinnamic acids in BPE separated from barley pearling by-products. ……62
Fig. 9. Antioxidative activities of barley polyphenol extract(BPE) separated from bran and germ fractions ……67
Fig. 10. Changes in peroxide values of the corn oil containing 0.02% of BPE from bran and germ fractions at 60±2℃ for 35 days ……71
Fig. 11. Conjugated diene values of the corn oil containing 0.02% of BPE from bran and germ fractions at 60±2℃ for 35 days ……75

Fig. 12. Effects of barley polyphenol extracts(BPE) on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats ……78
Fig. 13. Liver weight changes of experimental rats ……78
Fig. 14. Effects of lipid peroxide inhibition in rat liver ……79
Fig. 15. Effects of thiobarbituric acid reactive materials of serum ……86
Fig. 16. Effects of lipid peroxide inhibition in rat liver ……86

List of Table

Table 1. HPLC working conditions for free sugars ····· 14
Table 2. HPLC working conditions for tocols analysis ····· 15
Table 3. Conditions for GC analysis for fatty acids ····· 16
Table 4. HPLC working conditions for hydroxycinnamic acids analysis ··· 25
Table 5. Physicochemical characteristics of corn oil used as a substrate ···27
Table 6. Proximate composition of brans, germ and broken-kernel barley pearling by-products ·····39
Table 7. Color and color difference meter reading of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products ·····40
Table 8. Particle size distribution(%) of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products ·····41
Table 9. Free sugar contents(%, dry basis) of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products ····· 43
Table 10. Total tocol concentration(mg/kg) in oil of brans, germ and broken-kernel ·····46
Table 11. Total polyphenol contents in barley pearling by-products and barley polyphenol extract(BPE) ····· 48

Table 12. ACE inhibiting ability, nitrite-scavenging effect and SOD-like activity of barley polyphenol extracts separated from pearling by-products ····· 51
Table 13. Characteristics of each fractions from BPE by Sephadex LH 20 column chromatography ·····57
Table 14. Changes of total polyphenol content in BPE during storage at different conditions ····· 63
Table 15. Changes of EDA(%) in BPE during storage at different conditions ····· 64
Table 16. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acid stored at 40℃ for 84 hours ····· 66
Table 17. Peroxide values of the corn oil containing of various antioxidants stored at 60±2℃ for 35 days ····· 70
Table 18. Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness(RAE) of the corn oil containing BPE from bran and germ fractions at 60±2℃ ····· 72
Table 19. Conjugated diene values of the corn oil containing of various antioxidants stored at 60±2℃ for 35 days ····· 74
Table 20. Food intake and body weight gains of experimental rats ····· 77
Table 21. Effect of barley fractions on changes in body weight gains, food intakes and food efficiency ratios(FER) ·····81

Table 22. Effects of barley fractions on organ weight in STZ-induced diabetic rats ····· 83
Table 23. Effects of barley fractions on blood glucose level in STZ-induced diabetic rats ····· 84

Ⅰ. 서 론

최근 식생활의 서구화와 식품의 제조 및 가공기술의 발달로 장기저장식품, 인스턴트 식품 및 외식의 이용도가 현저히 증가 하고 있으며 이로 인한 국민들의 영양불균형이 초래되어 이에 따른 동맥경화, 관상 심장병 및 당뇨병 등 여러 가지 성인병이 유발되고 있다. 이와 더불어 최근에는 건강증진을 위해서 천연의 기능성 식품과 기능성 물질들에 관한 연구 개발이 활발히 이루어 지고 있다.[1-4]

특히 식용유지를 함유하는 식품의 변색 및 산패를 방지하거나 지연할 수 있는 기능을 가진 화합물로서 항산화제에 관한 연구가 많이 이루어 지고 있다. 지금까지 가장 널리 이용되고 있는 합성항산화제는 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluen(BHT), tertiary butyl hydroquinone(TBHQ) 등이 알려져 있으며[5] 이들 합성 항산화제는 고농도로 투여시 간비대증[6]이나 발암효과 등의 유해한 증상들이 우려되므로 법적 최대 허용량을 0.02%로 규제하고 있다.[7] 따라서 천연 항산화제에 대한 중요성과 함께 개발의 필요성에 관심이 고조되고 있으며 그 중 식물체 내에 존재하며 약리효과가 있는 다양한 기능성 물질에 대한 관심이 높아지면서 약용식물 뿐만 아니라 곡류, 과일, 채소 등에 함유된 천연물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.[8]

천연물 중에는 여러 종류의 항산화 효력을 갖는 물질들이 함유되어 있으며 그 대표적인 것이 Kasuga[9]등이 단백질과 그의 가수분해물의 항산화 활성을 보고하였고, 쌀의 외피를 구성하는 미강은 혈중콜레스테롤 저하효과,

항산화 효과, 혈압상승효과와 함께 혈당상승과 인슐린 반응성이 낮아 당뇨에도 효과적이라고 Nicolsi[10]등이 보고하였으며, 김[11]등은 미강에 총폴리페놀함량이 310.0-541.6mg catechin eq/100g으로 백미에 함유되어 있는 총폴리페놀량보다 약 10배정도 높게 함유되어 있으며 phenolic acid는 ferulic acid, ρ-coumaric acid가 주요성분으로서 다양한 유효성분들이 확인되어 기능성 소재로서 제품화의 단계까지 도달하였다고 보고하였다. 이[12]는 탈지깨 종자 박에서 추출한 각 형태의 페놀산 추출물들이 각각의 페놀함량 차이가 큼에도 불구하고 대두유에 0.02%추출물로서 첨가시 BHT와 유사한 항산화 효과를 나타냈음을 보고하였다. 그 이외에도 페놀성 화합물의 항산화 효과와 산화안정성에 관한 연구 및 전자공여작용 등에 대하여 활발히 연구된 바 있다.[13-16] 이[17]등은 녹차에 함유된 다양한 생리활성 물질 중 catechin류의 항산화력을 검증하고 BHT, δ-tocopherol과 혼합 사용시 높은 항산화상승효과가 있음을 보고하였다. 또한 Flavonoids의 하나인 flavonols은 많은 식물체내에서 생성되는 polyphenol 화합물로서 소량 존재로 중요한 작용을 하는 vitamin P복합체로 알려져 있으며 혈관의 지나친 투과성억제 및 lipid peroxidation에 대한 억제 효과에 대해서도 논의되고 있다.[18] 이 flavonols의 하나인 rutin과 quercetin이 각각 메밀과 양파에 다량 함유되어 있고 이 추출물의 in vitro 생리활성효과 실험결과 ACE와 aldose reductase 저해 효과를 보여주어 항산화 효과가 있음이 밝혀졌다.[19], 그 외 각종 식용식물에서 polyphenol계 성분[20]이 발견되었으며, 대두 및 대두가공식품에서 isoflavones의 항산화효과에 관한 연구가 Naim과 Pratt[21,22]에 의한 연구에서 검증되었으며 귀리, 목화, 땅콩 등의 유지종자에서도 항산화 물질이 다량 함유되어 있다고 알려져 있다.[23]

유[24]등은 고추과피 추출물의 마가린에 대한 항산화 효과를 보고하였으며, Chen[25]등은 naringin의 항산화, 지질과산화 예방 및 항돌연변이 활성 등의 효과를 보고하였고, Ramarathnam[26]등은 왕겨의 methanol 추출물에서 C-glycosyl flavonoid 중 isovitexin이 α-tocopherol과 같은 강도의 항산화 효과가 있다고 하였다. 뿐만 아니라 최근 들어 식용꽃잎의 항산화 활성도 Tateyama[27]등에 의해 그 활성은 꽃잎에 함유되어 있는 폴리페놀 성분의 함량에 의존한다고 보고되었다.

Sohn[28]등은 또한 이들의 기능성에 대한 평가로서 항산화 작용, 순환기계 질병의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하작용, 면역증강작용, 모세혈관강화 등에 대하여 보고하였다.

이러한 모든 생물체는 산소를 이용하여 생명유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 유해산소로 불리는 활상산소들의 상해에 대한 근본적인 자기방어를 가지고 있다. 조직의 방어기구에서 해리되지 못한 활성산소는 노화, 암, 관절염 등에 직, 간접적으로 생체 장애를 일으키는 원인으로 알려져 있다.[29,30] 유해산소로 알려진 활성 산소는 가장 안정한 형태의 산소인 3중항 산소($^3O_2$)가 환원되면서 superoxide, hydroxy radical과 같은 자유라디칼과 과산화수소수를 생성하여 이들이 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 각종 질환을 일으키고 있다. 특히 활성산소는 세포 생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하는 과산화반응으로 체내 과산화지질을 축적하고 이로 인해 생체 기능을 저하시키는 동시에 노화 및 성인병 등의 질환을 일으키는 것으로 알려져 있다.[31,32] 최근 이러한 활성산소를 조절할 수 있는 물질로 알려진 천연항산화제들로서 효소계인 superoxide

dismutase, catalase, glutathion, peroxidase 와 tocopherol, 비타민 C, carotenoid, flavonoid, catechin등이 보고 되었다.[33-35]

한편 Kerby[36]등은 보리의 β-glucan이 암세포 성장 억제 작용과 소화 흡수 지연으로 인한 당뇨와 비만 환자에게 바람직한 기대효과와 pectin, gum, mixed linked (1-3),(1-4)-β-glucan 등에 의한 혈장내 콜레스테롤 저하작용을 가지며, 보리의 비타민 B_2, 비타민 B_{12}등은 체내 임파 조직을 강화하여 암세포의 증식 억제작용을 갖는다고 하였다. 김과 차[37,38]등은 보리 β-glucan의 구조적인 특성으로 인한 물성과 열적 특성, 오[39]등은 당뇨와 고지혈 측면에서 당과 지질의 흡수를 지연하는 생리적 효과를 갖는 β-glucan의 기능 등 대부분이 보리에 존재하는 β-glucan에 대한 연구 이루어졌다.

그러나 최근 보리에 폴리페놀성 물질이 함유되어 있는 것이 확인되면서 특히 이들 페놀성 화합물이 보리의 내부 배유조직 보다 껍질을 포함하는 외층부 및 배아부위에 더 많이 집적되어 있으며[40], 보리 폴리페놀추출물이 우수한 항산화성과 활성산소 소거능 및 항변이원성을 갖고 있다는 기능성 부분이 알려지면서 그 가치가 재조명받고 있다.[41].

따라서 본 연구에서는 보리를 식용으로 하기 위해 도정 등의 처리를 할 때 부산물로 얻어지는 맥강 및 배아 획분의 이화학적인 특성과 생리활성효과에 관한 연구를 위하여 항산화성을 나타내는 폴리페놀성 물질을 75% ethanol로 추출하고 Sepabeads SP-850와 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 활성성분을 분리하고, 이들의 유효성을 linoleic acid를 사용한 모델계 및 corn oil에서 저장 중 산화안정성에 미치는 첨가효과를

BHT와 α-tocophenol 등의 항산화제와 비교 검토하여 보리 폴리페놀 추출물의 천연 항산화제로서의 이용 가능성 및 동물실험을 통해 폴리페놀추출물의 기능성 소재로서의 활용가능성을 제시하고자 하였다.

Ⅱ. 문헌적 배경

식품의 3차 기능인 생체 조절 기능이 강조됨에 따라 천연물질로부터 얻은 다당류를 이용한 기능성 식품 개발이 집중적으로 이루어지고 있으며, 다당류의 생리활성 물질을 검색하는 연구가 계속 이루어지고 있으나 천연 물질 중 다당류에 대한 생리활성 물질 검색은 전통 한약 재료나 균류 생약에 대한 연구가 대부분으로써 식품에 관한 연구는 아직까지 미비한 실정이다. 다당류는 곡류에 많이 함유되어 있으며 우리나라를 비롯한 동양권에서 곡류는 식생활에서 주식이 되는 중요한 비중을 차지하고 있는 식품이다.

그 중 보리는 벼목 화본과의 일, 이년생의 재배식물로서 학명은 *Hordeum vulgare var. hexastichon Aschers.* 이며 약 1만 5000년전부터 중요한 식용작물로 재배되기 시작하여 지금의 맥류가 개발될 때까지 발전해온 작물이다. 한국, 중국, 인도 일본 등은 일부 식량으로 나머지는 사료와 가공용으로 사용하며, 유럽, 미국 등에서는 대부분 사료로 사용하고 일부는 양조용으로 사용한다. 그러나 식품학적으로 보리는 우리몸을 알칼리화 시켜주며 섬유질, 비타민, 무기질과 단백질 함량이 높고 필수아미노산이 많이 함유되어 있는 작물 중의 하나이다.[42]

보리(*Hordeum vulgare*)는 우리나라에서 국민의 기본식량으로서 70년대까지만 하더라도 쌀과 더불어 큰 몫을 차지하였으나 80년대에 들어서면서 국민의 식량소비구조가 변화됨에 따라 식용으로서의 보리소비가 크게 줄어들게 되면서 보리의 1인당 소비량은 1965년의 36.8kg에서 1995년의 1.9kg,

2000년대 1.8kg으로 격감하게 되어 주곡으로서의 위치를 상실하여 가고 있다.[43,44]

보리는 그 소비가 점차 감소하는 추세이나 보리국수, 장류, 보리 미싯가루, 보리차, 보리음료, 보리후레이크 등의 가공 이용성 이외에 미량이지만 여러 가지 phenolic compound, lignin, flavonoid, phytic acid등이 함유되어 있고, 다량의 섭취가 가능하다는 점에서부터 보리의 기능성이 부각되고 식품으로서의 가치가 재조명 되고 있다.[45-47]

또한 보리에는 귀리와 더불어 베타-글루칸이란 수용성 식이섬유의 함량이 곡식 중 가장 높으며 베타-글루칸은 혈중 콜레스테롤을 감소시키는 기능성을 갖고 있어 국민건강증진 특히 성인병예방 차원에서도 유용한 재료이다.

그러나 압맥, 할맥 등의 가공처리를 위한 도정 시 대맥강(大麥糠)이 약 30% 정도 부산물로서 발생되고 있으나 전량 부가가치가 낮은 사료로서 이용되고 있을 뿐 식품의 기능적 측면이 활용되지 못하고 있다.

이러한 도정부산물에는 외피, 호분층을 포함한 도정겨, 배아 및 기타 파쇄립 등이 함유되어 있는데 여기에는 β-glucan, tocopherols, tocotrienols 등 생리활성 물질들이 풍부히 함유되어 있어 이들을 적절히 분리, 추출, 정제할 경우 부가가치가 높은 기능성 소재를 얻을 수 있다.[48-51] 또한 보리 도정부산물로 발생하는 배아와 강층 부분에는 폴리페놀 화합물이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 이 폴리페놀 화합물의 일부는 proanthocyanidin류로 동정된 바 있고[52-57], 보리추출물의 항보체 및 면역증강효과에 관한 연구 및 보리 폴리페놀 추출물의 항알레르기 작용[58] 등이 최근 보고되고 있다.

구미선진국에서는 곡류로부터의 식이섬유 섭취량 감소는 산업혁명이후 고도로 정제된 곡류를 식용으로 하고 있기 때문이며, 국내의 식생활에 있어서도 정백도가 높은 백미와 고도로 정제된 밀가루를 선호하고 있어 식이섬유를 인위적으로 식품에 첨가할 필요성까지 대두되고 있다.

또한 대맥강에는 배유부와 비교할 때 식이섬유 뿐 만 아니라 많은 폴리페놀 화합물이 함유되어 있다는 것이 알려져 최근 이 폴리페놀 화합물은 일부가 동정되었고 기능특성에 대해서도 연구 중에 있다.

국내의 경우 그동안 밀, 쌀 및 옥수수 등의 가공시 발생하는 부산물로서 배아를 비롯하여 미강을 활용하고자 하는 연구[59,60]는 많이 이루어져 왔으나 보리 도정부산물의 기능성 탐색 및 유효성분으로서의 폴리페놀 화합물의 특성규명, 생리활성물질로서의 이용에 대한 연구보고는 아직까지 미흡한 실정이다.

따라서 보리 도정부산물인 대맥강으로부터 배아획분, 파쇄립 및 맥강획분을 분리하여 이들의 기능적 특성을 분석하고 이들 획분을 적절히 가공식품화 할 경우 보리의 안정적 생산 뿐 만 아니라 국민의 건강증진에도 크게 기여하게 될 것으로 사료된다.

1. 배아 및 강층의 유효성분

보리를 식용 보리쌀로 도정할 때 부산물로 발생하는 배아와 강층에는 천연 항산화성 물질이 포함되어 있어 식품소재로 활용가치가 있다. 그동안 밀과 쌀 배아나 옥수수 배아를 비롯하여 미강(米糠)을 활용하고자 하는 많은 연구가 있었으나 보리의 경우는 서구에서의 소비량이 적어 부산물의 활용이 주목받지 못하였다.

그러나 최근 미국과 일본을 중심으로 대맥강 폴리페놀 추출물의 기능성, 대맥 배아유의 tocol 조성 등이 발표되면서 대맥강 중의 유효성분과 그 이용에 관한 분야가 주목을 받고 있다.

곡물류의 종자나 강층에서 주로 발견되는 지용성의 천연 항산화제인 tocol에는 tocopherol(T)과 tocotrienol(T3)이 있고 T와 T3 isomer(α, β, γ, δ)들의 농도와 조성은 급원(곡류, vegetable oils)마다 다른데 보리는 함량과 조성 면에서 우수한 급원이 될 수 있다는 기초자료들이 최근 발표되고 있다.

Tocol의 생리효과에 대한 연구에 따르면, 이들은 강력한 항산화효과를 발휘하고, LDL-cholesterol의 감소효과가 있으며 특히 생체막 조직에서 인지질의 천연 항산화제로서의 역할을 하고 체내대사를 정상적으로 유지하는데 큰 기능을 하는 것으로 알려졌다.[61-65]

또한 보리기름은 특유의 보리향을 함유하는 것 등 여러가지 우수한 특성 때문에 다른 식물성 기름과 차별화되는 특별한 기름으로 부각될 수 있을 것으로 보인다. 보리기름이나 oil extract급여하여 콜레스테롤을 저하시킨 효과는 α-T3와 α-linoleic acid가 간에서 콜레스테롤 생합성의 HMG-CoA 환원

효소를 억제하기 때문이며, 하루 30g의 barley bran이나 3g의 barley oil을 섭취하면 고 콜레스테롤 환자의 총 콜레스테롤 함량과 LDL 콜레스테롤 함량을 낮출 수 있다고 보고된 바 있다.[66]

보리의 총 지방함량은 2~3%이며 외부 강층의 지방함량은 6~12%로 높고, 주요 지방산은 linoleic acid로 알려져 있으나 보리의 배아에 필수 지방산이 풍부한지 여부 등 다른 식물성 기름 또는 곡물배아 기름과의 차이에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

보리기름의 비검화물에는 Tocol, 식물성 sterol류, 고급알콜류 등이 속하며 이는 총 지질의 약 8%로 그 조성은 α-tocotrienol이 가장 우세하며 α-tocopherol, β-tocotrienol, ɣ-tocotrienol 순 이었고 보리의 부위별 총 tocol의 양은 전체보리에 40.3㎎/㎏, 겨층에 28.9㎎/㎏, 배유에 33.3㎎/㎏, 배아에 206.5㎎/㎏로서 배아에 다량 존재하는 것으로 알려졌다.

2. 맥강의 폴리페놀에 관한 연구

식용보리를 제조할 때 발생하는 다량의 맥강은 아직 사료소재로서만 이용되고 있는 수준이나 강부에는 배유부와 비교하여 식이섬유 뿐만 아니라 많은 폴리페놀 화합물이 함유되어 있다는 것이 알려져 있으며 이 폴리페놀 화합물은 일부가 분리 동정되었다..

최근 사과, 적포도주, 포도 종자엑기스 등을 중심으로 활발하게 연구되고 있는 proanthocyanidin(축합형 탄닌)이 보리 맥강에도 존재하는 것으로 밝혀졌고, 대맥강에서 추출한 폴리페놀 추출물이 proanthocyanidin류이며 항산화, 활성산소소거능, 생체모델계의 지질산화억제작용, 항암 및 항알러지 작용 등을 (-)-EGCG, (-)-ECG 등 카테친 화합물과 비교했을 때, 동등하거나 그 이상의 항보체활성 가능성이 있었다고 발표되어 새롭게 주목을 받고 있다.[52-58]

대맥강 중의 폴리페놀 화합물을 주성분으로 한 대맥강 추출물의 각종 기능을 항산화성 중심으로 조사한 결과 linoleic acid에 대한 항산화력은 BHT, BHA 보다 약간 적었지만 아스코르브산, 토코페롤보다 커서 천연 항산화제로서의 유용성이 클 것으로 사료되며, 대맥 폴리페놀 추출물의 superoxide 소거활성은 아스코르브산 보다 적었으나 토코페롤, BHA, BHT보다도 큰 소거능을 나타내었으며 특히 친수성 라디칼에 강한 보족작용을 갖는다고 보고되어 있다.[41,52]

Ⅲ. 실험재료 및 방법

1. 시료

본 실험에 사용한 보리 도정부산물은 쌀보리를 사용하여 정원산업(전남 보성)에서 직접 제조하였다. 즉 연마기의 대수를 기준으로 깎여지는 순서에 따라 연마기 1~4로부터 얻은 획분을 bran Ⅰ, 연마기 5~20으로부터 얻은 것을 bran Ⅱ, 연마기 21~24로부터 얻은 것을 bran Ⅲ으로 구분하여 시험에 사용하였다. 도정부산물 중 파쇄립은 풍력을 이용한 비중선별에 의해 분리하였으며 배아는 사별(16 mesh)에 의해 분리하였다. 이와 같은 공정을 통하여 원료보리 중량 대비 bran Ⅰ 3.6%, bran Ⅱ 18%, bran Ⅲ 2.4%, 파쇄립 6% 및 배아의 발생율은 0.2%이었다.

2 . 도정부산물로부터 분획한 맥강, 배아 및 파쇄립의 이화학적 특성

1) 일반성분

보리 도정부산물의 수분, 조단백질, 조지방, 전분, 조회분은 AOAC 방법에 따라 분석하였고 사분은 사염화탄소(CCl_4) 비중선별법에 따라 시료 5~25 g을 채취하여 그것에 대한 무게 %로 나타내었다.[67]

2) 색도

색도는 색차계(Color and color difference meter, UC600 IV, Yasuda Seiki Co., Japan)를 사용하여 L(백색도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였으며, 표준색판은 L=100, a=0, b=0(액체) 또는 L=92.67, a=-0.83, b=0.86(고체)의 것을 사용하였다.

3) 입도

Bran Ⅰ ~ Ⅲ 및 배아 획분 시료 각 100 g을 12~325 mesh 표준망체를 사용하여 Ro-Tap sieve shaker(W.S. Tyler Co., USA)에서 30분간 진탕한 후 각 mesh를 통과하는 획분의 중량으로 측정하였다.

4) 유리당의 정량

Henry[68]의 방법으로 n-hexane 탈지 시료 10 g에 80% 에탄올로 가온추출하여 냉각한 후 여과한 여액을 50℃ 이하에서 감압농축시키고 증류수로 100 mL가 되게 정용한 다음 이온교환수지(Amberlite MB-3)로 처리하여 이온성 물질을 제거하고 0.2 ㎛ membrane filter로 여과시킨 시료액을 Dionex Bio LC(Dionex, Sunnyvale, CA)에 주입하여 유리당의 조성과 함량을 분석하였다.

Table 1. HPLC working conditions for free sugars anslysis

Instrument	Jasco PU-1580 pump Jasco DG-1580-54 degasser Jasco RI-1580 detector
Column	Carbohydrate analysis column(3.9×300mm)
Flow rate	0.7 mL/min
Mobile phase	Acetonitrile : Water(75:25)

5) Tocols의 정량

Tan[69]등의 방법으로 시료를 Soxhlet장치를 사용하여 n-hexane으로 12시간 탈지한 후 40℃ 이하에서 감압농축시켜 헥산을 제거하여 얻은 지질 0.5 g을 100 mL round flask에 넣고 여기에 0.5 N NaOH(in ethanol) 20 mL와 1% pyrogallol(in ethanol) 1 mL를 첨가한 다음 10분간 환류시켰다. 검화된 시료를 분액여두로 옮긴 후 이를 30 mL diethyl ether로 2회 추출하였다. 추출물을 증류수로 수세하고 중화된 ether층을 40℃ 이하에서 감압농축한 다음 일정량의 n-hexane에 녹여 HPLC(JASCO, Japan)로 분리 분석하였다. 이때 분석조건은 다음과 같았다.

Table 2. HPLC working conditions for tocols analysis

Column	Lichrosorb Si-60(Merck)
Eluent	n-hexane:ethyl acetate(95:5)
Column temp	30℃
Detector	Ex:298, Em:325
Flow rate	1.0mL/min

6) 지방산의 분석

지방산 분석은 Metcalf[70] 방법에 따라 *n*-hexane으로 추출하여 얻은 지질 200 mg에 0.5 N NaOH/MeOH 5 mL 를 가하여 분해시킨 다음 BF_3 촉매하에 methyl ester를 제조하고 GC(HP5890, Hewlett-Packard Company, CA, USA)로 분석하였다.

Table 3. Conditions for GC analysis for fatty acids

Mass detector	HP-5890
Column	6 ft/2 mm I.d., glass
Packing	Acid-washed and silanixed diat. 10% DEGS on 100-120 mesh chromosorb WHP
Carrier gas	Helium
Initial temp	170℃
Initial time	0.5 min
Initial rate	2.5℃/min
Final temp	225℃
Final time	3.0 min
Split ratio	25:1

3. 폴리페놀성 물질의 분리 및 이화학적 특성

1) 폴리페놀추출물(Barley Polyphenol Extracts, BPE)의 조제

보리 도정부산물로부터 폴리페놀추출물은 Tamagawa 등[71]의 방법에 따라 Fig. 1과 같이 실시하였다. 즉 *n*-hexane으로 탈지한 시료 1 kg에 75%(v/v) 에탄올 10 L를 가하여 Polytron homogenizer로 분쇄(8,000 rpm, 10분), 추출 후 흡인여과 하였다. 얻어진 추출액을 30℃ 이하에서 감압농축시켜 에탄올을 완전히 제거한 다음 불용성 물질은 원심분리(5℃, 10,000 rpm, 5분)하고 상징액은 Sepabeads SP-850 수지를 탈이온수로 평형화시킨 칼럼(210×30 mm)에 유량 10 mL/min의 속도로 흡착시켰다. 흡착된 칼럼은 당류, 아미노산을 Molisch 반응 및 닌하이드린 반응이 음성이 될 때까지 탈이온수로 유량 10 mL/min의 속도로 세정하였다. 이어서 흡착물(폴리페놀획분)을 2 L의 75% 에탄올로 용출시켜 30℃ 이하에서 감압농축 후 동결건조하여 담갈색 분말인 BPE를 얻었다.

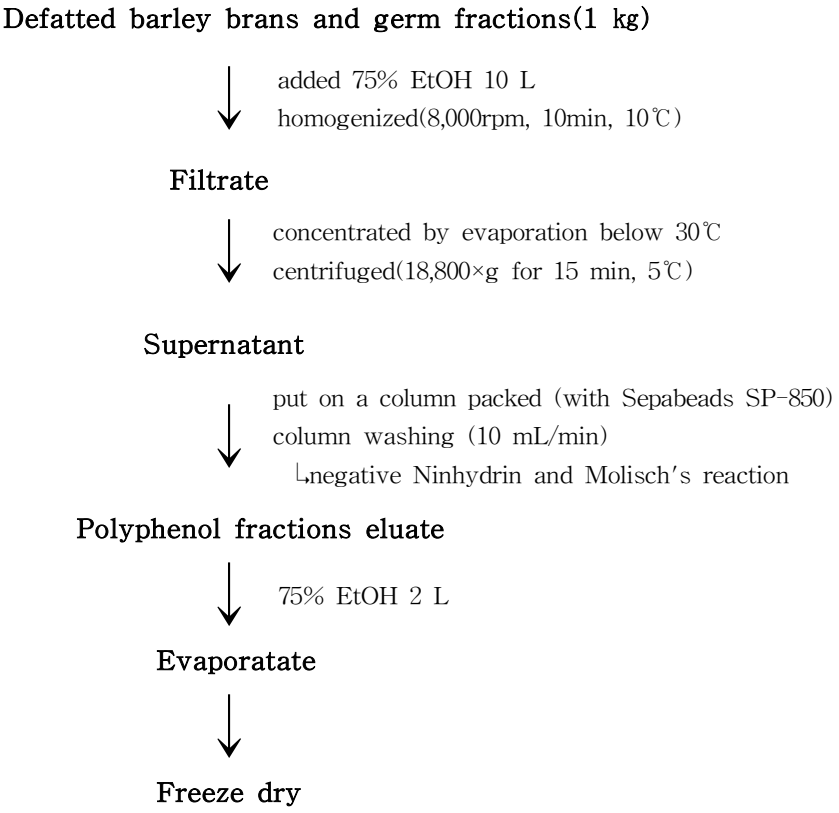


Fig. 1. Preparation of barley polyphenol extracts(BPE) separated from pearling by-products.

2) HPLC에 의한 BPE의 분리

BPE를 일정량의 탈이온수에 용해시킨 다음 원심분리(10,000 rpm, 15분)하고 0.2 ㎛ membrane filter를 통과시킨 액을 HPLC(JASCO, Japan)에 주입하여 Vallés 등[72]의 방법에 따라 폴리페놀화합물의 분리양상을 조사하였다.

3) 총 폴리페놀 함량

보리 도정부산물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis 방법[73]을 이용하여 실시하였다. *n*-Hexane으로 탈지한 시료 15 g에 70% 메탄올 150 mL를 넣고 균질화시킨 다음 90℃에서 30분간 환류냉각한 후 여과하고 남은 잔사에 150 mL의 메탄올을 넣고 다시 균질화, 환류냉각 및 여과의 과정을 3회 반복하여 얻은 여과액 300 mL를 감압농축시켜 150 mL로 한 다음 11,000 rpm에서 15분간(5℃) 원심분리시켜 얻은 상징액을 총 폴리페놀 함량 측정용 시료로 사용하였다. 얻어진 시료 5 mL에 Folin시약(1/3 희석액) 5 mL를 가하고 3분 후 10% sodium carbonate 5 mL를 넣어 30℃에서 1시간 발색시킨 다음 700 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 대조구로서는 검액 대신 물을 사용하였고 미리 (+)-catechin을 사용하여 구한 검량곡선으로부터 시료 중의 폴리페놀 함량을 측정하였다.

4) 전자공여능

BPE의 전자공여능(Electron Donating Ability, EDA)은 Williams 등[74]의 방법으로 측정하였다. 즉, 각 시료 1 mL에 1×10^{-4}M DPPH(α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl) 용액 2 mL를 넣고 10초간 진탕 후 30분 동안 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 EDA(%)로 나타낸 결과와 각 시료의 농도에 따른 DPPH의 잔존율로부터 초기 DPPH의 농도가 50% 감소될 때까지의 농도 EC_{50}을 구하여 비교하였다.

$$EDA(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A : 시료 첨가군의 흡광도

B : 시료 무첨가군의 흡광도

5) ACE 저해작용

Cushman[75] 등의 방법에 따라 시료별 BPE용액 50 μL에 ACE 조효소액 50 μL, 10 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL를 가한 후 37℃ shaking incubator에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 기질인 Hippuryl-His-Leu 용액 50 μL를 가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 250 μL를 가하여 반응을 종료시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가한 다음 vortex mixer로 15초간 혼합한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상징액 1 mL를 취하였다. 이 상징액을 temp-block heater로 120℃에서 15분간 건조시켜 ethyl acetate를 제거한 후 증류수 3 mL를 가하여 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ACE 저해율(%) = (1 - A/B) × 100

A : 시료첨가군의 흡광도
B : 시료 무첨가군의 흡광도

6) 아질산염 소거작용

BPE의 아질산염 소거작용은 Kato 등[76]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 1 mM $NaNO_2$ 용액 2 mL에 BPE 용액 1 mL를 가하고 1N HCl로 pH를 1.2로 조정한 다음 증류수를 사용하여 반응액을 10 mL로 하였다. 이 액을 37℃에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griss시약 0.4 mL를 가한 후 진탕하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 산출하였다. 대조구는 Griss시약 대신 증류수를 가하여 측정하였다.

아질산염 소거율(%) = ［1 - (A-C)/B］×100

A : 1 mM $NaNO_2$용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후의 흡광도

B : 1 mM $NaNO_2$용액의 흡광도

C : 시료자체의 흡광도

7) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성 측정은 Kim 등[77]의 방법에 따라 BPE 시료 2 g에 tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.2) 30 mL를 가하여 2분간 혼합한 다음 4℃에서 12,000×g로 30분간 원심분리한 후 상징액을 0.1 N NaOH와 HCl로 pH 8.2로 조절하였다. 이 용액 0.9 mL에 기질로서 3 mM의 pyrogallol 0.1 mL를 혼합한 후 25℃를 유지시키면서 420 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하여 pyrogallol의 산화속도를 계산하였다.

$$\text{SOD 유사활성(\%)} = \left(\frac{(A-B)}{A}\right) \times 100$$

A : 무첨가구의 흡광도 증가율

B : 시료첨가구의 흡광도 증가율

4. 폴리페놀추출물(BPE)로부터 항산화성 물질의 분리 및 저장안정성 검토

1) 시약

폴리페놀 및 프로안토시아니딘 표준품은 syringic acid, ρ-coumaric acid, ferulic acid, vanillic acid, procyanidin B3와 prodelphinidin B3 등 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)제품을, TLC plate는 서로 다른 두 가지 담체의 silica layer와 cellulose layer로 Merck사 제품을 사용하였으며 기타 모든 시약은 특급을 사용하였다.

2) BPE로부터 프로시아니딘의 분리 및 분획

맥강 플라바놀의 크로마토그래피에 의한 분획을 위해 보리 폴리페놀추출물(BPE)을 동결건조하여 얻은 담갈색 분말을 시료로 하여 실험에 이용하였다. Sephadex LH-20을 메탄올로 팽윤시켜 충진한 pre-column(20×2.5 cm)과 main column(100×2.5 cm)을 연결한 후 폴리페놀추출물(BPE 1g/30 mL methanol)을 pre-column에 주입시킨 다음 탈기한 메탄올 500 mL을 100 mL/h의 속도로 컬럼에 통과시킨 다음, pre-column을 main column으로부터 분리한 후 main column에 3 L의 메탄올을 통과시켰다. 처음 용출되는 500 mL는 버리고 다음의 1.5 L는 튜브 당 13 mL씩 분취하여 단순 플라바놀을 얻은 다음 나머지는 500 mL씩 분취하였다. 마지막 획분은 pre-column에 500 mL의 아세톤:메탄올(1:1) 용액을 통과시켜 얻었고 플라바노이드성 탄닌은 pre-column과 main column에서 늦게 용출되는 획분으로부터 회수하였다[78].

이와 같이 얻은 획분을 농축하여 분획물의 향, 색 등에 대한 관능특성을 검토하고 HPLC(JASCO, Japan)에 의해 단순 플라바놀 및 플라바노이드성 탄닌을 분리하였다. 이때 분석조건은 전항에서 기술한 방법과 같이 하였다.

3) BPE로부터 hydroxycinnamic acids의 분리정량

보리 폴리페놀추출물 시료의 폴리페놀성분을 분리, 동정하였다. BPE시료 10 mg을 1M NaOH 0.55 ml에 용해시켜 질소충진하에 20℃에서 16시간 방치한 다음 원심분리(20000×g, 15 min, 10℃)하여 상등액을 취하였다. 이 상징액에 acetic acid 200 μL를 가해 pH 3으로 산성화시킨 후 동량의 ethylacetate로 5회 반복 추출하였다. 시료는 추출 동안 빛을 차단하였고, 감압농축하여 얻은 건조시료를 methanol/water(50:50, v/v) 0.5 mL로 녹여 0.45 ㎛ filter를 통과시켜 얻어진 것을 최종 시료로 사용하여 보리도정부산물 알칼리 추출물의 hydroxycinnamic acids(ferulic acid와 ρ-coumaric acid)를 HPLC(JASCO, Japen)로 분리하였다[79]. 이때 분석조건은 Table 3과 같다.

Table 4. HPLC working conditions for hydroxycinnamic acids analysis

Column: Waters Nova-Pack C18(3.9x300 mm)
Eluent: 0.05% phosphoric acid(pH 2.8) in methanol(start)→0.05% phosphoric acid in 0 min, 2% ; 0.1-50 min, 50% ; 51-60 min, 50% ; 61-65 min, 2% methanol(final)
Flow rate: 0.5 mL/min, detector: UV 280 nm

4) TLC에 의한 플라바놀 획분의 분리

맥강에 포함되어 있는 플라바놀 성분을 분리, 확인하기 위하여 2가지의 서로 다른 담체의 TLC plate(silica gel 60 plate, cellulose 60 plate 20×20 cm)를 사용하여 실험하였다[78]. 전개용매는 toluene : acetone : formic acid(silica gel 60 plate)를 30:60:10(v/v), isoamyl alcohol : acetic acid : water(cellulose 60 plate)를 2:1:1(v/v)로 혼합 사용하였으며, 전개 후 p-diethylaminocinnam-aldehyde(DAC)용액을 분무, 건조하여 확인하였다. Vanillic acid, caffeic acid, ferulic acid, p-coumaric acid, syringic acid, procyanidin B3 및 prodelphinidin B3 등(Sigma)을 표준품으로 사용하여 R_f 값을 비교하였다.

5) 폴리페놀추출물(BPE)의 저장안정성

보리 폴리페놀획분으로 얻어진 담갈색 분말의 폴리페놀추출물(BPE I)을 실온(25℃)과 37℃에서 9주 동안 보관하면서 3주 간격으로 총 폴리페놀함량 및 DPPH(α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl)에 대한 전자공여능(EDA%)을 측정하여 BPE의 저장안정성을 검토하였다.

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis방법[73]을 이용하여 실시하였다. 전자공여능은 Williams[74]의 방법으로 전항에서 기술한 방법에 따라 실시하였다.

5. BPE의 항산화력 측정

1) 시료 및 시약

보리 도정부산물로부터 폴리페놀추출물(BPE)은 전항에서 기술한 방법[71]에 따라 조제하였고 시료 및 기질로 사용한 유지는 영미산업(경기 용인)에서 생산된 항산화제가 첨가되지 않은 corn oil로서 그 이화학적 특성 및 지방산 조성은 Table 5와 같다. 표준시약인 linoleic acid, α-tocophenol 및 BHT는 Sigma사 제품을 사용하였고, 추출용매와 그 밖의 모든 시약은 특급 시약을 사용하였다.

Table 5. Physicochemical characteristics of corn oil used as a substrate

Specific gravity(25/25℃)	0.919
Refractive index(25℃)	1.4728
Moisture(%)	0.008
Unsaponifiable matters(%)	0.98
Acid value	0.084
Saponification	194.0
Iodine value	123.4
Lovibond color($5^1/_4$″ cell)	10.0Y/1.8R
Cold test(hr)	76
Fatty acid composition(%)	
16 : 0	11.06
16 : 1	0.15
18 : 0	2.13
18 : 1	28.86
18 : 2	56.64
18 : 3	0.63
20 : 0	0.55

2) 리놀산에 대한 항산화력 측정

BPE의 linoleic acid에 대한 항산화 효과는 Mitsuda 등[80]의 방법에 의한 TBA(thiobarbituric acid) 측정법을 이용하여 측정하였다. 즉 linoleic acid를 0.03 M이 되도록 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol 혼합용매(4:1, v/v)에 첨가하여 기질용액을 조제하고, 기질용액 20 mL에 0.1 M phosphate buffer 19.3 mL와 시료용액을 0.02% 수준으로 첨가하여 40±1℃ 항온기에서 96시간까지 진탕반응 시키면서 시료를 채취하여 경시적으로 TBA가를 측정하였다. TBA가 측정은 시료 2 mL에 35% TCA(trichloroacetic acid)용액 1 mL와 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가하여 혼합한 후 끓는 수욕조에서 40분간 반응시킨 후 실온으로 냉각하고 acetic acid 1.0 mL와 chloroform 2.0 mL를 가해 3000×g에서 5분간 원심분리한 다음 상징액의 흡광도를 532 nm에서 측정하여 TBA값을 구하였다.

3) 자동산화에 대한 항산화효과

BPE를 에탄올에 녹인 후 기질유지인 corn oil에 각각 0.02% 및 0.1% 농도로 첨가하였으며 대조구로는 일정량의 에탄올만을 첨가한 corn oil을 사용하였다. 또한 기존 항산화제와의 항산화력을 비교하기 위하여 BHT와 α-tocopherol을 법정 허용량인 0.02%씩 첨가하여 사용하였다. 이와 같이 제조된 각 시료들은 60±2℃로 35일간 저장하면서 과산화물가(peroxide value, POV)와 공액이중산가(conjugated diene value, CDV)의 변화를 측정하였다. 과산화물가는 A.O.C.S. Cd8-53법[81]을 이용하여 meq/kg.oil로 나타내었으며, CDV는 A.O.C.S. Ti-64법[81]에 따라 UV-VIS spectrophotometer (DU® 650, Backman, U.S.A)를 사용하여 233 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Peroxide value (meq/kg.oil)} = \frac{(S - B) \times N \times 1000}{W}$$

S : 실험에서 소비된 $Na_2S_2O_3$

B : 대조 실험에서 소비된 $Na_2S_2O_3$

N : $Na_2S_2O_3$의 농도계수

W : 시료유지의 무게, g

$$\text{CDV}(\%) = 0.84\left(\frac{As}{bc} - K\right)$$

K : absorbtivity by acid or ester group

ester : K= 0.07

acid : K= 0.03

As : absorbance of oil at 233 nm

b : cell length(cm)

c : oil concentration(g/L) of the final

4) 상대적 항산화효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)

BPE의 유지에 대한 상대적 항산화효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)는 Ahn[82]의 방법에 따라 산출하였다. 기질로 사용한 옥배유의 과산화물가가 40 meq/kg oil에 도달하는 시간(day)을 유도기간(induction period, IP)으로 임의적으로 설정한 다음, 대조구의 유도기간에 대한 BPE가 첨가된 옥배유의 유도기간으로부터 다음 식에 따라 RAE를 산출하였다.

$$\text{상대적 항산화효과}(RAE) = \frac{IS}{IC} \times 100$$

IC : 대조구의 유도기간

IS : 시료 첨가구의 유도기간

6. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과

1) 시료

보리 도정부산물로부터 조제한 폴리페놀추출물(BPE)로서 맥강획분(BPE)과 배아획분(BPE Ⅳ)을 200ppm 농도의 음용수로 만들어 급여하였다.

2) 실험동물 및 당뇨유발

실험동물은 Sprague-Dawley rats(250±10 g)을 대상으로 각 군 8마리씩으로 하여 streptozotocin(STZ, A0130, Sigma)을 실험동물 체중 1 kg당 45 mg이 되도록 복강 주사하고 3일 후 안와채혈법으로 혈당을 측정하여 300 mg/dL 이상인 동물을 선별하였다.

3) 혈당측정

혈당은 Precision Plus TM Electrodes(Medisense Contract Manufacturing Ltd, United Kingdom)를 사용하여 2주 동안 측정하였다.

4) Liver index측정

2주간 200 ppm 농도의 음용수를 섭취한 당뇨쥐 간장의 무게를 쥐의 체중 100 g 당으로 환산하여 단위체중 당 간무게를 측정하여 liver index를 산출하였다.

5) 과산화억제 효과

In vitro상에서 맥강획분(BPE Ⅰ)과 배아획분(BPE Ⅳ)의 과산화억제 효과는 Bishayee의 방법[83]에 따라 반응액을 조제하고, Ohkawa 등의 방법[84]으로 반응액을 발색시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하여 지질과산화 억제율을 각 대조구의 흡광도에 대한 저해율(%)로 나타내었다.

$$\text{지질과산화 억제율}(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

A_0 : 대조구의 흡광도

A_1 : 시료첨가구의 흡광도

7. 파쇄립, 배아 등 도정부산물의 혈당강하 및 과산화억제 효과

1) 실험식이

실험식이는 보리의 도정부산물로서 파쇄립, 배아, 맥강의 3군으로 나누어 각각의 시료를 80~100 mesh체를 통과할 수 있는 분말상태로 만들고 이것으로 현탁액을 제조하여 하루 1회(1,000 mg/kg b.w) 경구투여 하였다.

2) 실험동물

실험동물은 평균체중이 250±10 g 내외의 Sprague-Dawley종 수컷을 일반 배합사료(삼양사)로 일주일간 예비사육한 후 실험군은 각군 8마리씩으로 하여 정상군(Normal), 당뇨대조군(DM), 시료처리군(DM-Bran, DM-Germ, DM-Broken kernel)으로 나누어 실험을 실시하였다. 이때 사육실의 온도는 22±1℃, 습도는 50±10%, 채광을 일정하게 유지하여 6주간 사육하였다.

3) 당뇨유발

당뇨유발은 실험 전 0.1 M sodium citrate buffer(pH 4.3)에 용해시킨 streptozotocin(STZ, A0130, Sigma)을 45 mg/kg b.w 복강 주사하였으며, STZ 주사 3일 후 안와채혈법으로 혈당을 측정하여 300 mg/dL 이상인 동물을 선별하였다.

4) 식이섭취량, 체중 증가량 및 식이효율

식이와 식수 섭취량 및 체중은 전 실험기간을 통하여 2일 간격으로 일정한 시간에 측정하였으며, 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 당뇨유발 후 일주일간 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

5) 혈당측정

혈당은 Precision Plus TM Electrodes(Medisense Contract Manufacturing Ltd, United Kingdom)을 이용하여 매주 측정하고, 실험결과는 SAS 통계프로그램을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 평균값과 표준오차로 나타내었다. 시료처리군의 효과 검증을 위해 one-way ANOVA로 분석하였으며, 군간의 유의성은 Duncan's multiple test를 이용하여 $p<0.05$에서 유의성을 검증하였다.

6) 검액시료의 전처리

실험동물을 척추 분리법으로 희생시킨 후 간장, 비장 및 신장을 적출하여 무게를 측정하였다. 간장은 채취하여 0.9% NaCl로 세척한 후 무게를 측정한 뒤 -80℃에서 급속 냉동시켰으며, homogenizer를 사용하여 10 mM 인산완충용액(pH 7.4)을 가하여 빙냉하에서 균질기로 마쇄하여 얻은 균질액 일부를(10%, w/v)을 13,000×g에서 10분간 원심분리하여 그 상징액을 과산화지질 측정에 사용하였다.

7) 혈액의 채취

혈액은 동물의 안구에서 채취하여 heparin이 처리된 시험관에 넣고, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하여 생화학적 지표를 측정하였다.

8) 혈청의 과산화지질 측정

혈청의 과산화지질은 Satoh의 방법[85]을 변형하여 측정하였다. Serum 0.5 mL에 20% TCA 1.0 mL를 가하여 교반한 후 원심분리를 하고 상징액 0.5 mL를 취하여 0.8% TBA 1 mL을 가하여 끓는 물에서 30분간 가열한 뒤 급냉하였다. n-Butanol 4 mL를 가하고 격렬하게 교반시켜 발색된 색소(chromogen)를 추출하고 원심분리(3,500 rpm, 10 min)하여 유기용매층을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화물 농도는 malondialdehyde로 calibration curve를 작성하여 농도를 계산하였다.

9) 간조직의 과산화억제 효과 측정

간조직의 과산화지질은 Ohkawa 등의 방법[84]에 의해 측정하였다. 전 처리된 간조직의 상징액 0.2 mL에 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) 0.2 mL, 20% acetic acid(adjusted to pH 3.5 with NaOH) 1.5 mL, 0.8% TBA 1.5 mL을 가하여 전체 부피를 4 mL로 조정한 다음 끓는 물에서 30분간 가열한 뒤 급냉하였다. n-Butanol 4 mL를 가하여 격렬하게 교반시켜 발색된 색소(chromogen)를 추출한 다음 원심분리(3,500 rpm, 10 min)하여 유기용매층을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{지질과산화 억제율}(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

A_0 : 대조구의 흡광도

A_1 : 시료첨가구의 흡광도

Ⅳ. 결과 및 고찰

1. 도정부산물로부터 분획한 맥강, 배아 및 파쇄립의 이화학적 특성

1) 일반성분

보리 도정부산물로서 맥강, 배아, 파쇄립의 일반성분을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 배아획분의 경우 조단백질, 조지방 함량이 각각 35.25% 및 14.65%로 시료들 중 가장 높은 값을 나타내었고 회분의 함량에 있어서도 6.13%를 나타내었는데 이와 같은 결과는 배아 획분이 우수한 영양원임을 말해주는 것이라 생각된다. 한편 전분이 주성분일 것으로 예상되는 bran Ⅱ 및 bran Ⅲ의 일반성분은 서로 큰 차이는 없었지만 bran Ⅲ이 bran Ⅱ에 비해 조단백과 조지방의 함량이 다소 높은 것으로 나타났는데 이는 외부 겨층의 혼입이 상대적으로 낮아짐에 따른 결과로 생각된다. 한편 전분함량의 경우 bran Ⅰ과 배아에서 가장 낮았고 내부 배유부의 혼입이 점차 증대되는 bran Ⅱ와 bran Ⅲ시료에서 각각 32~37% 정도를 나타내었으며 파쇄립은 65%정도를 나타내었는데 따라서 이들 획분은 향후 가공제품의 전분질 소재로 이용가능 할 것으로 판단된다.

Table 6. Proximate composition of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products[1)]

Constituents[2)]	Bran I	Bran Ⅱ	Bran Ⅲ	Germ	Broken-kernel
Moisture	24.36	10.81	9.80	7.18	10.79
Ash	3.59	2.03	2.12	6.13	0.80
Protein	13.54	16.80	17.86	35.25	9.60
Fat	4.57	5.11	5.32	14.65	0.90
Starch	7.65	32.31	36.56	4.78	64.90

[1)]Values are means of triplicate determinations.

[2)]% on a dry basis except moisture.

2) 색도

도정부산물의 색도를 color & color difference meter로 측정한 결과(Table 7) 도정율이 높아짐에 따라 색의 밝기를 나타내는 L값은 bran Ⅰ의 51.31에서 bran Ⅲ의 81.97로 높아진 반면 적색도를 나타내는 a값 및 황색도를 나타내는 b값의 경우에는 점차 낮아졌는데 이는 도정율이 높아짐에 따라 보리 내부 배유성분의 주를 이루고 있는 전분질의 혼입이 점차 증대된 때문이라 생각된다.

한편 도정부산물 전체를 통하여 볼 때 황색도인 b값 및 적색도인 a값의 경우 배아 획분이 가장 높은 18.35와 5.45로 측정되었다. 이와 같은 결과는 배아 획분에 카로틴 등 보리에 함유된 지용성의 식물성 색소가 다량 축적되어 있기 때문인 것으로 사료된다.

Table 7. Color and color difference meter reading[1)] of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products

	Bran[2)] Ⅰ	BranⅡ	BranⅢ	Germ	Broken-kernel
L	51.31	80.10	81.97	60.57	87.03
a	4.14	1.19	0.82	5.45	0.45
b	11.88	10.61	9.42	18.35	7.84
ΔE	39.22	14.75	12.85	37.10	9.07

[1)]L: lightness, a: redness, b: yellowness, ΔE: $[(\Delta L)+(\Delta a)+(\Delta b)]^{1/2}$.

[2)]Brans Ⅰ, Ⅱ and Ⅲ were collected from pearler 1-4, 5-20, and 21-24, respectively.

3) 입도

보리 도정부산물의 획분별 입도분포를 12~325 mesh의 표준망체를 사용하여 조사한 결과는 Table 8과 같다. Bran I은 육안으로 보아 겨층에서 유래되는 큰 입자의 것(30 mesh 이하)이 27% 정도를 차지하였으나 연마의 정도가 많아질수록 큰 입자의 것은 점차 감소하여 bran Ⅲ에는 30 mesh 이상의 큰 입자는 거의 함유되어 있지 않았다. 반면 Bran Ⅱ와 Ⅲ에서는 230 mesh 이하의 작은 미립자들도 다소 존재하는 것으로 나타났다. 한편 배아 획분에서는 18~60 mesh의 입자들이 98.2%를 차지하였고 파쇄립의 경우에도 14~18 mesh의 큰 입자들이 전체의 98.4%를 차지하였으나 100 mesh 이상의 미립자는 거의 존재하지 않았다.

Table 8. Particle size distribution(%)[1] of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products

Fractions	mesh										
	> 12	> 14	> 16	> 18	> 30	> 60	> 100	> 120	> 200	> 230	> 325
Bran[2] I	-	-	-	2.3	24.6	56.6	12.8	3.0	0.7	-	-
Bran Ⅱ	-	-	-	13.5	3.7	39.9	27.0	10.5	4.1	1.0	0.3
Bran Ⅲ	-	-	-	-	0.3	77.0	13.9	5.7	2.4	0.3	0.3
Germ	-	-	-	3.2	84.5	10.5	0.7	0.4	0.7	-	-
Broken-kernel	0.7	9.4	84.5	4.5	0.8	0.1	-	-	-	-	-

[1]30 min sieving by a Ro-Tap sieve shaker.

[2]Brans I, Ⅱ and Ⅲ were collected from pearler 1-4, 5-20, and 21-24, respectively.

4) 유리당의 조성 및 함량

획분별 시료의 유리당 함량을 측정한 결과(Table 9), bran Ⅰ ~ Ⅲ에서 총당의 함량은 2.61~3.43%의 범위로서 시료 간에 큰 차이를 나타내지 않았으나 배아 획분에서는 17.1% 정도의 높은 값을 나타내었는데 이 결과는 일반성분의 함량에서와 마찬가지로 배아에 영양성분이 다량으로 집적되어 있음을 간접적으로 말해주는 결과로 생각된다. 또한 각 획분에 함유된 유리형의 당류로서는 sucrose, glucose, fructose, maltose, raffinose 및 1-kestose 등이었고 이중 sucrose와 raffinose는 특히 배아 획분에 8% 이상의 높은 함량을 나타내었다. 한편 보리 곡립에 함유된 대부분의 유리형태의 당류들은 곡립의 성숙에 따라 점차 감소하지만 raffinose의 경우에는 오히려 증가하는 것으로 알려져 있으며 성숙된 곡립에는 총 유리당의 25% 정도에 달하며 sucrose가 약 74%를 이룬다고 보고[86]되어 있다. 이들 유리형태의 당류는 특히 곡류를 가열처리할 경우 유리당 들이 Maillard반응에 참여하여 볶음곡류 특유의 향 및 색깔생성에 큰 영향을 미칠 것으로 예상된다.

Table 9. Free sugar contents(%, dry basis) of brans, germ and broken-kernel in barley pearling by-products[1)]

Fractions	Glucose	Fructose	Sucrose	Raffinose	1-Kestose	Maltose
Bran[2)] I	0.72	2.15	0.12	0.27	0.15	-
Bran II	0.06	0.09	1.09	0.92	0.40	0.22
Bran III	0.02	0.06	1.28	0.76	0.38	0.07
Germ	0.03	0.06	8.77	8.17	0.08	-
Broken-kernel	0.10	0.09	0.80	0.60	0.36	0.05

[1)]Values are means of triplicate determinations.

[2)]Brans I, II and III were collected from pearler 1-4, 5-20, and 21-24, respectively.

5) Tocols

헥산 탈지한 보리 맥강과 배아의 토코페롤 및 토코트리에놀의 조성 및 함량을 HPLC로 분석하고 원료의 중량에 대해 환산한 결과는 다음 Table 10과 같다. 보리 배아에는 토코페롤로서는 α-, β-, ɣ-토코페롤, 그리고 미량의 δ-토코페롤이 함유되어 있는 반면 토코트리에놀의 경우에는 β-와 δ-토코트리에놀은 거의 없으나 α-와 ɣ-토코트리에놀 등이 함유되어 있었고 특히 α-토코페롤과 α-토코트리에놀의 함량이 각각 90.26 mg/kg 및 16,27 mg/kg으로서 주종을 이루고 있었다. 한편 bran 시료의 경우에는 토코페롤 및 토코트리에놀에 있어 bran Ⅱ 획분이 가장 높은 값을 나타내어 tocols의 면에 있어 주요한 부위인 것으로 나타났으며 특히 ɣ-토코트리에놀은 10.33 mg/kg으로 가장 높은 값을 보였다. 이와 같은 결과는 Barnes[87]와 Wang 등[88]이 보리의 도정과 제분공정을 통해 얻어지는 보리획분의 토코페롤 및 토코트리에놀 함량 측정결과와 유사한 경향으로 나타났으며, 또한 Peterson 등[89]은 tocols의 대사조절 작용과 항산화능을 보고하여 그 기능성을 보고하였다.

곡물류의 종자나 강층에서 주로 발견되는 지용성의 천연 항산화제인 tocols는 강력한 항산화효과를 발휘하고, LDL-cholesterol의 감소효과가 있으며 특히 생체막 조직에서 인지질의 천연 항산화제로서의 역할을 하여 체내대사를 정상적으로 유지하는데 큰 기능을 하는 것으로 알려져 있으며 또한 체내 과산화지질을 축적하고 이로 인해 생체 기능을 저하시키는 동시에 노화 및 성인병 질환을 일으키는 활성산소를 조절할 수 있는 물질로도 알려져 있어 보리 맥강과 배아의 천연 항산화제로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

보리를 식용으로 하기 위해 도정, 할맥 또는 압맥 등으로 가공처리시 도정 부산물로 발생하는 맥강, 배아, 파쇄립에 대한 이화학적 특성을 조사한 결과 유리당의 조성 및 함량은 bran 시료의 총당 함량이 2.61~3.43% 범위로 시료간에 큰 차이가 없었으나 배아 획분은 17.1%로 높은 함량이 측정되었다. 유리형 당류로서 sucrose, glucose, fructose, maltose, raffinose 및 1-ketose가 검출되었고 특히 배아 획분에 sucrose, raffinose가 8% 이상 높은 함량을 나타낸 것이 특징적이었다. 토코페롤 및 토코트리에놀의 조성과 함량을 HPLC로 분석한 결과 배아 획분에는 α-토코페롤과 α-토코트리에놀이 90.26 mg/kg 및 16.27 mg/kg으로서 주종을 이루었고 bran 획분 시료에서는 토코페롤 및 토코트리에놀이 bran Ⅱ획분에서 가장 높은 값을 나타내었으며 특히 γ-토코트리에놀의 경우 10.33 mg/kg으로 획분 중 가장 높은 값을 보였다.

Table 10. Total tocol concentration(mg/kg) in oil of brans, germ and broken-kernel[1)]

Fractions	Isomer[3)]									T3
	α-T	α-T3	β-T	β-T3	ɣ-T	ɣ-T3	δ-T	δ-T3	Total	(%)
Bran[2)]I	3.27	3.47	-	2.73	1.23	2.66	-	0.57	13.93	67.70
Bran II	3.88	16.10	-	-	8.14	10.33	-	2.52	40.97	70.66
Bran III	1.07	5.50	-	-	7.43	7.03	-	2.15	23.18	63.33
Germ	90.26	16.27	1.47	-	18.64	4.67	-	-	131.31	15.95
Broken-kernel	2.76	7.81	-	-	3.46	1.94	-	0.23	16.20	61.61

[1)]Values are means of triplicate determinations.

[2)]Brans I, II and III were collected from pearler 1-4, 5-20, and 21-24, respectively.

[3)]T, tocopherol; T3, tocotrienol

2. 보리 도정부산물로부터 분리한 폴리페놀추출물(BPE)의 특성

1) 총 폴리페놀 함량

보리 도정부산물의 획분별 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 11과 같다. 즉 보리의 최외층 부위인 껍질의 혼입량이 가장 많은 bran I은 5.82%로 가장 높은 값을 나타낸 반면 도정율이 높아져 외층부의 혼입비율이 점차 줄어들게 된 bran II와 III에 있어서는 총 폴리페놀의 함량이 점차 감소하는 것으로 나타났다. 한편 보리 외층부의 혼입이 없는 파쇄립은 총 폴리페놀 함량은 1.26%로서 시료 중 가장 낮은 값을 나타내었는데 이는 보리에 존재하는 폴리페놀성 물질이 보리의 외층부인 껍질과 호분층 등에 다량 집적되어 있고 보리의 내부 배유 부위에는 그 함량이 상대적으로 낮게 함유되어 있기 때문인 것으로 사료된다. 배아획분에서는 보리 외층부의 혼입이 거의 없음에도 불구하고 총 폴리페놀 함량이 3.23%로서 bran I 다음으로 높은 수준을 나타내었다.

이와 같이 동일한 방법으로 BPE를 조제하더라도 획분별 폴리페놀함량에 차이가 있음을 확인한 결과 보리폴리페놀 추출물을 얻기 위해서는 bran I 이 가장 우수한 소재임을 알 수 있었다.

한편 보리 도정부산물로부터 조제한 BPE의 수율은 1~10 g/kg 정도이었고 도정부산물의 획분별 BPE에 함유된 총 폴리페놀함량은 Table 11에 나타나 있다.

Table 11. Total polyphenol contents in barley pearling by-products and barley polyphenol extract(BPE)

	Bran I	Bran II	Bran III	Germ	Broken kernel
Polyphenol(%) in pearling by-products	5.82	1.80	1.34	3.23	1.26
Polyphenol(%) in BPE	43.68	27.72	19.64	11.92	17.56

2) BPE의 산화안정성

일반적으로 식물체의 총 폴리페놀 함량과 전자공여작용 사이에는 밀접한 양의 상관관계가 있다는 것이 알려져 있는데 본 실험에서도 보리의 경우 폴리페놀 성분은 보리 배유부위 보다 외층부위 또는 배아획분에 더 많이 함유되어 있는 것으로 나타났다(Table 11).

따라서 보리 도정부산물로부터 얻은 획분별 BPE의 산화안정성을 전자공여작용, ACE 저해작용, 아질산염 소거작용 및 SOD 유사활성 등을 통하여 검토하였다. Fig. 2는 산화안정성을 DPPH와의 반응양상으로 측정한 결과이다. 즉 시료 첨가구와 시료 무첨가구의 흡광도를 이용하여 백분율로 나타낸 EDA(%)를 구하고 DPPH의 환원반응이 더 이상 일어나지 않는 steady state 상태에 이르는 시간을 약 30분으로 설정하여 전자공여능을 측정하고 초기 DPPH농도가 50% 감소될 때까지 필요한 항산화물질의 농도 EC_{50}을 비교해 본 결과 bran Ⅰ이 1.59 mg/mL로 가장 효과적이었으며, 다음이 배아 획분의 4.37 mg/mL이었고 bran Ⅲ에서는 7.19 mg/mL로 효과가 낮았다. Tamagawa 등[41]은 맥강 폴리페놀추출물의 수퍼옥사이드에 대한 소거활성을 측정한 결과 그 소거능이 아스코르브산 보다 적었으나 토코페롤, BHA, BHT보다 큰 소거능을 나타내었는데 이는 맥강 중의 proanthocyanin 소량체에 의한 강한 항산화능이라고 보고하였다.

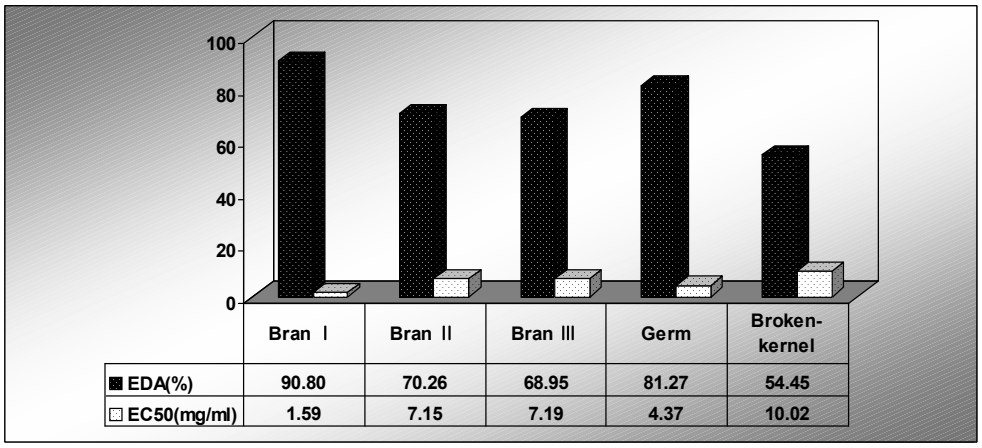


Fig. 2. Antiradical activities of barley polyphenol extracts separated from pearling by-products.

한편 획분별 BPE의 ACE저해작용을 측정한 결과(Table 12), 배아 획분이 40.04%로 가장 높았고 다음이 bran I의 25.25%이었으며 보리 외부 겨층의 혼입이 적은 bran III은 16.35%로 낮은 값을 나타내었다. 이와 같이 맥강 및 배아획분으로부터 얻은 BPE의 ACE저해작용은 맥강 획분에 비해 배아 획분에서 더 높게 나타나 총 폴리페놀함량 측정결과와 양의 상관관계를 나타내지 않았는데 이에 대한 이유는 현재로서는 설명이 어려워 향후 이에 대한 보다 면밀한 조사가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 반면 BPE의 아질산염 소거작용을 측정한 결과에서는 bran III의 72.59%에서 bran I의 74.64% 사이로서 획분간에 큰 차이가 없었으며, SOD 유사활성의 경우에는 Fig. 4의 산화안정성 측정 결과와는 달리 bran Ⅱ의 것이 78.16%로 SOD 유사활성이 가장 높고 배아 획분의 것이 45.91%로 낮은 값을 보였다.

Table 12. ACE inhibiting ability, nitrite-scavenging effect and SOD-like activity of barley polyphenol extracts separated from pearling by-products

	ACE inhibiting ability (%)	SOD-like activity (%)	Nitrite-scavenging effect (%)
Bran Ⅰ	25.25	63.94	74.64
Bran Ⅱ	18.84	78.16	73.25
Bran Ⅲ	16.35	59.57	72.59
Germ	40.04	45.91	73.04
Broken kernel	6.09	6.38	64.08

이상의 결과와 같이 획분별 BPE의 ACE저해작용은 배아 획분이 40.04%로 가장 높았고, 아질산염 소거작용은 모든 획분에서 70%이상의 소거능을 나타내었는데 특히 broken kernel은 식용으로 사용하는 보리쌀과 거의 같은 성분조성을 이루고 있으므로 보리쌀의 식품소재로서의 우수성도 확인 할 수 있었으며 SOD 유사활성은 bran Ⅰ과Ⅱ에서 64~78% 내외로 높은 활성을 보이는 점 등을 고려하여 볼 때 보리 도정부산물로부터 얻은 폴리페놀추출물은 향후 라디칼 소거활성이나 항산화성을 강조할 수 있는 기능성 식품 소재로서의 활용 가능성을 말해주는 것이라 사료된다.

3) HPLC에 의한 BPE의 분리

폴리페놀계 표준물질을 HPLC로 분리한 결과는 Fig. 3와 같다. 즉 phenol 류(protocatecuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid 등)와 flavanol 류 (catechin, epicathechin)는 전반부에서 용리되었고 dihydrochalcone 류 (phloridzin 등)와 flavonol glycoside 류(rutin 등)은 RT 40분 이후의 후반부에서 분리되었다. 이는 Oleszek 등[90] 및 Vallés 등[72]의 결과와 유사한 양상이었으므로 proanthocyanin 류는 flavanol 류 전후에서 용리될 것으로 추정되었다.

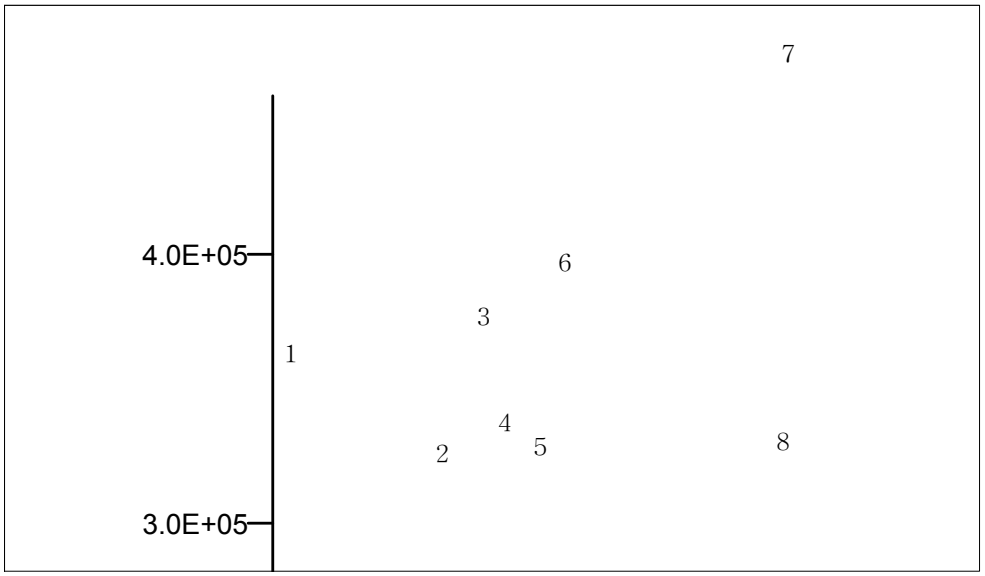


Fig. 3. HPLC chromatogram of authentic phenolic compounds.
1, protocatecuic acid; 2, caffeic acid; 3, catechin; 4, p-coumaric acid; 5, epicatechin; 6, chlorogenic acid; 7, phloridzin; 8, rutin.

보리 도정부산물로부터 얻은 BPE의 페놀성 화합물의 분리양상을 동일 분리 조건에서 비교한 결과는 Fig. 4과 같다. Bran Ⅰ은 분리피크의 수가 가장 많았을 뿐만 아니라 분리 전반부에 다수의 피크들이 나타난 반면 bran Ⅱ와 배아 획분의 경우에는 33분대에 주된 피크가 검출되었다. 이 피크는 bran Ⅱ에서 가장 높았으며 추출액 10배 희석액을 기준으로 bran Ⅱ의 피크면적이 bran Ⅰ의 10배에 해당하였다. 한편 HPLC에 의한 분리에서는 Vallés 등[72]이 보고한 proanthocyanin B1은 RT31.14로 catechin(RT 35.79) 앞에, proanthocyanin B2는 RT 38.84에서, 그리고 proanthocyanin C1 trimer와 tetramer는 각각 RT 43.23과 43.70으로 epicatechin(RT 45.33) 앞에서 분리된다는 결과와 일치하였다. Jaworski 등[91]도 procyanidin B3(RT 9.4), cathechin(RT 13.0), procyanidin B2(RT 20.2), epicathechin (RT 20.2) 순으로 분리됨을 보고한 바 있다. 따라서 본 시험에서와 같은 분석조건에서는 proanthocyanin C1(trimer)와 tetramer는 epicatechin 바로 앞에서, proanthocyanin B1과 B3는 cathechin 앞에서, B2는 catechine과 epicathechin 중간에서 검출되므로 bran Ⅰ은 proanthocyanin C trimer 혹은 tetramer 및 B3가 존재할 것으로 추정되었다. McMurrough 등[56]은 보리로부터 procyanin B3, prodelphinidin B3, trimers를 분리한 바 있다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 bran Ⅱ와 배아 BPE에서 나타나는 33분대 주요 피크는 RT 순으로 볼 때 포도[92]나 사과[72]의 proanthocyanin에서는 존재하지 않는 종류인 것으로 보아 보리에 존재한다고 보고된 prodelphinidin 다량체 일 것으로 추정되었다.

보리에는 procyanidin 류 외에도 골격의 B환이 pyrogallol 형으로 되어 있는 prodelphinidins도 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 이 같은 형의 페놀성 화합물은 B환이 catechol형인 procyanidin 보다 항산화 및 항변이원성이 큰 것으로 보고[41]되어 있다. 따라서 보리 배아획분의 강한 항산화 효과는 33분대 주요 피크의 함량이 높은 것과 관련이 있을 것으로 추정되었다.

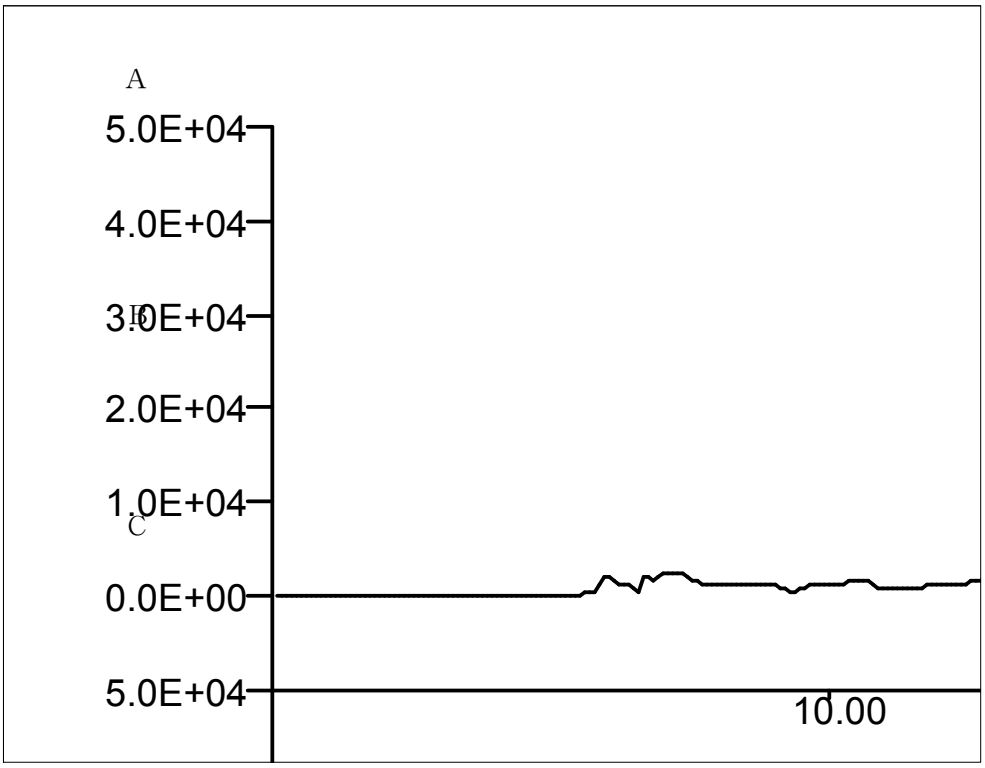


Fig. 4. HPLC chromatograms of phenolic compounds in barley polyphenol extracts separated from pearling by-products.

A, Bran Ⅰ; B, Bran Ⅱ; C, Germ.

4) Sephadex LH 20에 의한 BPE의 분획 및 특성

n-Hexane으로 탈지시킨 맥강 및 배아획분 시료를 75% 에탄올로 폴리페놀류를 추출한 다음 Sepabead SP-850 수지를 사용하여 대맥강에 함유된 폴리페놀류 획분 시료를 조제하였고 얻어진 폴리페놀류(BPE Ⅰ)에 대해 Sephadex LH-20을 사용한 칼럼크로마토그래피로 플라바놀을 분취하였다. 얻어진 각각의 획분을 농축하여 그 양을 측정하고 색상 및 향 등의 관능특성을 검토한 후 각 분취물의 총 폴리페놀함량을 측정한 결과는 Table 13 및 Fig. 5와 같다. 즉 총 폴리페놀함량이 Fraction 5에서 4.33%로 가장 높게 측정되었으며, fraction 1, 2, 9는 0.41～1.04%로 가장 낮았고, fraction 3, 4 분획물의 경우는 각각 3.26% 및 3.68%로 fraction 5 다음으로 높은 함량을 나타내었다.

그러나 Table 13의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 BPE로부터 얻을 수 있는 proanthocyanidin 함량은 높지 않아 이를 기능성물질로 순수 단리하여 활용하는데는 경제적인 관점에서 실질적으로 어려움이 있는 것으로 판단되었다.

따라서 본 연구에서는 유지에 대한 항산화성이 합성 항산화제인 BHT, BHA와 동등 또는 그 이상의 효력을 발휘하는 실험결과를 보인 BPE를 대상으로 이에 대한 추출 및 분리규모를 scale up하여 실용화를 위한 방안을 모색하였다.

Table 13. Characteristics of each fractions from BPE by Sephadex LH 20 column chromatography

Fractions	Yield(g)	Total polyphenol (g %)	Color	Aroma
Pre 500(F1)	0.45	1.04	yellowish brown	light barley bran smell, smell like boiled soy sauce
Pre 500(F2)	0.04	0.57	yellowish red, reddish yellow	light fragrance, but not unique barley flavor
Waste 500(F3)	0.17	3.26	yellowish brown	unique barley flavor
F4	0.07	3.68	light yellowish brown	odorless
F5	0.11	4.33	light yellow	odorless
F6	0.06	2.17	light yellow	odorless
F7	0.06	1.53	light gray	odorless
Main500(1)(F8)	0.04	1.72	gray-reddish yellow	odorless
Main500(2)(F9)	0.03	0.41	gray-reddish yellow	odorless

F1. Methanol fraction(500 mL) after connected pre and main column of Sephadex LH 20.

F2. Methanol : acetone(1:1) fraction(500 mL) from pre column after separated pre column.

F3. First eluate(500 mL) from main-column washing with 3 L of methanol after separated pre and main column.

F4. Refer to Fig. 7.

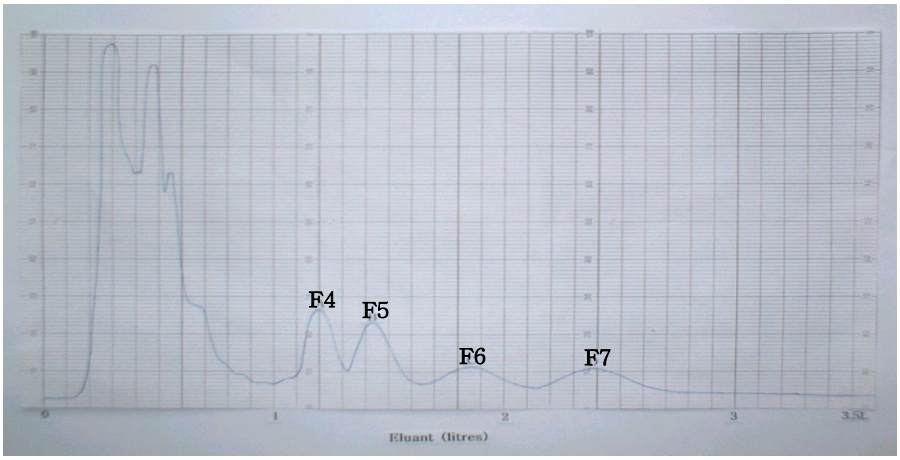
F5. Refer to Fig. 7.

F6. Refer to Fig. 7.

F7. Refer to Fig. 7.

F8. Last eluate(1 L) from main-column washing with methanol(1).

F9. Last eluate(1 L) from main-column washing with methanol(2).



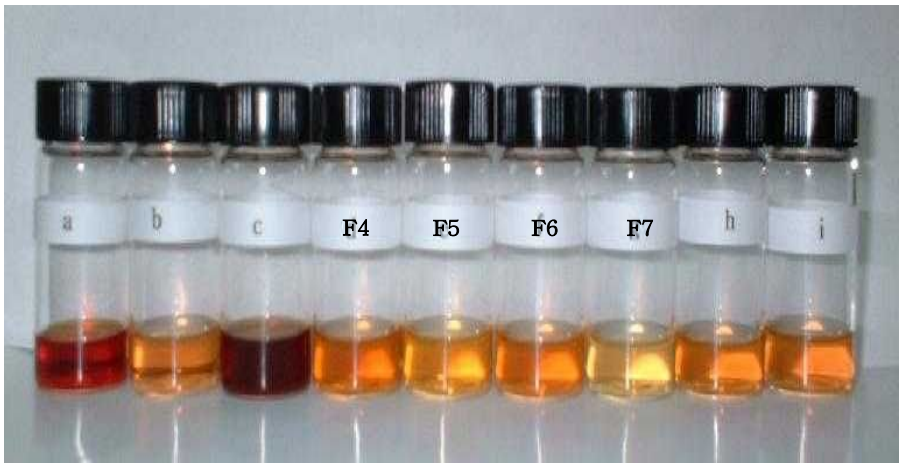


Fig. 5. Separation of flavanol from BPE by Sephadex LH 20 column chromatography. F1~F9; Refer to Table 12.

5) TLC에 의한 플라바놀의 분리

Sephadex LH-20 컬럼에 의해 분취된 보리 플라바놀 성분을 2종류의 TLC로 분리한 양상을 Fig. 6에 나타내었으며 이때 표준물질로는 vanillic acid, caffeic acid, (+)catechin, (-)epicatechin, ferulic acid, p-coumaric acid, syringic acid, procyanidin B3 및 prodelphinidin B3 등을 사용하였다. 그 결과 (+)catechin, (-)epicatechin 및 프로안토시아니딘계의 procyanidin B3 및 prodelphinidin B3는 분리가 잘 이루진 반면 탄닌계 화합물의 분리는 잘 이루어지지 않았다. 또한 대맥강 폴리페놀추출물(BPE I)과 Sephadex LH 20 크로마토그래피로 얻은 9종의 플라바놀 분취물을 각각 TLC에 전개시켜 표준물질과 R_f값을 비교한 결과 BPE I의 경우 R_f 0.42, 0.51, 0.59, 0.74의 4개의 피크로 분리되어 표준물질의 R_f값과 비교해 본 결과 순서에 따라 procyanidin B3, prodelphinidin B3, (+)catechin 및 ferulic acid와 일치하는 것으로 나타났다. 또한 9종(F1～F9) 분취물의 TLC 전개양상을 살펴보면 F3 획분에서 R_f값이 낮은 프로안토시아니딘계의 procyanidin B3, prodelphinidin B3과 같이 분자량이 높은 물질과 (+)catechin과 ferulic acid가 분리되었으며, F4와 F5에서는 procyanidin B3 및 prodelphinidin B3으로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

본 시험의 결과 silica gel이나 cellulose plate 모두에서 spot의 패턴은 유사하게 나타났으며 획분의 분자량이 클수록 spot의 이동속도가 감소하는 것으로 나타났다.

Fig. 6. Thin layer chromatogram of flavanol fractions(F1-F9).

Absorbent; silica gel 60F254, solvent system; toluene:acetone:formic acid (30:60:10), visualization; charring by heating with dimethylaminocinnam-aldehyde(DAC) reagent.

PC; procyanidin B3, PD; prodelphinidin B3, CT; (±)catechin, FR; ferulic acid, CA; caffeic acid

6) HPLC에 의한 hydroxycinnamic acid의 분리 및 정량

보리 도정부산물별 폴리페놀추출물(BPE)의 hydroxycinnamic acids성분을 HPLC를 이용하여 분리한 결과(Fig. 7, 8), ferulic acid와 p-coumaric acid가 모든 시료군에서 검출되었으나 특히 BPE I 에서 각각 2.854±0.015 mg/g 및 0.203±0.034 mg/g 으로 그 함량이 높은 것으로 나타났다.

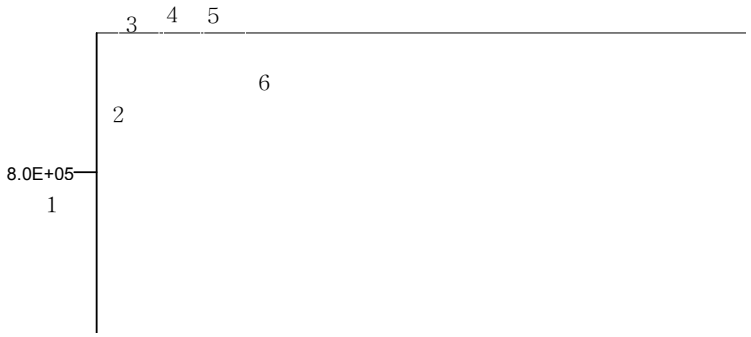


Fig. 7. HPLC chromatogram of authentic hydroxycinnamic acids.
1, protocatecuic acid; 2, vanillic acid; 3, caffeic acid; 4, syringic acid
5, p-coumaric acid; 6, ferulic acid

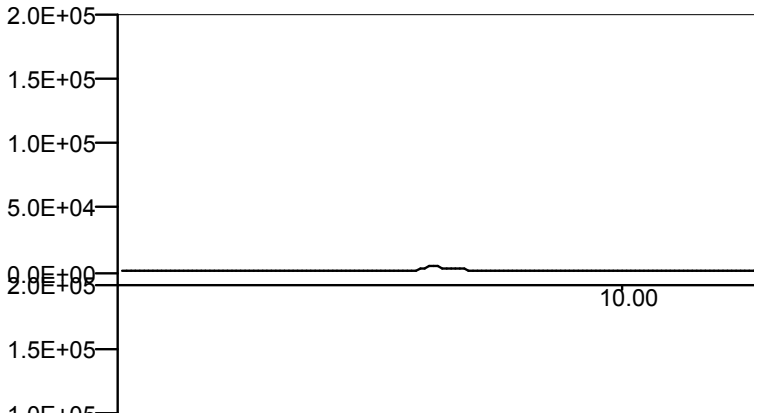


Fig. 8. HPLC chromatograms of hydroxycinnamic acids in BPE separated from barley pearling by-products. upper; bran I, middle; bran II and III, bottom; germ.

A; p-coumaric acid, B; ferulic acid

7) BPE의 저장안정성

① 총 폴리페놀 함량의 변화

대맥강으로부터 얻어진 담갈색 분말인 폴리페놀추출물(BPE)을 대상으로 온도 및 산소의 유무에 따른 안정성을 검토하였다. BPE분말을 0~9주 동안 실온상태와 37℃의 항온기에서 조건별로 저장하면서 총 폴리페놀함량을 측정한 결과(Table 14), BPE는 저장온도 및 산소의 유무에 따른 큰 차이를 보이지 않았다. 즉 실온에서는 총 폴리페놀함량이 저장 6주 후에 초기값에 비해 11.68% 정도의 감소를 보였고, 37 ℃의 경우에도 13.31% 정도의 감소를 보였지만 이후에는 더 이상의 큰 감소는 나타나지 않았다.

Table 14. Changes of total polyphenol content in BPE during storage at different conditions

Time(week)	Room temp		37℃	
	N_2[1)]	Air[2)]	N_2[1)]	Air[2)]
0	41.95±0.02	41.38±0.13	41.48±0.05	41.30±0.20
1	41.56±0.15	40.66±0.08	41.25±0.04	41.47±0.05
3	41.49±0.11	38.10±0.04	40.52±0.06	42.34±0.09
6	37.05±0.04	37.26±0.15	35.96±0.01	36.30±0.30
9	36.21±0.04	37.09±0.03	35.34±0.25	35.94±0.02

[1)]N_2, [2)]O_2

② 전자공여능(Electron Donating Ability , EDA)

보리 폴리페놀추출물의 DPPH(α, α-diphenyl-β-picrylhydrazyl)에 대한 전자공여능을 추출물농도 0.005%수준에서 저장온도와 기간에 따라 측정한 결과는 Table 15와 같다. 전자공여능에 있어서도 총 폴리페놀함량 측정 결과와 유사한 경향으로 저장 온도 및 저장 기간에 따른 큰 변화가 없었으며 저장 9주 경과시 약 6~8%정도 감소하는 결과를 보여 보리 도정부산물로부터 얻은 폴리페놀추출물(BPE)의 저장 안정성을 재확인할 수 있었다.

Table 15. Changes of EDA(%) in BPE during storage at different conditions

Time(week)	Room temp		37℃	
	N_2[1)]	Air[2)]	N_2[1)]	Air[2)]
0	91.79±0.05	91.22±0.02	91.83±0.08	91.86±0.03
1	90.34±0.02	91.05±0.03	90.87±0.12	90.37±0.35
3	88.09±0.22	87.66±0.13	87.94±0.33	87.84±0.19
6	85.63±0.03	84.17±0.11	85.92±0.05	85.29±0.10
9	84.03±0.09	84.43±0.14	85.72±0.04	84.21±0.31

[1)]N_2, [2)]O_2

3. 보리 폴리페놀추출물(BPE)의 항산화력

1) 리놀산에 대한 항산화력 검정

Linoleic acid(0.03 M)를 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol 혼합용매(4:1, v/v)에 첨가하여 조제한 기질용액을 40℃에서 84시간 동안 저장하면서 TBA가를 측정한 결과는 Table 16 및 Fig. 9과 같다. Bran Ⅲ으로부터 분리한 BPE는 α-tocopherol과 비슷한 항산화력을 나타내었으나 bran Ⅰ, 배아시료에서는 α-tocopherol 보다는 월등히 높은 항산화력을 나타내었고 BHT와는 거의 유사한 정도의 항산화 효과를 보여주었다. Kong 등[93]은 신갈나무 잎을 용매 분획별 추출물을 이용하여 linoleic acid 모델계에서 항산화력을 측정한 결과 0.02% 농도에서 헥산과 클로로포름 분획물이 합성 항산화제인 BHT와 유사한 정도의 항산화효과를 보고한 바 있다. 그리고 Tamagawa 등[94]은 대맥강 폴리페놀추출물의 리놀산에 대한 항산화능을 TBA법과 로단철법으로 측정한 결과 TBA법에 의한 평가에서는 대조구에 비하여 대맥강 폴리페놀 추출물 존재 하에서 항산화효과는 약 75%정도 컸으며 그 항산화력은 BHA, BHT보다는 약간 적었지만 아스코르브산이나 토코페롤보다는 그 효과가 컸다고 보고하였으며, 로단철법에 의한 평가에서는 BHT와 아스코르브산 보다는 낮았지만 BHA, 토코페롤과 비교하여 그 효과가 우수함을 보고하였다.

Table 16. Antioxidative effects of various antioxidants on the linoleic acis stored at 40℃ for 84 hours.

	Storage period(hours)							
Samples[1)]	0	12	24	36	48	60	72	84
CON	0.0286	0.0805	0.2734	1.0313	1.6756	1.1817	1.0242	0.9635
TOC	0.0213	0.0381	0.0437	0.0709	0.0571	0.0702	0.0836	0.0562
BHT	0.0242	0.0163	0.0094	0.0221	0.0109	0.0196	0.0168	0.0220
BPE-B Ⅰ	0.0508	0.0249	0.0408	0.0509	0.0411	0.0197	0.0385	0.0347
BPE-B Ⅱ	0.0292	0.0253	0.0295	0.0331	0.0274	0.0224	0.0277	0.0255
BPE-B Ⅲ	0.0292	0.0702	0.0353	0.0331	0.0274	0.0224	0.0277	0.0255
BPE-Germ	0.0290	0.0108	0.0170	0.0227	0.0176	0.0386	0.0207	0.0611

[1)]BPE-B Ⅰ ~BPE-B Ⅲ, Barley polyphenol extract from bran fractions;
BPE-Germ, Barley polyphenol extract from germ fraction.
CON; Control, TOC; Tocopherol

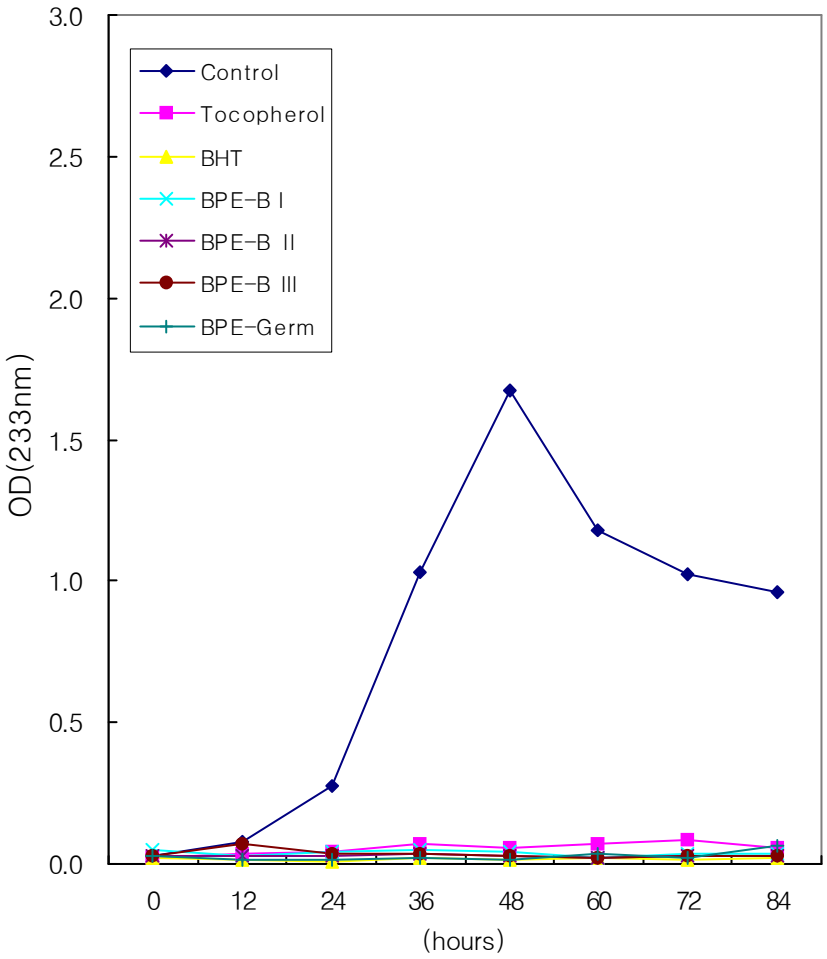


Fig. 9. Antioxidative activities of barley polyphenol extract(BPE) separated from bran and germ fractions.

2) 유지의 자동산화에 대한 BPE의 항산화 효과

보리 폴리페놀추출물(BPE)의 자동산화시 유지에 대한 항산화 효과를 측정하기 위하여 획분별 BPE를 각각 0.02%의 농도로 기질 유지인 corn oil에 첨가하고 60±2℃에서 35일간 항온저장하면서 5일 간격으로 취하여 과산화물가(peroxide value : POV)와 공액이중산가(conjugated diene value : CDV)를 측정한 결과는 다음과 같았다.

①POV((Peroxide Value)의 변화

BPE의 유지에 대한 항산화 효과를 알아보기 위해 획분별 BPE를 각각 0.02% 옥배유에 가하여 60±2℃에서 저장기간 중 과산화물가의 변화는 Table 17 및 Fig. 10과 같았다.

Control은 초기 과산화물가가 2.78 meq/kg.oil 이던 것이 저장 15일에 109.00 meq/kg.oil로 과산화물가가 100 meq/kg.oil 이상이 되었으며 저장 35일에는 361.07 meq/kg.oil에 도달하였다.

α-Tocopherol과 BHT는 저장 15일에 각각 92.50 및 70.76 meq/kg.oil로 과산화물가가 매우 낮았으며 BPE Ⅰ, BPE Ⅱ, BPE Ⅲ 및 BPE-Germ 0.02% 첨가군은 저장 15일에 각각 70.94, 70.11, 91.09 및 86.64 meq/kg.oil로 α-tocopherol 및 BHT와 같이 과산화물가가 낮게 측정되어 저장 초기 10일에서 15일 까지는 α-tocopherol과 BHT와 유사한 항산화력을 지니거나 보다 높은 항산화력을 보여 주었다.

또한 100 meq/kg · oil에 도달하는 기간을 유도기간으로 정하고 이에 따른 상대적 항산화효과를 측정한 결과(Table 18), BPE Ⅰ, BPE Ⅱ 및 BPE Ⅲ 획분의 경우 0.02% 첨가 시 RAE값은 118~128로서 α-tocopherol의 112 보다는 더 높고 BHT의 126과는 대등한 항산화효과를 나타내었다. 특히 BPE I의 경우 0.1% 첨가구에서는 유도기간 및 RAE값이 각각 12.3일 및 135로서 BHT보다 항산화 효과가 더욱 우수한 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 Tamagawa 등의 보고[94]와 일치하는 결과로서 리놀산 등 불포화지방산을 함유한 식품에 대해 우수한 항산화작용을 갖는 것으로 보아 이들 획분은 향후 천연 항산화제로서의 활용 가능성이 있을 것으로 사료되었다.

Table 17. Peroxide values of the corn oil containing of various antioxidants stored at 60±2℃ for 35 days

	Storage period(days)							
Samples[1)]	0	5	10	15	20	25	30	35
CON	2.78	23.27	43.75	109.00	148.02	191.50	251.98	361.07
TOC	2.46	17.50	39.11	92.50	127.72	200.50	238.73	396.03
BHT	2.43	7.00	26.21	73.76	115.50	151.96	190.00	271.11
BPE-B Ⅰ	2.50	4.46	25.25	70.94	121.37	173.30	201.50	328.05
BPE-B Ⅱ	2.56	5.30	28.78	70.11	112.37	149.70	170.42	250.20
BPE-B Ⅲ	3.02	11.50	31.07	91.09	125.50	159.50	188.24	300.49
BPE-Germ	2.94	6.35	33.50	86.14	125.50	164.50	190.00	306.93

[1)]BPE-B Ⅰ ~BPE-B Ⅲ, Barley polyphenol extract from bran fractions;
BPE-Germ, Barley polyphenol extract from germ fraction.
CON; Control, TOC; Tocopherol

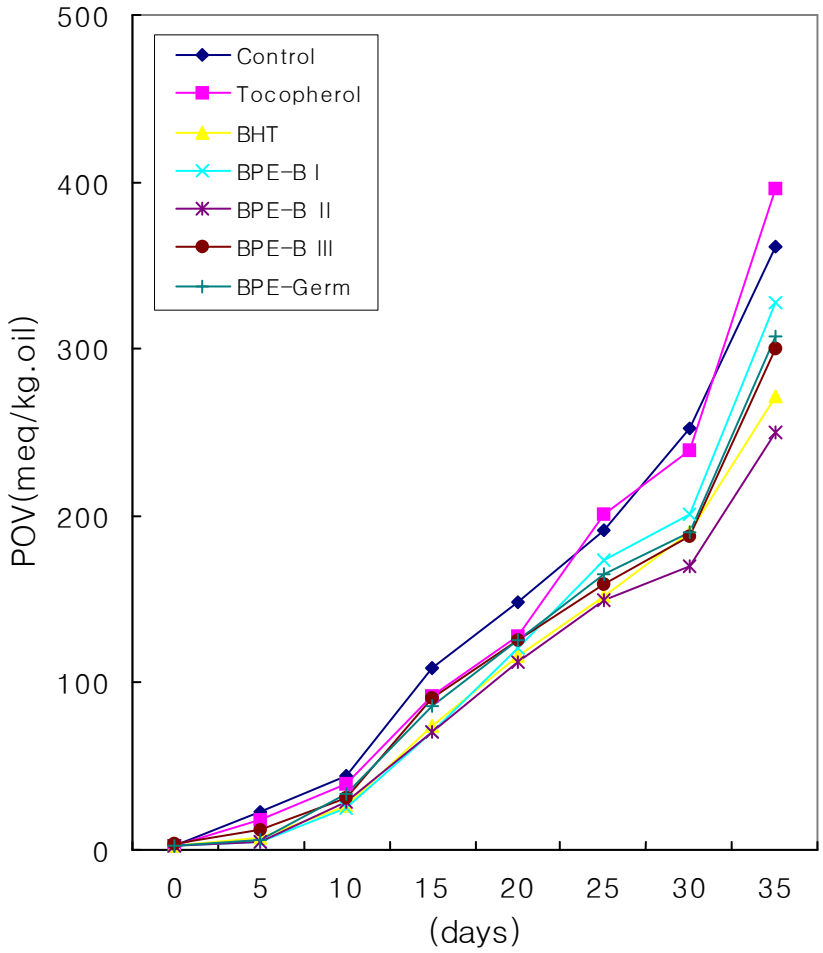


Fig. 10. Changes in peroxide values of the corn oil containing 0.02% of BPE from bran and germ fractions at 60±2℃ for 35 days.

Table 18. Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness(RAE) of the corn oil containing BPE from bran and germ fractions at 60±2℃

Antioxidant[1)]	Added-concentration	IP(days)	RAE
CON	-	9.1	100
TOC	0.02	10.2	112
BHT	0.02	11.5	126
BPE-B Ⅰ	0.02	11.6	128
	0.10	12.3	135
BPE-B Ⅱ	0.02	11.4	125
	0.10	11.8	130
BPE-B Ⅲ	0.02	10.7	118
	0.10	11.1	122
BPE-Germ	0.02	11.0	121
	0.10	12.1	133

[1)]BPE-B Ⅰ ~BPE-B Ⅲ, Barley polyphenol extract from bran fractions; BPE-Germ, Barley polyphenol extract from germ fraction.
CON; Control, TOC; Tocopherol

②CDV(Conjugated Diene Value)의 변화

BPE의 유지에 대한 항산화 효과를 측정하기 위하여 획분별 BPE를 각각 0.02%의 농도로 기질 유지인 corn oil에 가하여 60±2℃에서 35일간 저장하면서 측정한 공액이중산가에 의한 항산화효과는 Table 19과 Fig.11과 같았다.

Control은 초기 공액이중산가가 0.25%이던 것이 저장 15일에는 1.54%, 저장 35일에는 5.60%이었으며 α-tocopherol 첨가구는 저장 15일에 1.50%로 control보다는 산화가 덜 진행되었으나 저장 35일에는 6.39%까지 상승하여 저장 말기에 산화가 더 빨리 진행되었음을 알 수 있었다. 반면 BHT 첨가구는 저장 35일까지 3.98%로 control보다 비교적 낮은 공액이중산가를 보여 우수한 항산화효과를 보여주었다.

BPE Ⅰ, BPE Ⅱ, BPE Ⅲ 및 BPE-Germ 0.02%를 첨가한 경우 공액이중산가는 저장 15일에 각각 1.31, 1.35, 1.39 및 1.44%로 control, α-tocopherol보다 낮고 BHT보다는 다소 높았으나 큰 차이를 보이지는 않았다. 본 실험에서도 보리 폴리페놀추출물(BPE)의 유지에 대한 항산화효과는 우수한 것으로 확인되었다.

Table 19. Conjugated diene values of the corn oil containing of various antioxidants stored at 60±2℃ for 35 days

	Storage period(days)							
Samples[1)]	0	5	10	15	20	25	30	35
CON	0.25	0.64	1.23	1.54	2.42	2.65	3.78	5.60
TOC	0.25	0.59	1.09	1.50	2.66	3.09	5.17	6.39
BHT	0.25	0.41	0.95	1.28	1.59	2.06	3.23	3.98
BPE-B Ⅰ	0.25	0.44	1.12	1.31	1.87	2.10	3.16	4.06
BPE-B Ⅱ	0.25	0.57	1.14	1.35	2.06	2.49	3.34	4.24
BPE-B Ⅲ	0.25	0.61	1.17	1.39	2.16	2.53	3.60	5.09
BPE-Germ	0.25	0.43	1.15	1.34	1.90	2.15	3.24	3.97

[1)]BPE-B Ⅰ ~BPE-B Ⅲ, Barley polyphenol extract from bran fraction;
BPE-Germ, Barley polyphenol extract from germ fraction.
CON; Control, TOC; Tocopherol

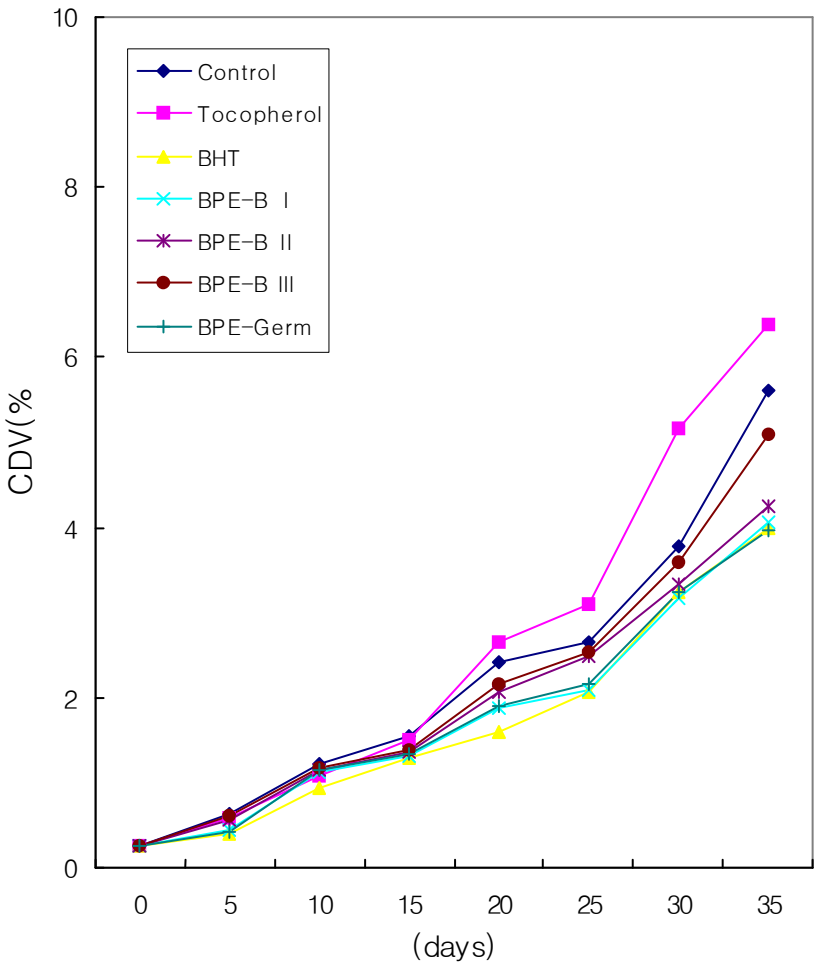


Fig. 11. Conjugated diene values of the corn oil containing 0.02% of BPE from bran and germ fractions at 60±2℃ for 35 days.

4. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과

보리 도정부산물인 맥강과 배아획분으로부터 얻은 폴리페놀추출물(BPE)인 맥강획분(BPE Ⅰ)과 배아획분(BPE Ⅳ)을 200ppm농도가 되게 조정한 음료수를 2주간 실험동물에게 제공하면서 이들 획분의 급여가 streptozotocin유발 당뇨쥐의 식이섭취량, 체중변화, 혈액내의 포도당 농도와 간지질에 대한 과산화억제에 미치는 효과를 조사하였다(Table 20, Fig. 12, 13 및 14). 그 결과 식이섭취량의 경우 당뇨대조군>BPE Ⅰ>BPE Ⅳ>정상군 순으로 당뇨대조군의 식이 섭취량이 유의적으로 높게 측정되었고, 체중증가량은 정상군>BPE Ⅰ>BPE Ⅳ>당뇨대조군의 순으로 나타났으며 특히 당뇨대조군의 경우 실험 전기간동안 지속적인 체중감소를 보여 유 등[95-97]의 실험결과와 일치하는 경향을 나타내었다. 혈중 포도당 농도는 BPE 급여군의 경우 1주 후부터 혈당강하효과가 나타나기 시작하였고 2주 후에는 당뇨대조군에 비해 32% 정도의 감소를 보였다. 단위체중 당 간무게(liver index)는 정상군, BPE Ⅰ, BPE Ⅳ 및 당뇨대조군이 각각 3.18, 3.92, 3.78 및 4.57로서 정상군에 비해 당뇨유발군에서 높게 측정되었으며 BPE Ⅰ, BPE Ⅳ 간에는 유의적인 차이가 없었다. 당뇨병에서 간장의 비대는 간장내의 지질성분이 축적되기 때문이라고 손 등[98]과 Wesson[99]이 보고하였으며 본 실험결과와 일치하였다. 간지질에 대한 과산화억제 효과를 추출물의 농도 200ppm수준으로 하여 in vitro에서 조사한 결과 BPE Ⅰ, BPE Ⅳ는 각각 48.31 및 46.21%의 저해율을 나타내어 보리 도정부산물인 맥강과 배아로부터 얻은 폴리페놀추출물에는 혈당강하와 과산화억제 효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 20. Food intake and body weight gains of experimental rats

Groups	Body weight gain(g)	Food intake(g)
Normal	51.48[a)]	18.20[d)]
DM	-51.40[c)]	29.62[a)]
DM-BPE Ⅰ	27.26[b)]	25.39[b)]
DM-BPE Ⅳ	23.88[b)]	21.06[c)]

Normal: No streptozotocin injection

DM: Diabetes mellitus

DM-BPE Ⅰ: Diabetes mellitus-BPE Ⅰ(200 ppm)

DM-BPE Ⅳ: Diabetes mellitus-BPE Ⅳ(200 ppm)

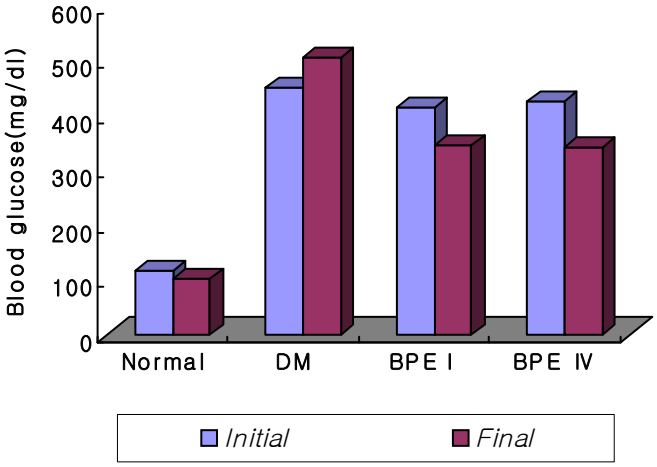


Fig. 12. Effects of barley polyphenol extracts(BPE) on blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats.

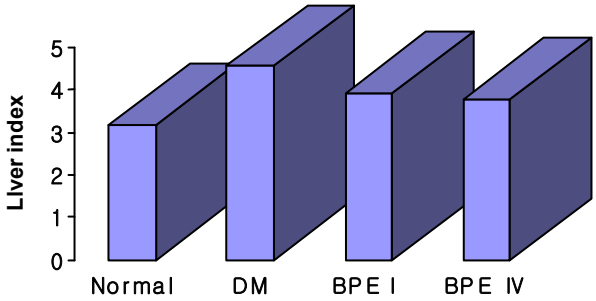


Fig. 13. Liver weight changes of experimental rats.

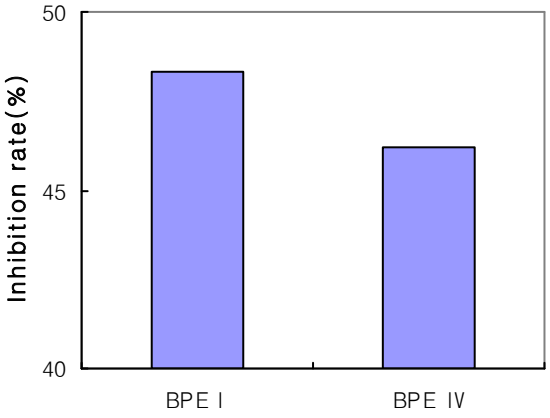


Fig. 14. Effects of lipid peroxide inhibition in rat liver.

5. 파쇄립 등 도정부산물의 혈당강하 및 과산화억제 효과

1) 식이섭취량 및 체중변화

보리 도정부산물로 발생하는 파쇄립, 배아, 맥강 등에는 천연항산화 물질을 포함한 우수한 성분이 포함되어 있어 식품소재로서의 활용가치가 있음을 이화학적특성 및 산화안정성 실험을 통해 확인 할 수 있었다. 그 결과를 재확인하기 위하여 파쇄립, 배아, 맥강 등의 획분을 바로 실험동물에게 제공하면서 이들 획분의 급여가 streptozotocin유발 당뇨쥐의 식이섭취량, 체중변화, 혈당강하 및 과산화억제에 미치는 효과를 조사하였다.

실험동물의 하루 평균 식이섭취량은 Table 21 및 Fig. 15에서 보는 바와 같이 정상대조군이 18.20 g, 맥강, 배아 및 파쇄립이 각각 21.64, 23.43 및 24.25 g이었으나 당뇨대조군은 29.62 g을 나타내어 하루 평균 식이 섭취량이 가장 많은 것으로 측정되었다. 체중변화의 경우는 보리 도정부산물 처리군이 당뇨대조군보다 증가하는 경향을 나타내었고 정상대조군>배아>맥강>파쇄립의 순으로 증가하였으며 당뇨대조군은 실험 전기간동안 감소하는 경향을 보였다.

Table 21. Effect of barley fractions on changes in body weight gains, food intakes and food efficiency ratios(FER)

Groups	Food intake (g/day)	Body Weight(g)			FER (%)
		Initial	Final	Gains	
Normal	18.20±0.10[d)]	265.67±6.13[N.S)]	400.22±37.97[a)]	134.51±34.87[a)]	0.18
DM	29.62±0.70[a)]	266.36±4.84	223.48±8.85[c)]	-42.87±6.54[d)]	-
DM-Bran	21.64±1.05[c)]	266.94±9.17	321.11±10.40[b)]	54.17±7.43[b)]	0.06
DM-Germ	23.43±0.43[bc)]	270.87±9.57	342.36±9.02[b)]	69.58±9.26[b)]	0.07
DM-Broken kernel	24.25±0,78[b)]	263.40±3.22	299.09±40.53[b)]	15.69±6.54[c)]	0.02

Normal: No streptozotocin injection

DM: Diabetes mellitus

DM-Bran: Diabetes mellitus-bran suspension(1000 mg/kg)

DM-Germ: Diabetes mellitus-germ suspension(1000 mg/kg)

DM-Broken kernel: Diabetes mellitus-broken kernel suspension(1000 mg/kg)

N.S): Not significant

2) 장기무게의 변화

보리 도정부산물을 6주간 투여한 당뇨쥐에서 각종 장기 무게에 미치는 영향은 Table 22에서 보는 바와 같으며 간장, 비장, 신장의 무게를 체중 100 g당으로 환산하여 나타내었다. 간장의 무게는 정상대조군 2.96 g, 당뇨대조군에서 5.36 g, 맥강 3.81 g, 배아 3.64 g, 파쇄립 4.12 g으로 당뇨대조군에 비해 도정부산물 섭취군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 이는 당뇨병에서 간장의 비대는 체내 인슐린의 저하로 정상적인 당대사가 원활하지 않아 acetyl-Co A에서의 지질대사체계가 형성되어 간장 내에 지질성분이 축적되기 때문이다.[100] 비장의 무게는 정상대조군에서 0.20 g, 당뇨대조군에서 0.22 g, 맥강, 배아 및 파쇄립 처리군에서 각각 0.19, 0.21 및 0.21 g으로 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 신장의 무게에서도 다른 장기와 마찬가지도 당뇨대조군에서 1.27 g으로 신장의 무게가 가장 비대했는데 이는 당뇨병에 의한 신장대사의 변화 때문인 것으로 Mogensen[101], Steer[102]등의 연구에서도 보고되었다.

Table 22. Effects of barley fractions on organ weight in STZ-induced diabetic rats

Groups	Organ Weight(g/100 g body weight)		
	Liver	Kidney	Spleen
Normal	2.96±0.24[d)]	0.56±0.03[c)]	0.20±0.01[ab)]
DM	5.36±0.14[a)]	1.27±0.14[a)]	0.22±0.01[a)]
DM-Bran	3.81±0.10[c)]	0.87±0.04[b)]	0.19±0.00[b)]
DM-Germ	3.64±0.13[c)]	0.79±0.01[b)]	0.21±0.01[ab)]
DM-Broken kernel	4.12±0.10[b)]	0.92±0.03[b)]	0.21±0.00[ab)]

3)혈당의 변화

보리 도정부산물이 혈중 포도당 농도에 미치는 영향은 Table 23에서 보는 바와 같이 정상대조군은 실험 6주 동안 혈당이 99~122 mg/dL로 정상적인 혈당을 유지하였으나 당뇨대조군은 실험 전기간동안 혈당이 상승하여 400~480 mg/dL이상을 나타내었다. 그러나 도정부산물 섭취군에서는 보리 도정부산물을 급여함에 의해 1주 후부터 혈당강하 효과가 나타나기 시작하여 실험 6주 후에는 당뇨대조군에 비해 34~61% 정도의 유의적인 감소가 나타났고, 혈당의 경우에는 특히 파쇄립 섭취군에서 감소효과가 큰 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 송 등[(103)]이 보고한 보리에서 추출한 β-glucan이 Alloxan유발 당뇨쥐에서 혈당강하효과가 나타났다는 보고로 미루어 볼 때 파쇄립에 다량 함유된 β-glucan의 혈당강하효과도 하나의 큰 요인인 것으로 사료된다.

Table 23. Effects of barley fractions on blood glucose level in STZ-induced diabetic rats

Groups	Blood glucose(mg/dL)		
	0	3	6(week)
Normal	105±7.0[d)]	115±10.0[d)]	111±8.0[c)]
DM	335±13.0[c)]	456±29.0[a)]	420±23.0[a)]
DM-Bran	369±19.0[ab)]	326±25.0[c)]	245±42.0[b)]
DM-Germ	346±22.0[bc)]	384±27.0[b)]	134±35.0[c)]
DM-Broken kernel	378±16.0[a)]	376±22.0[b)]	168±38.0[c)]

Normal: No streptozotocin injection

DM: Diabetes mellitus

DM-Bran: Diabetes mellitus-bran suspension(1000 mg/kg)

DM-Germ: Diabetes mellitus-germ suspension(1000 mg/kg)

DM-Broken kernel: Diabetes mellitus-broken kernel suspension(1000 mg/kg)

4) 과산화억제 효과

당뇨유발 6주 후 실험동물에서 혈청 및 간조직을 분리하여 보리 도정부산물이 과산화 억제에 미치는 효과를 측정하였다. 혈청 중 지질과산화물(malondialdehyde : MDA)의 경우 Fig. 15와 같이 6주 실험 후 MDA함량이 정상대조군에서 10.60 nmol/mL 이었고, 당뇨대조구에서는 16.82 nmol/mL 로 가장 크게 증가하였으며 배아획분 섭취군에서는 10.02 nmol/mL 를 나타내어 배아섭취에 의해 MDA함량이 감소하는 경향을 보였다. 또한 맥강 및 파쇄립 섭취군에서도 각각 11.64 및 12.56 nmol/mL로 당뇨대조군에 비하여 도정부산물의 섭취에 의해 MDA함량이 감소하였다. 또한 간조직의 과산화억제효과는 in vitro상에서 각 대조구의 흡광도에 대한 저해율(%)로 나타낸 결과(Fig. 16) 보리 도정부산물 0.2%농도에서 65%내외의 저해율을 나타내었다.

이와 같이 당뇨상태에서 증가되어진 혈장과 조직내의 산화적 스트레스 증가 즉, 활성산소종의 생성 증가 및 항산화적 방어력 약화로 인하여 간장이나 혈중에 생성된 과산화지질의 최종산물인 MDA함량이 보리도정부산물중에 존재하는 phenolic acid의 항산화작용[104-106]에 의하여 감소된 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 보면 파쇄립 등 도정부산물의 섭취가 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 당뇨쥐를 대상으로 동물실험을 한 결과 파쇄립, 배아, 맥강 등의 도정부산물을 급여함에 의해 1주 후부터 혈당강하효과가 나타나기 시작하였고 6주 후에는 당뇨대조군에 비해 42~68% 정도의 유의적인 감소가 확인되어 보리 도정부산물은 기능성 식품소재로서 중요한 자원이라고 사료된다.

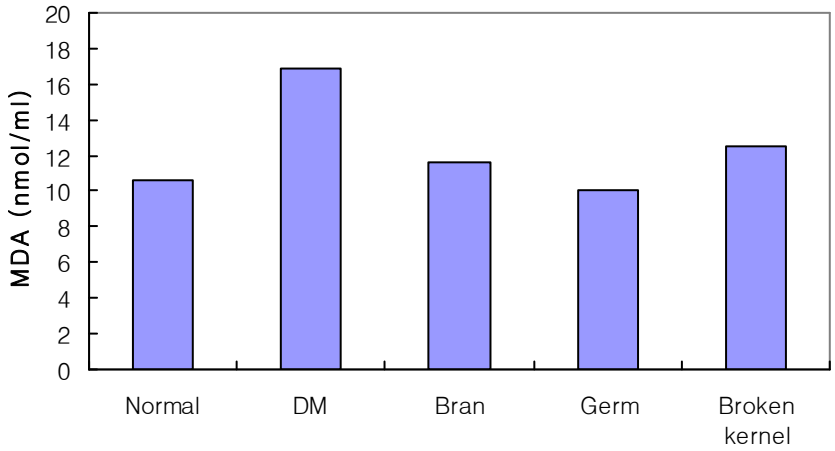


Fig. 15. Effects of thiobarbituric acid reactive materials of serum.

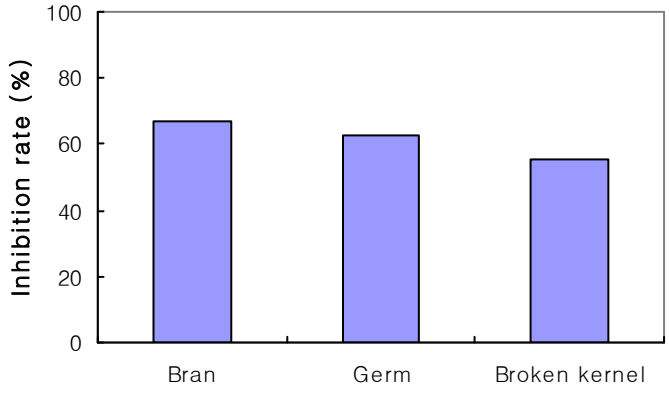


Fig. 16. Effects of lipid peroxide inhibition in rat liver.

Ⅴ. 결 론

보리를 식용으로 하기 위해 도정, 할맥 또는 압맥 등으로 가공처리시 도정 부산물로 발생하는 맥강, 배아, 파쇄립을 75%에탄올로 추출한 후 Sepabeads SP-850 수지와 Sephadex LH-20 column을 이용하여 유효성분을 분리하고, 분리된 유효성분을 이용하여 총 폴리페놀함량, 전자공여능, 아질산염 소거능, SOD활성저해능, 모델계를 이용한 식용유지 및 동물실험을 통해 보리 도정부산물로 분리한 폴리페놀추출물의 이화학적 특성 및 항산화효과를 확인하였다. 이상의 연구에서 얻은 결과는 다음과 같았다.

1. 이화학적 특성

유리당의 조성 및 함량은 bran 시료의 총당 함량이 2.61~3.43% 범위로 시료간에 큰 차이가 없었으나 배아 획분은 17.1%로 가장 높게 측정되었다. 유리형 당류로서 sucrose, glucose, fructose, maltose, raffinose 및 1-kestose가 검출되었고 특히 배아 획분에 sucrose와 raffinose가 각각 8% 이상 높은 함량을 나타낸 것이 특징적이었다. 토코페롤 및 토코트리에놀의 조성과 함량을 HPLC로 분석한 결과 배아 획분에는 α-토코페롤과 α-토코트리에놀이 90.26mg/kg 및 16.27 mg/kg으로서 주종을 이루었고 bran 획분 시료에서는 토코페롤 및 토코트리에놀이 bran Ⅱ획분에서 가장 높은 값을 나타내었으며 특히 γ-토코트리에놀의 경우 10.33 mg/kg으로 획분 중 가장 높은 값을 보였다.

2. 항산화물질의 추출, 분리 및 특성규명

n-Hexane으로 탈지시킨 bran 및 배아 시료를 75% 에탄올로 추출·여과 후 Sepabead-SP 850 수지를 사용하여 얻어진 폴리페놀 획분의 총 폴리페놀 함량은 bran Ⅰ이 43.68%로 가장 높게 측정되었다. 획분별 폴리페놀화합물의 유형을 HPLC로 살펴본 결과 항산화 및 항변이원성효과가 매우 높은 것으로 알려진 proanthocyanins와 prodelphinidin 다량체로 추정되었다. 획분별 추출물의 항산화 효과를 DPPH radical 소거활성으로 조사한 결과 bran Ⅰ의 EC_{50}이 1.59 mg/mL로 가장 높았으며 다음은 배아>bran Ⅱ>bran Ⅲ의 순 이었다. 시료농도 0.01% 수준의 농도에서 ACE 저해작용은 배아가 40.04%로 가장 높았고, 아질산염 소거작용은 모든 획분에서 70% 이상의 소거능을 나타내었으며 SOD 유사활성은 bran Ⅰ과 Ⅱ에서 64~78% 내외의 활성을 보여 보리 폴리페놀추출물의 기능성 식품소재로서의 가능성을 확인하였다.

3. 보리폴리페놀추출물(BPE)의 산화안정성

보리 도정부산물인 맥강과 배아획분으로부터 항산화 효능과 높은 상관관계가 있는 폴리페놀성물질(barley polyphenol extract: BPE)을 분리하고 이들 획분을 linoleic acid를 사용한 모델계와 corn oil을 기질로 한 유지의 자동산화를 통하여 이들의 항산화 효과를 검토하였다. TBA가 측정결과 bran Ⅲ의 BPE는 α- tocopherol과 유사한 값을 나타내었고, 다른 획분 특히 bran I과 배아획분의 경우는 합성 항산화제인 BHT와 유사한 것으로 나타났다. 유지의 자동산화에 대한 BPE의 항산화효과를 과산화물가를 이용하여 측정한 결과 저장 초기 10일에서 15일 까지는 첨가 농도가 높아짐에 따라 α-tocopherol 및 BHT와 유사하거나 다소 높은 항산화력을 나타내었으나 저장 20일 이후부터는 첨가농도에 따른 차이는 보이지 않았다. 또한 100 meq/kg・oil에 도달하는 기간을 유도기간으로 정하고 유도기간에 따른 상대적 항산화효과(RAE)를 측정한 결과 bran I 과 배아획분의 BPE를 0.02% 첨가 시 RAE값은 각각 128 및 126이었고 0.1% 첨가시에는 135 및 133으로서 첨가량의 변화에 따른 차이는 나타나지 않았으나 BHT의 126보다 높게 측정되어 이들 획분은 천연 항산화제로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

4. BPE의 혈당강하 및 과산화억제 효과

맥강과 배아획분으로부터 추출함 BPE를 200 ppm 농도가 되게 조정한 음료수를 streptozotocin으로 당뇨를 유발한 당뇨쥐에 2주간 제공하면서 식이섭취량, 체중변하, 혈액내의 포도당농도와 간지질에 대한 과산화억제에 미치는 영향을 조사한 결과 이들 폴리페놀추출물에는 혈당강하와 과산화억제 효과가 있음을 확인하였다.

5. 유효획분의 혈당강하 및 과산화억제 효과

파쇄립 등 도정부산물의 섭취가 혈당강하에 미치는 효과를 살펴보기 위해 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 당뇨쥐를 대상으로 동물실험 한 결과 파쇄립, 배아, 맥강 등의 도정부산물을 급여함에 의해 1주 후부터 혈당강하효과가 나타나기 시작하였고 6주 후에는 당뇨대조군에 비해 42~68% 정도의 유의적인 감소가 확인되어 보리도정부산물이 식품소재로서 활용되어져야 할 필요성을 재확인하였다.

Abstract

Physicochemical Characteristics and Antioxidant Activities of Barley Polyphenol Extracts(BPE) Separated from Pearling By-products

Seo, Mi Sook
Department of Food & Nutrition
Graduate School of
Sungshin women's university

Barley has been an important dietary cereal in Korea with the highest consumption following rice. However, the consumption of barley is decreasing with the change in the diet of Koreans. Before consumption, barley undergoes pearling as the initial process. This pearling process is a serial process of removing seed coat, aleurone layer, outer endosperm, and germ in order to obtain pearled barley. Currently in Korea, when processing barley into rolled or split polished barley, about 30% results as by-products in the form of barley bran, which is mainly used in animal feed. Pearling by-products contain not only barley bran including seed coat and aleurone layer, but also germ and broken kernel; thus, high value-added materials or processed products could be developed by appropriately processing these by-products.

The objectives of this study was to separate and utilize effective components such as natural antioxidants present in barley bran fractions.

The results were obtained as follows ;

Barley brans, divided into fraction I(pearler 1~4), II(pearler 5~20) and III(pearler 21~24), germ, and broken kernels were collected as pearling by-products produced by an industrial process consisting of 24 consecutive barley pearlers. Barley germ and broken kernel were also collected as barley pearling by-products. Barley germ contained more protein, lipid, and ash than barley bran. The activities of α-amylase and glucoamylase were high in barley germ, whereas that of β-amylase was high in bran fraction I. Only a slight difference in free sugar content (2.61-3.43%) was observed among the barley bran fractions. The highest amount of free sugars (17.1%) was found in barley germ. Free sugars in pearling by-products included sucrose, glucose, fructose, maltose, raffinose, and 1-kestose. Barley germ contained distinctively high levels (>8%) of sucrose and raffinose, and α-tocopherol and α-tocotrienol at 90.26 and 16.27 mg/kg, respectively. The bran fraction II contained the highest amounts of tocopherol and tocotrienol, with a significant amount of γ-tocotrienol (10.33 mg/kg).

The pearling by-products were extracted with 75% ethanol, and polyphenol extracts were separated by using Sepabeads SP-850 resin. The total polyphenol content was the highest(43.68%) in the polyphenol extract separated from the bran I.

The polyphenol compounds analyzed by HPLC were presumably identified to be proanthocyanins and prodelphinidin polymers, which were known to have antioxidative and antimutagenic activities. Antioxidative ability was estimated to be high in the following order of bran I > germ> bran II > bran III. At the level of 0.01% polyphenol extract, angiotensin I-converting enzyme(ACE) inhibitory activity was the highest in the germ fraction(40.04%). Nitrite-scavenging activity was more than 70% in all the fractions. Superoxide dismutase-like activity was in the range of 64~78% in the bran I and II fractions.

Barley polyphenol extract(BPE) was separated from the pearling fractions, and the antioxidative activity was determined by measuring in a linoleic acid system and lipid autoxidation using corn oil as a substrate. At 0.02% addition level, thiobarbituric acid(TBA) value of BPE from bran fraction III appeared to be similar to that of α-tocopherol, and bran fraction I and germ extract exhibited a similar antioxidative activity to BHT. Peroxide value was measured to estimate antioxidative activity of BPE upon lipid autoxidation. As BPE concentration increased, it showed somewhat higher antioxidative activity than α-tocopherol and BHT until 10-15 day storage, but BPE concentration did not affect after 20-day storage. Relative antioxidant effectiveness(RAE) of 0.02-0.1% BPE from bran fraction I and germ were 128-135 and 126-133, respectively, and appeared to be higher than that of BHT(126). This suggested that these BPE fractions could be used as a natural antioxidant.

Streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats were fed beverage containing 200 ppm BPE extracted from barley bran and germ for 2 weeks, and the effects on diet intake, changes in body weight, blood glucose level, and lipid peroxidation of liver were investigated. The BPE showed hypoglycemic and lipid peroxidation inhibiting effects.

Effects of barley pearling by-products on blood glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats were investigated. After 1 week, the blood glucose levels tended to decrease in rats fed barley broken kernel, germ and bran, and were significantly lowered by 42-68% compared with the control group after 6 weeks. This suggested that the barley pearling by-products could be used as food materials in controlling blood glucose levels.

참 고 문 헌

1. Lee, Y.J. The subject of lipid nutrition and improvement, Food Sci. Ind. 23: 13-30 (1990)

2. Kim, D.H. Rancidity of edible oil. Korea University Press, Seoul (1994)

3. Kinsella, J.E. Food lipids and fatty acid : Importance in food quality, nutrition, and health. Food Technol. 42: 124-144 (1988)

4. Shahi, F. and Wanasundara, P. Phenolic antioxidants. Crit. Rev. in Food Sci. Nutr. 32: 67-103 (1992)

5. Giese, J. Antioxidants: Tolls for preventing lipids oxidation. Food Technol. 50: 73-78 (1996)

6. Omaye, S.T., Reddy, K.A. and Cross, C.E. Effect of butylated hydroxytoluene and other antioxidants in mouse lung metabolism. J. Toxicol. Environ. Health. 56: 829-836 (1977)

7. Shin, D.W. Research trends in natural antioxidants. Food Sci. Ind. 30: 14-21 (1997)

8. Fukuda, Y., Osawa, T., Namiko, M. and Ozaki, T. Stadies on antioxidative substances in sesame seed. Agric. Biol. Chem. 49: 301-306 (1985)

9. Kasuga, A., Aoyagi, Y. and Sugahara, T. Antioxidant activities of edible plants. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 35: 828-834 (1988)

10. Nicolsi, R.J., Rogers, E.J., Ausman L.M. and Orthefer F.T. Rice bran oil and its health benefits. pp. 421-437. In: Rice Science and Technology, Marshal, W.E.,, Wadsworth, J.I.(eds). Marcel Dekker. New York. USA (1993)

11. Kim, S.R., Ahn, J.Y., Lee, H.Y. and Ha, T.Y. Various properties and phenolic acid contents of rice and rice brans with different milling fractions. Korean J. Food Sci. Technol. 36(6): 930-936 (2004)

12. Lee, K.Y. Antioxidant effects of phenolic compounds isolated from deffated perilla seed flour. Korean J. Food Sci. Technol. 25(1): 9-14 (1993)

13.. Kim, J.S., Lee, G.D., Kwon, J.H. and Yoon, H.S. Antioxidative effectiveness and oxidaized products in mixture of methyl linoleate and phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 25(4): 379-385 (1993)

14. Saikhan, LR. Howard, JC. and Miller, JR. Antioxidant activity and total phenolics in different geno types of potato, J. Food Science. 60(2): 341-343 (1995)

15. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28(2): 232-239 (1996)

16. Riemenschneider, RW, Chapt.8, Oxidative rancidity and antioxidants in "handbook of food and agriculture", edited by Blank C.F. Reinhold Publishing Corp. New York (1955)

17. Lee, Y.J. A Study on the antioxidative and antimutagenic effect of various solvent extract of green, oolong and black tea. Ph.D. thesis, Sungshin Women's University. Seoul (1998)

18. Griffith, J.Q., Krewson, C.F. and Naghski, J. Rutin and related flavonoids, Mack Publ. Co., 209 (1955)

19. Oh, S.W., Kwon, E.K. and Kim, Y.E. Screening of angiotensin converting enzyme inhibitory activity in several natural products(abstract no. p7-17). In: Abstract: 69th symposium of Food Science and Technology. The Korean Society of Food Science and Technology. Seoul Korea (2002)

20. Cho, S.Y., Han, Y.B. and Shin, K.H. Screening for antioxidants activity of edible plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 133-137 (2001)
21. Naim, M., Gestether, B., Zilkah, S., Birk, Y. and Bondi, A. Soybean isoflavones characterization, determination and antifungal activity. J. Agric. Food Chem. 22: 806-810 (1974)
22. Pratt, D.E. and Birac, P.M. Source of antioxidants activity of soybeans and soy products. J. Food Sci. 44: 1720-1722 (1979)
23. Daniels, D.G.H. Antioxidants in oats, Effects of Phenolic acids. J. Sci. Food Agric. 14: 385-390 (1963)
24. Ju, J.H., Cho, C.M., Oh, D.H. and Pyun, Y.R. Antioxidant properties of red-pepper peel extracts on margarine. Korean J. Food Sci. Technol. 9(1): 21-27 (1981)
25. Chen, Y.T., Zheng, R.L., Jia, Z.L., Ju, Y. : Flavonoides as superoxide scavengens and antioxidants. Free radical boilmed. 9: 19-21 (1990)
26. Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M and Kawakishi, S. : Chemical-studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fraction and partial characterization. J. Agric. Food Chem. 36: 732 (1988)
27. Tateyama, C., Honma, N., Namiki, K. and Uchiyama. T. Polyphenol content and antioxidative activity of various flower petals. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 44: 290-299 (1997)
28. Sohn, J.C. and Kim, M.K. Effect of hesperidin and naringin on antioxidative capacity in the rat. Korean Nutr Soc. 31: 687-696 (1998)
29. Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M. and Harman, D. Oxygen radicals and human disease. Ann. Tntern. Med. 107: 526-545 (1987)

30. Adelman, R., Saul, L.R. and Ames, N.B. Oxydative damage to DNA: Relation to species Metabolic rate and life span. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85: 2706-2708 (1988)

31. Silva, FAM., Borges, F., Guimarães, C., Lima, JLFC., Matos, C. and Reis, S. Phenolic acids and derivatives: studies on the relationship among structure, radical scavenging activity and physicochemical. parameters. J. Agr. Food Chem. 48: 2122-2126 (2000)

32. Block, G. and Langseth, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. Food Technol. 48: 80-91 (1994)

33. Fukuzawa, K. and Takaishi, Y. Antioxidants. J. Act. Oxy. Free Rad. 1: 55-70 (1990)

34. Hatano, T. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-Tannins and related Med. 49: 357-363 (1995)

35. Masaki, H., Sasaki, S., Atsumi, T. and Sakurai, H. Active oxygen scavenging activity of plants extracts. Bull. pharm. 18: 162-166 (1995)

36. Kerby, R.W., Anderson, J.W., Sieling, B., Rees, E.D., Chen, W., Miller, R.E. and Kay, R.M. Oats-bran in take selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentration of hypercholesterolemic men, Am. J. Clin. Nutr. 34: 824-828 (1990)

37. Kim, M.O. Barley β-glucan[mixed-linked(1-3),(1-4)-β-D-glucan] rheology character. master's thesis. Kyunghee university (1989)

38. Cha, H.S., Kim, M.O. and Koo, S.J. Studies on rheological characterization of barley β-glucan [mixed-linked(1-3),(1-4)-β-D-Glucan. Korean J. Food Sci. Technol. 25: 15-21 (1993)

39. Oh, H.J. and Lee, S.R. Physiological function in vitro of β-glucan isolated from barley. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 689-695 (1996)

40. Seog, H.M., Seo, M.S., Kim, S.R., Park, Y.K. and Lee, Y.T. Characteristics of barley polyphenol extract(BPE) separated from pearling by-products. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 775-779 (2002)

41. Tamagawa, K., Iizuka, T., Kobori, M., Shinmoto, H. and Tsushida, T. Radical scavenging activity and antimutagenicity of proanthocyanidins from barley bran. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi 45: 420-425 (1998)

42. Maengnyu yeon-guso : A sort of barley study result and new way. (1987)

43. Food supply and demand list, Korea Rural Economic Institute (2007)

44. Agriculture & Forestry statistical yearbook. Ministry of Agriculture & Forestry Republic of Korea (2006)

45. Craig, W.J. Phytochemicals: guardians of our health, J. Am Diet Assoc. 97(2): 199-204 (1997)

46. Kris-Etherton, P., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M., Binkoski, A.E., Hilpert, K.F., Criel, A.E. and Etherton, T.D. Bioactive compounds in foods. Am J Med. 113(9B): 71-88 (2002)

47. Manson, M.M., Gescher, A., Hudson, E.A., Plummer, S.M., Squires, M.S. and Prigent, S.A. Blocking and suppressing mechanism of chemoprevention by dietary constituents. Toxicology Lett. 112: 488-505 (2000)

48. Bhatty. R.S. Physicochemical and functional(breadmaking) properties of hull-less barley fractions. Cereal Chem. 63: 31-35 (1986)

49. Qureshi, A.A., Burger, W.C., Peterson, D.M. and Elson, C.E. The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. J Biol. Chem. 261: 10544-10550 (1986)

50. Marlett, J.A. Dietary fiber content and effect of processing on two barley varieties. Cereal Foods World. 36: 576 (1991)

51. Kim, S.R., Seog, H.M., Choi, H.D. and Park, Y.K. Cholesterol-lowering effects in rat liver fed barley and β-glucan-enriched barley fraction with cholesterol. Korean J. Food Sci. Technol. 34(2): 319-324 (1993)

52. Tamagawa K., Iizuka, S., Fukushima, S., Endo, Y. and Komiyama, Y. Antioxidative activity of polyphenol extracts from barley bran. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 44: 512-515 (1997)

53. Kajimoto, G., Onitake, N., Okuda, H. and Murakami, C. Antioxidant activity of barley tea and their composition. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi 46: 67-74 (1999)

54. Tamagawa, K., Iizuka, S., Ikeda, A., Koike, H., Naganuma, K. and Komiyama, Y. Antioxidative activity of proanthocyanidins isolated from barley bran. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi 46: 106-110 (1999)

55. Mulkay, P., Touillaux, R. and Jerumanis, J. Proanthocyanidins of barley: separation and identification. J. Chromatogr. 208: 419-423 (1981)

56. MaMurrough, I.M., Loughrey, M.J. and Hennigan, G.P. Content of (+)-catechin and proanthocyanidins in barley and malt grain. J. Sci. Food Agric. 34: 62-72 (1983)

57. Ariga, T., Koshiyama, I. and Fukushima, D. Antioxidative properties of procyanidins B-1 and B-3 from azuki beans in aqueous systems. Agric. Biol. Chem. 52: 2717-2722 (1988)

58. Kim, Y.Y. and Koo, S.J. Anticomplementary activity and immune-stimulating effect of the extracts from barley(*Hordeum vulgare*), Korean J. Soc. Food Sci. 13: 661-668 (1997)

59. Pyo, Y.H. Oxidative stability of crude wheat germ oil. J. Korean Home Economics Association 29: 37-43 (1991)

60. Jung, S.O. A study on the extraction of antioxidative materials from defatted rice bran. M.S. thesis, Korea Univ., Seoul (1990)

61. Peterson, D.M. Barley tocols: Effects of milling, malting, and mashing. Cereal Chem. 71: 42-44 (1994)

62. Qureshi, A.A., Qureshi, N., Wright, J.J.K., Shen, Z., Kramer, G., Gapor, A., Chong, Y.H., DeWitt, G., Ong, A., Peterson, D.M. and Bradlow, B.A. Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols. Am. J. Clin. Nutr. 53: 1021S-6S (1991)

63. Peterson, D.M. and Qureshi, A.A. Genotype and environment effects on tocols of barley and oats. Cereal Chem. 70: 157-162 (1993)

64. Hara, H., Haga, S., Aoyama, Y. and Kiriyama. Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rat liver and intestine, J. Nutr. 129: 942-948 (1999)

65. Miller, H.E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A. and Kanter, M. Whole-grain products and antioxidants. Cereal Foods World 45: 59-62 (2000)

66. Ha, T.Y., Cho, I.J. and Lee, S.H. Screening of HMG-CoA reductase inhibitory activity of ethanol and methanol extracts from cereals and regumes. Korean J. Food Sci. Technol. 30(1): 224-229 (1998)

67. A.O.A.C. : Official Methods of Analysis. 13th ed., Ass. of Off. Anal. Chem., Washington D.C., p.211 (1980)

68. Henry, R.J. Genetic and environmental variation in the pentosan and beta-glucan contents of barley, and their relation to malting quality. J. Cereal Sci. 4: 269-277 (1986)

69. Tan, B. and Brzuskiewicz, L. Separation of tocopherol and tocotrienol isomers using normal- and reverse-phase liquid chromatography. Anal. Biochem. 180: 368-373 (1989)

70. Metcalf, L.D., Schmitz, A.A. and Pelka, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipid for gas chromatographic analysis. Anal. Chem. 38: 514 (1966)

71. Tamagawa, K., Fukushima, S., Kobori, M., Shinmoto, H. and Tsushida, T. Proanthocyanidins from barley bran potentiate retinoic acid-induced granulocytic and sodium butyrate-induced monocytic differentiation of HL60 cells. Biosci. Biotechnol. Biochem. 1483-1487 (1998)

72. Vall'es, B.S., Victorero, S., Alonso, J.J.M. and Gomis, D.B. High-performance liquid chromatography of neutral phenolic compounds of low molecular weight in apple juice. J. Agric. Food Chem. 42: 2732-2736 (1994)

73. A.O.A.C. : Official Methods of Analysis. 8th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. USA. p.144 (1955)

74. Williams, B.W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant. Lebensm Wiss Technol. 28: 25-30 (1995)

75. Cushman, D.W. and Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochem. Pharmacol. 20: 1637-1648 (1971)

76. Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 51: 1333-1338 (1987)

77. Kim, S.J. Han, D.S., Moon, K.D. and Rhee, J.S. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotech. Biochem. 59: 822-826 (1995)

78. MaMurrough, I.M. and McDowell, J. Chromatographic separation and automated analysis of flavanols, Analytical Biochemistry. 91: 92-100(1978)

79. Begoña Bartolomé and Carmen Gómez-Cordovés. Barley spent grain : release of hydroxycinnamic acids(ferulic acid and ρ-coumaric acids) by commercial enzyme preparations. J. Sci Food Agric. 79: 435 (1999)

80. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Iwami, K. Antioxidative action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi. 49: 210-217 (1996)

81. A.O.C.S. : Official and Tentative Methods, 3rd ed. American Oil Chemists Society. Illinois. USA (1978)

82. Ahn, M.S. Effects of reaction temperature, time and presence of organic acids or their salts on the antioxidants activity of caramelization mixtures. Ph.D. theses, Korea University. Seoul (1984)

83. Bishayee, S., Balasubramanian, A.S. : Lipid peroxide formation in rat brain. J. Neurochem. 18: 909-920 (1971)

84. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Annal. Biochem. 95: 351-358 (1979)

85. Satoh, K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clinica. Chimica. Acta. 90: 37-43 (1978)

86. Seog, H.M., Kim, J.S., Hong, H.D., Kim, S.S. and Kim, K.T. Changes in chemical composition of maturing barley kernels. J. Korean Agric. Chem. Soc. 36: 449-455 (1993)

87. Barnes, P.J. Non-saponifiable lipids in cereals. pp. 42-43. In: Lipids in Cereal Technology. Barnes, P.J. (ed.). Academic Press. New York. USA (1983)

88. Wang, L., Xue, Q., Newman, R.K. and Newman, C,W. Enrichment of tocopherols, tocotrienols, and oil in barly fractions by milling and pearling. Cereal Chem. 70: 499-501 (1993)

89. Peterson, D.M. and Qureshi, A.A. Genotype and environment effects on tocols of barley and oats. Cereal Chem. 70: 157-162 (1993)

90. Oleszek, W., Lee, C.Y., Jaworski, A.W. and Price, K.R. Identification of some phenolic compounds in apples. J. Agric. Food Chem. 36: 430-432 (1988)

91. Jaworski, A.W. and Lee, C.Y. Fractionation and HPLC determination of grape phenolics. J. Agric. Food Chem. 35: 257-259 (1987)

92. Souquet, J.M., Cheynier, V., Brossaud, F. and Moutounet, M. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. Phytochemistry 43: 509-512 (1996)

93. Kong, Y.J., Kang, T.S., Lee, M.K., Park, B.K and Oh, D.H. Antimicrobial and Antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolica* leaf, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 338-343 (2001)

94. Tamagawa, K., Iizuka, S., Fukushima, S., Endo, Y. and Komiyama, Y. Antioxidative activity of polyphenol extracts from barley bran. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi 44: 512-515 (1997)

95. Yoo, S.K., Kim, M.J. Effects of YK-209 mulberry leaves on disaccharidase activites of small intestine and blood glucose-lowering in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31(6): 1071-1077 (2002)

96. Lee, J.S., Son., H.S. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J Nutrition. 27(8): 819-827 (1994)

97. Koh, J.B. Effect of raw soy flour(yellow and black) on serum glucose and lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 27(2): 313-318 (1998)

98. Sohn, K.H., Kim, S.H and Choi, J.W. Pretreatment with nicotinamide to prevent the pancreatic enzyme changes by streptozotocin in rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 21(2): 117-123 (1992)

99. Wesson, L.G. Compensatory growth and other growth response of the kidney. Nephron 51: 149-184 (1989)

100. Lim, S.J, Kim, S.Y Lee, J.W. The effects of korean wild vegetables on blood glucose levels and liver-muscle metaboism of streptozotocin -induced diabetic rats. The Korean Journal of Nutrition. 28(7): 585-594 (1995)

101. Mogensen, C.E. and Anderson, M.J.F. Incresed kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes. Diabetes 22: 706-712 (1973)

102. Steer, H.A., Socher, M. and McLean, P. Renal hypertrophy in experimental diabetes changes in pentose phosphate pathway activity. Diabetes. 34: 485-490 (1985)

103. Song, J.Y, Yoon, K.J., Yoon, H.K and Koo,S.J. Effects of β-glucan from Lentinus edodes and Hordeum vulgare on blood glucose and lipid composition in Alloxan-induced diabetes mice. Korean J. Food. Sci. Techol. 33(6): 802-807 (2001)

104. Cha, J.Y., Jun, B.S. and Cho, Y.S. Effect of Korean red ginseng powder on the lipid concentrations and tissue lipid peroxidation in the rats fed high fat diet. J. Korean Sci. Food Sci. Nutr. 32(1): 124-130 (2003)

105. Miyake Y, Yamamoto K, Tsujihara N, Osawa T. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. Lipid. 33: 689-695 (1998)

106. Bang, M.A., Kim, H.A Cho, Y.S. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary Hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 31(5): 840-846 (2002)