

식물 방어 기작을 이용한 싹기름채소의 고품질화 및  
고부가가치 식품 소재화 기술개발

Development of High Value Food Ingredient and High Quality  
Sprouts Vegetable Applying Plant Defense Mechanism

식물방어기작을 이용한 메밀싹기름채소의  
단위 공정 기술 개발(제 1 세부)

(Development of functional buckwheat sprouts vegetable  
applied in plant defense mechanism)

식물방어기작을 이용한 메밀싹기름채소의  
식품소재화 연구(제 2 세부)

(Development of food ingredient from buckwheat sprouts  
applied in plant defense mechanism)

식물방어기작을 이용한 메밀싹기름채소의  
지질 대사 개선 연구(제 3 세부)

(A study on improvement of lipid metabolism using buckwheat  
sprouts applied in plant defense mechanism)

한국식품연구원

농림수산식품부

# 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “식물 방어 기작을 이용한 싹기름채소의 고품질화 및 고부가가치 식품 소재화 기술개발에 관한 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2011년 6월 24일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

주관연구책임자 : 임 정 호

세부연구책임자 : 박 기 재

세부연구책임자 : 김 범 근

연구 원 : 정 진 응

연구 원 : 정 승 원

연구 원 : 김 명 호

연구 원 : 김 현 진

연구 원 : 조 영 심

위탁연구기관명 : 한림성심대학

위탁연구책임자 : 이 명 현

연구 원 : 이 정 선

연구 원 : 장 예 란

연구 원 : 이 관 후

참여기업명 : 애드팜영농조합법인

참여기업대표 : 양 희 남



# 요 약 문

## I. 제 목

식물 방어 기작을 이용한 싹기름채소의 고품질화 및 고부가가치 식품 소재화 기술개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내 싹기름채소의 수요창출을 확대시키기 위하여 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 메밀싹기름채소에 기능성을 향상시킬 방안으로 식물 방어 기작을 이용한 처리방법을 개발하여 고기능성의 메밀싹기름채소를 생산한 다음 기능성 식품소재를 개발하고자 하며, 기능성 싹기름채소와 기능성 식품소재제품의 생리활성 특성을 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 검증하여 국내 싹기름채소관련 식품의 국제 경쟁력 제고와 농가의 소득증대에 이바지하고자 함

## III. 연구개발 내용 및 범위

- 1) 식물 방어 기작을 이용한 기능성 증진 메밀싹기름채소 제조를 위한 단위공정별 적정 처리 조건 개발
  - 메밀싹기름채소의 기능성 성분 분석
  - 단위공정별 적정 처리조건 개발
  - 최적 abiotic elicitor 처리제 선발 및 조건 설정시험
  - 최적 stress 처리법의 선발 및 조건 설정시험
  - 기능성 증진 효과: 처리 조건에 따른 당노, 비만 및 고혈압 관련 *in vitro* 효능실험
- 2) 유효성분의 추출 및 안정화 기술개발
  - 유효 성분의 분리 및 추출 기술 개발
  - 유효 성분의 추출 공정 최적화
  - 유효 성분의 기능성 분석 및 평가
- 3) 기능성 물질의 식품 소재화 기술개발
  - 기능성 식품 소재의 활용을 위한 전처리 공정 개발
  - 기능성 분말 소재의 안정성 분석 및 평가

- 4) 현장 적용시험을 위한 기능성 증진 메밀싹기름채소의 품질 평가
  - 식물 방어 기작을 이용한 기능성 증진 메밀싹기름채소의 적정 처리조건 실증실험
  - 기능성 물질의 포집기술을 적용한 식품소재의 응용성 평가
  - *In vivo* 상에서 기능성 증진 메밀싹기름채소의 지질대사 개선 효능 탐색 및 평가
  - 기술이전을 위한 현장적용 보완실험 및 산업화추진

## IV. 연구개발결과

### 제 1 절 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 메밀싹기름채소의 단위 공정별 기술개발

#### 1. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 및 발아 중 관수처리 조건 설정

○ 새싹 채소의 위생적인 재배 조건을 위한 종자 처리 조건에서 이산화염소수와 열처리를 단독처리 또는 복합처리를 통하여 종자의 발아율과 미생물의 감소를 조사한 결과, 미생물의 경우 100 ppm 농도 이상의 이산화염소수로 10분 이상 단독처리 시 대조구와 비교하여 약 1 log cycle 이상 감소하였다. 발아율은 이산화염소수의 처리에 의한 영향은 없었다. 이산화염소수 100 ppm 과 열수 온도 45℃, 50℃ 간의 복합처리는 발아율의 증가와 미생물의 감소효과를 나타내었다.

○ 새싹 채소의 위생적인 재배 조건을 설정하기 위하여 *Salmonella typhimurium* 을 실험실 조건에서 배양하여 종자에 인위적으로 오염시키고 균수를 약  $10^6$  log CFU/g 로 조절하였다. 종자에 대한 세척 효과는 이산화염소수 및 citric acid 의 단독처리 보다 병행처리 시 더욱 우수한 효과를 나타내어, 이산화염소수 200 ppm과 citric acid 2%의 병행처리 시 약 2.89 log CFU/g 의 감소효과를 나타내었다. 또한, glycerol 0.5%/citric acid 2.0% 처리의 경우 약 3.46 log CFU/g, glycerol 0.5%/이산화염소수 200 ppm처리는 약 2.14 log CFU/g의 *S. typhimurium* 균의 감소를 나타내어, glycerol 단독 처리보다 병행처리구가 더 우수한 효과를 나타내었다.

#### 2. 메밀싹기름채소의 기능성 증진을 위한 적정 elicitor 처리 효과

○ 메밀싹기름채소의 식물방어기작의 변화에 의한 유용성분의 변화를 조사하기 위하여 Methyl Jasmonate, MSM, 키토산, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> 및 UV 처리를 하였다. 다양한 처리에 의한 α-amylase 저

해활성,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 및 총 페놀 함량, ACE 저해활성 및 individual phenolic compounds 의 변화에 대하여 조사하였다. 그 결과, 모든 처리구에서 생리활성 및 기능성 성분의 함량 변화가 관찰되었으며, 그 중 MeJA 의 처리에 의해서 phenolic compounds 인 루틴 함량이 급격히 증가하는 것을 알 수 있었다. MSM 및 키토산 처리에 의해서 phenolic compounds 의 유의적인 변화를 관찰할 수 있었으며,  $\alpha$ -glucosidase 저해율도 증가하였다. 키토산 저농도 처리구에는  $\alpha$ -amylase 저해활성이 증가하는 것으로 나타났다. 반면, UV 처리는 phenolic compounds 의 함량을 감소시킬 뿐만 아니라 생리활성의 증가도 둔화시키는 것으로 나타났다. 또한 CO<sub>2</sub> 및 N<sub>2</sub> 처리는 장시간의 처리에 의해서 상승효과가 나타나는 것으로 관찰되었다. 메밀싹 채소의 평균적인 ACE 저해효과는 동일 농도에서 약 49% 내외였으며, 이와 비교하여 처리구에서는 전반적으로 MeJA 처리구, 키토산 100 mg% 이상 처리구, N<sub>2</sub> 처리구 및 유기산 처리구에서 뚜렷한 효과를 나타내지 못하였으나, MSM 50 mg% 처리구, LA 50 mg% + 키토산 30 cps 50 mg% 의 처리구, UV-B 처리구 및 CO<sub>2</sub> 24 hr 처리구에서 유의적으로 높은 효과를 나타내었다.

### 3. 단독 및 병행 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름 채소의 품질 특성 변화

○ 메밀싹기름채소의 abiotic 및 stress 병행처리에 대한 식물방어기작 대응에 대한 유용성분의 변화를 조사하기 위하여 적정 elicitor 처리 결과를 바탕으로 실험을 설계하였다. 적정 elicitor 처리 결과에서 가장 우수한 처리효과를 나타낸 MeJA 처리구에 대한 처리기간 및 처리 횟수, UV-B 병행처리조건, Light 병행처리 조건 및 MeJA, UV-B, Light 의 병행 처리 조건 및 실험을 실시한 결과는 다음과 같다.

① 발아 후 7일 동안 유용성분을 조사한 결과 발아 5일까지 매우 급격히 증가하는 것으로 나타났으며 발아 5일 이후에는 다소 감소되는 경향을 나타내었다. 유용성분으로서 총 페놀함량은 대조구는 발아 5일 후 다소 감소하는 경향을 나타내었으나, MeJA 처리구에서 발아 5일후 유용성분이 유지되는 것으로 나타났다. 따라서 적정 메밀싹기름채소의 수확시기는 발아 후 5일로 설정하였다.

② 발아 후 5일 중 3회 이상 처리한 메밀싹기름채소구에서 동등한 유용성분의 증가 효과 (대조구에 비하여 약 40% 내외) 가 나타났으며, 그 이하의 처리조건에서는 유용성분에 대하여 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 MeJA 처리에 대하여 발아 후 3회 이상 또는 1일 1회 처리로 설정하는 것이 적절한 것으로 평가하였다.

③ 생육기간 중 UV-B 처리 시간에 대한 조건을 설정하기 위하여 0~120분간 처리한 결과 처리시간 40분까지 유용성분이 증가 (대조구에 비하여 약 15%) 하는 경향을 보였으나, 그 이상의 처리시간에서는 감소 또는 유의적인 증가를 나타내지 않았다. 관능적인 측면에서도 30분까지 우수한 것으로 나타나 UV-B 병행처리 조건은 30분으로 설정하였다.

④ 생육기간 중 light 처리 시간에 대한 조건을 설정하기 위하여 UV-B 처리 30분으로 고정하고 light 처리 시간을 0~7 hr 까지 처리한 결과, 처리시간 4 hr 까지는 유용성분이 증가 (대조구에 비하여 약 20%) 하는 경향을 보였으나, 그 이상의 처리시간에서는 동등한 효과를 나타내었다. 메밀싹기름채소의 표면색이 4 hr 초과구에서는 붉은 빛이 강하게 나타나는 있는 것으로 조사되어 UV-B 와 Light 병행처리의 조건을 UV-B (30분) + Light (4 hr) 로 설정하였다.

⑤ 병행 처리 조건에서 메밀싹기름채소의 식물방어기작에 대한 효과를 검정하기 위하여 대조구, MeJA구, MJ+UVB구, MJ+light구, MJ+light+UVB구로 실험을 실시한 결과, 유용성분인 총 페놀 함량에서 MJ+light구 (대조구에 비하여 약 120%) > MJ+light+UVB구 (약 98%) > MJ+UVB구 (약 85%) > MeJA구 (약 80%) > 대조구의 순으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능은 처리구가 대조구에 비하여 약 10% 이상 처리 효과가 있는 것으로 나타났으며, 그 중 MJ+light 처리구가 가장 높은 효과를 나타내었다. 또한 루틴 함량도 총 페놀 함량과 유사한 경향으로 MJ+light 처리구가 약 80% 이상 증가하여 가장 우수한 효과를 나타내었다.

○ 메밀싹기름채소의 abiotic 및 stress 처리를 2차적으로 병행처리한 결과는 다음과 같았다.

① 메밀싹기름채소의 기능성을 증진시키기 위하여 염화물을 농도별로 처리하여 그 효과를 관찰하였다. 적정 elicitor 처리결과에서 우수한 효과를 나타낸 처리구를 병행처리 한 결과에 더하여 대사 기작이 달리 작용할 수 있는 염화물의 처리를 수행하고자 염 농도별 (0~200 mM) 처리를 통한 적정 처리 농도를 설정하고자 하였다. 처리 결과 100 mM 처리농도에서 총 페놀 함량은 대조구에 비하여 약 112% 이상 증가하였으며, DPPH 라디칼 소거능 또한 약 30% 정도 높게 나타났다. 발아율에 있어서 50 mM 처리농도까지는 대조구에 비하여 높은 발아율을 보였으며, 100 mM 농도 처리구에서는 유사한 것으로 조사되었다. 염화물 처리는 전반적으로 메밀싹기름채소의 기능성 물질의 유도를 증진시키는 것으로 나타났고, 그 적정 농도로서 100 mM 이하의 처리 농도가 가능한 것으로 조사되었다.

② 메밀싹기름채소의 기능성을 높이기 위한 2차적인 병행처리로서 MeJA 처리구와 엽화물의 처리에 따른 효과 분석을 실시하였다. 동일 조건에서 대조구, MeJA 처리구, 엽화물 처리구, MJ+엽화물 10 mM구, MJ+엽화물 50 mM 구로 구분하여 처리한 결과 생육특성에서 처리구 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, MJ+엽화물 50 mM의 처리구가 약 8% 정도 감소하는 것으로 나타났다. 총 페놀 함량, 루틴 함량 및 DPPH 라디칼 소거능은 MJ+엽화물 10 mM구 > MJ+엽화물 50 mM구 > MeJA 처리구 ≥ 엽화물 처리구 > 대조구 순으로 나타나, 엽화물과의 병행처리에 의한 상승효과를 확인하였다. MJ+엽화물 10 mM구는 대조구에 비하여 총 페놀 함량은 약 103%이상, rutin 함량은 약 50% 이상 증가하였다.

③ 메밀싹기름채소의 기능성을 증진시키기 위하여 MeJA 병행처리 시 효과적인 것으로 나타난 light 처리 (4 hr) 를 병행하였다. 동일한 조건에서 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA, 엽화물 및 light 를 처리하여, 대조구, MeJA+light 처리구, MJ+엽화물 10 mM+light 처리구, MJ+엽화물 50 mM+light 처리구로 설정하였다. 총 페놀 함량, 루틴 함량 및 DPPH 라디칼 소거능에서 MJ+엽화물 10 mM+light 처리구 > MJ+엽화물 50 mM+light 처리구 > MeJA+light 처리구 ≥ 엽화물+light 처리구 > 대조구 순으로 나타나, 엽화물과의 병행처리에 의한 상승효과를 나타내었다. MJ+엽화물 10 mM+light 처리구는 대조구에 비하여 총 페놀 함량은 약 109% 이상 증가, 루틴 함량은 약 56% 이상 증가하였다.

#### 4. 병행 elicitor 처리에 의한 메밀싹기름채소의 기능성 증진 효과 및 실증실험

○ 메밀싹기름채소의 abiotic 및 stress 병행처리에 후 식물방어기작 대응에 대한 기능성 증진 효과에 대한 실증실험을 위하여 elicitor 병행처리 결과를 바탕으로 실험을 설계하였다. 병행처리 결과 우수한 것으로 판정된 MJ+light 구, MJ+엽화물구, MJ+엽화물 10mM+light 구와 MeJA 처리구 및 대조구에 대한 처리기간 중 품질변화를 2009년 메밀종자와 2010년 메밀종자로 2년에 걸쳐 조사하였다.

① 2009년 생산된 메밀종자를 활용하여 병행 처리한 결과, 생육기간 동안 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 길이, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량, 유기산 및 유리당 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 생육 기간 중 메밀싹의 길이변화에는 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 유기산 함량의 증가에는 유효한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 특히,



MeJA, NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발아 5일 경과 후 대조구 (Control) 에 비해 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 총 유기산 함량이 각각 87.01, 56.55, 106.72, 87.61, 145.16, 185.63 및 171.74% 높은 것으로 나타나 가장 우수한 효과를 나타내었다. 또한 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 5일 경과 후 대조구 (Control) 에 비해 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 총 유기산 함량이 각각 약 77.78, 55.26, 102.44, 77.50, 151.26 및 138.68% 높은 것으로 나타났으며, MeJA 에 NaCl 을 병행 처리한 실험구 (MN) 의 경우에도 발아 5일 경과 후 대조구 (Control) 에 비해 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 총 유기산 함량이 각각 약 51.95, 51.75, 65.88, 30.61, 33.05 및 167.70% 높은 것으로 나타나 대조구 (Control) 및 MeJA 을 단독 처리한 실험구 (Me) 와 비교하여 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리한 경우 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 유기산 함량이 증가하는 것으로 확인되었다. 이는 MeJA, NaCl 및 light의 병행 처리가 생육 기간 중 메밀새싹의 페놀 및 루틴 함량을 증가시킴으로써 항산화 활성의 증가에 긍정적인 영향을 미친다는 것을 의미하며, 따라서 메밀새싹기름채소의 생육 기간 동안 MeJA, NaCl 및 light 의 병행 처리는 메밀새싹기름채소의 항산화적 기능을 활성화시켜 영양적인 가치를 증가시킬 뿐만 아니라, 기능성 증진물질을 유도할 수 있는 유용한 기술도 적용 가능할 것으로 사료된다.

② 2010년 생산된 메밀종자를 활용하여 병행 처리한 결과, 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 생육기간이 경과함에 따라 길이, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량, 유기산 및 유리당 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 생육 기간 중 메밀새싹의 길이변화에는 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으나, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 유기산 함량의 증가에는 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 유효한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 발아 5일 경과 후 MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 총 유기산 함량이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 80.30, 39.32, 73.45, 71.17, 96.94 및 50.87% 높은 것으로 나타났고, MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구(ML) 의 경우 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 총 유기산 함량이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 111.74, 38.98, 105.11, 94.32, 68.64 및 67.76% 높은 것으로 나타났으며, MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험

험구 (MN) 의 경우 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량 및 총 유기산 함량이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 78.85, 37.49, 71.10, 35.31 및 58.56% 높은 것으로 나타나 메밀새싹의 생육 기간 동안 MeJA 와 NaCl 및 light를 병행 처리한 경우 메밀새싹의 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량, 카로티노이드 함량 및 유기산 함량이 증가하는 것으로 확인되었다. 이는 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육 기간 중 메밀새싹의 총페놀 함량 및 루틴 함량 증가에 유효한 영향을 미침으로써 항산화 활성의 증가에 긍정적인 영향을 미치는 것을 의미하며, 따라서 메밀싹기름채소의 생육 기간 동안 MeJA, NaCl 및 light 을 병행 처리할 경우 메밀싹기름채소의 항산화적 기능을 활성화시켜 영양적인 가치를 증가시킬 뿐만 아니라, 기능성 증진물질을 유도할 수 있는 유용한 기술도 적용 가능할 것을 확인하였다.

○ 1차와 2차에 걸친 실증실험을 통하여 메밀싹기름채소에 대한 MeJA 기반 병행처리의 효과가 나타나는 것을 알 수 있었으며, 그 결과 또한 총 페놀 함량이 최대 약 111% 이상, 루틴 함량이 약 94% 이상, frap assay가 약 106% 이상 증가하는 것으로 나타나 유용성분의 유의적인 증가가 있음을 알 수 있었다.

○ 기능성증진 메밀싹기름채소에 대한 유통 중 품질변화를 조사하기 위하여 관능적으로 우수한 대조구, MeJA 처리구와 MeJA+염화물 처리구를 병행 처리하여 메밀싹기름채소를 수확 후  $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 10일간 저장하면서 2일 간격으로 중량 감소율, 색도 및 갈색도, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량의 변화를 측정된 결과, 저장 기간이 경과하는 동안 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 비슷한 경향으로 중량 감소율, Hunter b 값, 갈색도, 루틴 및 카로티노이드 함량은 증가하는 것으로 나타났으며, Hunter L 및 a 값과 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능 및 frap assay 값은 감소하는 것으로 나타났다. 또한 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 및 NaCl 과 MeJA 를 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 값 및 루틴 함량이 수확 직후부터 10일의 저장 기간 동안 모두 대조구 (Control) 에 비해 높은 값을 유지하는 것으로 확인되었다. 즉, NaCl 과 MeJA 의 병행 처리가 수확 후 메밀싹기름채소의 저장 기간에 따른 항산화 활성의 변화에는 큰 영향을 미치지 않았으나 수확 전 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량 및 루틴 함량에는 긍정적인 영향을 미침으로써 항산화 활성에 유용한 작용을 하게 되고 이러한 효과는 수확 후 메밀싹기름채소를 저장하는 동안에도 안정적인 것으로 사료된다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행 처리는 메밀싹기름채소의 항산화적 기능을 활성화시켜 영양적인 가치를 증가시킬 뿐만 아니라, 기능성 증진물질을 유도할 수 있는 유용한 기술로서 적용 가능할 것으로 판단된다.

## 제 2 절 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 식품 소재화 연구

### 1. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 영양성분 분석

○ 메밀싹기름채소를 기능성 소재로 활용하기 위하여 MeJA 처리구와 대조구간의 영양성분 및 기능성분을 분석하였다. 동일한 처리 조건에서 발아 후 7일간 생육시킨 후, 아미노산 함량, 유기산, 유리당 함량 및 DPPH 라디칼 소거능 등의 특성을 조사하였다. 수율의 경우 발아 3일까지 처리구별 큰 차이를 나타내지 않았으나 발아 5일 후에 다소 차이를 나타내어 chitosan 처리구가 가장 높은 수율을 나타내었다. 총 페놀 함량은 발아 3일 이후 급격히 증가하여, 대조구에 비하여 MeJA 처리구는 약 50% 이상 증가하였으며 chithsan 처리구도 약 10% 내외의 증가를 나타내었다. 루틴 함량은 MeJA 처리구에서 발아 3일에서 5일 사이에 가장 높은 약 40% 이상의 증가를 나타내었다. 또한, DPPH 라디칼 소거능에 있어서도 총 페놀 함량 및 루틴 함량과 유사한 경향을 나타내어, 대조구에 비하여 약 25% 이상 DPPH 라디칼 소거능 증가 효과를 나타내었다. 메밀싹기름채소의 생육 시기별로 수확한 후 유리당, 유기산 및 아미노산 함량을 분석한 결과, 생육일수에 대한 변화가 심하여 시료구들간의 유의적인 차이가 나타나지 않은 것으로 확인되었다. 결과적으로 elicitor 처리구 (MeJA 처리구) 와 대조구에서는 총 페놀 함량 및 항산화 활성 등이 매우 증가함에도 불구하고, 영양적인 차이는 크지 않은 것을 알 수 있어 메밀싹기름채소의 품질을 향상시키는데 MeJA 처리가 적절한 것임을 알 수 있었다.

### 2. 반응표면분석법에 의한 메밀(*Fagopyrum esculentum* M.) 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화

○ 메밀 새싹을 이용하여 기능성 소재로 활용하기 위하여 반응표면 분석법에 의하여 새싹채소의 추출조건에 따른 새싹채소의 유용성분의 추출특성을 모니터링 하였다. 수율의 최대값은 약 24.95%이었으며, 이때의 추출조건은 추출온도 55.75℃, 추출시간 8.75 hr 및 에탄올비율 15.65% 이었다. 총 페놀성 화합물 함량은 추출온도 28.11℃, 추출시간 8.65 hr 및 에탄올비율 81.73% 에서 약 22.24 mg/g 의 최대값을 나타내었으며, α-glucosidase 저해활성은 최대값 약 85.38% 로서 추출온도 9.62℃, 추출시간 7.86 hr 및 에탄올비율 57.58% 로 나타났다. ACE 저해활성의 최대값은 약 86.91% 로서 그때의 추출조건은 추출온도 10.12℃, 추출시간 4.86 hr 및 에탄올비율 44.44% 이었다. 메밀 새싹의 유용성분의 추출조건을 설정하기 위하여 추출조건별 추출물의 수율, 총 페놀성 화합물 함량, α-glucosidase 저해활성능 및 ACE 저해활성능에 대한 추출특성을 조사한 결과, 메밀 새싹 추출물의 품질특성을 최대화 할 수 있는 추출조건은 추출온도 0~70℃, 추출시간 2~8 hr 및 에탄올농도 30~80% 로 나타났다.

### 3. 용매 특성에 따른 메밀싹기름채소의 유효성분 추출 조건 설정

○ 열수, 에탄올, 메탄올 및 아이소프로판올을 이용하여 추출온도 70℃, 추출시간 5 hr, 농도 범위 30~100% 에서 루틴의 추출 수율에 대하여 조사한 결과 메탄올, 에탄올, 아이소프로판올 모두 50~70% 농도의 용매에서 5~7 mg/g 로 가장 추출 효율이 좋았으며, 총 페놀 함량에 있어서도 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 반응표면분석법에서의 결과와 유사하였다. 유리당은 용매 비율별 차이를 나타내지 않았으며, 유기산은 용매비율이 낮을수록 수분함량이 높을수록 더 높은 값은 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 용매별 뚜렷한 차이를 나타내지는 않았지만 메탄올과 이소프로판올은 용매비율이 높을수록, 에탄올은 70%에서 높은 효과를 나타내었다. 아질산소거능은 용매비율과 관계없이 높은 소거능을 나타내었으며, 용매별 차이도 뚜렷하게 나타나지 않았다. 결과적으로 용매종류에 따른 추출효율은 이소프로판올이 다소 높은 경향을 나타내었으나 용매들 간의 차이는 크지 않아 식품소재로서 산업에 활용하기 위해서는 70% 에탄올이 적정 추출용매로 판단되었다.

### 4. 메밀싹기름채소 추출물의 분리정제

○ 메밀싹기름채소 유래 수용성 페놀 물질을 생산하기 위하여 반응표면분석법 및 용매 특성별 추출조건 실험에 의하여 선별된 추출 조건으로 메밀싹기름채소를 추출 (BCE) 한 후 Amberlite XAD-7 레진을 이용하여 페놀성 물질의 정제 (SCP) 를 시도하였다. 총 페놀 함량에 있어서 메밀싹기름채소를 추출 후 약 42.1~61.8 mg/g 에서 컬럼 정제 후에 약 301.5~367.3 mg/g 로 약 5배 정도 증가하였다. 또한 정제 전과 후에 DPPH 라디칼 소거능은 약 4~6배, FRAP 은 약 4.9~11.2배 증가하는 것으로 나타났다. 결과적으로 레진을 이용한 정제과정에서 페놀성 화합물의 증가와 함께 항산화 활성이 증가하는 특성을 나타내었을 뿐만 아니라 수용화와 흡습특성이 개선되는 부가적인 효과도 가져오는 것으로 나타나 식품소재로서 활용 가능성이 높을 것으로 판단되었다.

### 5. 메밀싹기름채소로부터 추출한 천연항산화성분을 이용한 알긴산 비드제조

○ 메밀싹기름채소 유래 수용성 (SBP) 및 난용성 페놀 물질 (NBCE) 을 활용하여 알긴산 비드를 제조하였다. 비드는 난용성 페놀 물질에 대하여 dichloromethane (DCM) 을 이용하여 W/O/W 형 emulsion 비드를 제조하였고, 수용성 페놀 물질에 대하여 알긴산 비드를 제조하였다. 난용성 페놀 물질을 비드로 제조하기 위한 적정 제조 조건은 MeOH : DCM, Alginate,

loading = 1:5, 2%, 0.1 mL 로 설정하였고, 수용성 페놀 물질에 대한 알긴산 비드는 2% 알긴산 유제를 사용하였다. Emulsion 비드는 제조 후 포집율이 약 86.32% 로 높게 나타난 반면, 알긴산 비드는 약 62.20% 로 나타나 알긴산 비드의 수용성 페놀 물질 비드에 대한 포집효율이 낮은 것을 알 수 있었다. 또한, emulsion 비드의 건조 방법에 따른 방출 실험에도 동결 건조한 emulsion 비드가 최종 용출량에 대한 50% 가 되는 용출시간에 대하여 약 20배 빠른 용출 효과를 나타내었으나 5 시간 방출실험 동안 두 시료군 모두 약 80% 이상의 방출특성을 나타내었다. pH 에 따른 방출 실험에서도 pH 7.4 의 중성조건에 비하여 pH 1.2 의 산성조건에서 약 20% 정도의 방출특성을 나타내어 산성조건에서는 알긴산 비드가 비교적 안정성을 유지하는 것으로 나타났다. 결과적으로 메밀싹기름채소로부터 추출한 수용성 및 난용성 페놀 물질을 이용하여 제조한 비드를 식품소재로서 활용할 응용 가능성이 높은 것으로 판단하였다.

### 제 3 절 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 Metabolomic 특성 및 지질대사 개선 연구

#### 1. 메밀싹기름채소의 기존생산 방식과 MeJA 처리구간의 Metabolomic 특성 조사

○ 메밀싹기름채소의 abiotic 처리에 의한 기존 생산품과의 비교를 위하여 가장 우수한 효과를 나타낸 MeJA 처리구를 선발하여 발아 후 7일간 생육시켰으며, 동일한 처리조건에서 기존 생산 방식 (대조구) 와 MeJA 처리구간의 비교 및 품질특성을 조사하여 메밀싹기름채소의 metabolomic analysis 를 실시하였다. PLS-DA score plot 상에서 수확시간에 관계없이 MeJA 처리군과 비처리군이 서로 분리되는 것이 확인되었으며 시간별로는 하루 동안 재배한 메밀싹과 3, 5 및 7일 동안 재배한 싹이 뚜렷하게 구별되는 것을 확인하였다. 이들의 변화에 관여하는 metabolites 을 분석하기 위하여 PLS-DA loading plot 을 한 결과 mass 값 (M-H) 이 447.0, 431.0, 609.1 인 물질이 재배기간에 따라 주로 증가하는 것으로 확인되었다. 이를 UPLC 및 MS/MS 로 측정된 결과 루틴으로 확인되었다. 또한, 무처리구인 경우 메밀싹 재배 1일 이후에 total phenolic compound 함량이 급격히 증가하다가 3일 이후에는 더 이상의 증가 추세가 관찰되지 않는 반면 MeJA 처리구인 경우 3일 이후 증가폭이 다소 감소하기는 하지만 재배 7일 동안 꾸준히 증가한 것으로 확인되었으며 7일에 수확한 메밀싹의 경우 비처리구에 비해 약 1.5배 증가한 것으로 관찰되었다. UPLC-Q-TOF MS 를 통해 flavonoid 와 flavone pathway 를 도식한 결과, phenylpropanoid pathway 가 진행되는 것을 확인하였다.

## 2. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 *In vitro* 효능 평가

○ 적정 elicitor 처리에 의한 유효시료로 평가된 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군 3종의 재배일수에 따른 당뇨, 비만 및 고혈압 관련 *in vitro* 효능을 비교분석한 결과,  $\alpha$ -amylase 활성저해율은 MeJA 0.1 mM 처리군, MSM 0.05% 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, 무처리군 순으로 저해활성이 높은 것으로 평가되었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배7일 시료가 약 63%의 저해활성으로 가장 효과적인 것으로 평가되었다. 전분가수분해율은 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군이 무처리군과 비교하여 다소 낮은 것으로 나타났으며, 3종의 처리군은 재배일수와 무관하게 유사한 수준인 것으로 평가되었다. 반면, 전분가수분해지수는 무처리군을 제외하고는 3종의 처리군 모두 재배일수에 따라 낮아지는 경향을 나타내었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 발아 후 5일 시료가 약 82로 보다 효과적인 것으로 평가되었다.  $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율은 MeJA 0.1 mM 처리군, MSM 0.05% 처리군, 무처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군 순으로 저해활성이 높은 것으로 평가되었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 발아 후 5일 시료의 경우 약 75.1%로 가장 높은 저해활성을 나타내는 것으로 평가되었다. ACE 활성저해율은  $\alpha$ -glucosidase 활성저해 패턴과 유사한 경향을 나타내어 MeJA 0.1 mM 처리군의 발아 후 5일 시료가 약 77.8%로 가장 높은 ACE 활성을 저해하는 것으로 평가되었다. 48시간동안의 담즙산 흡수지연은 반응 48시간 때에 MeJA 0.1 mM 처리군과 키토산 30 cps 0.1% 처리군의 발아 후 3일 시료와 발아 후 5일 시료가 흡수지연 효과가 큰 것으로 평가되었다. 적정 elicitor 처리결과 유효시료로 평가된 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군 3종의 기능소재 재배일수에 따른 *in vitro*  $\alpha$ -amylase 저해활성, 전분가수분해 저해특성, 전분가수분해지수,  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성, ACE 저해활성 및 담즙산흡수지연 특성을 비교분석한 결과 0.1 mM Methyl Jasmonate 처리군의 발아 후 5일 시료에서의 효능이 뛰어난 최적 소재로 판단되었다.

○ 또한 식물방어기작을 이용한 메밀싹기름채소에 병행처리 결과 유효시료로 평가된 MeJA, NaCl 및 light 처리한 시료와 MeJA와 light를 병행처리한 시료에 대한 생육 기간별 *in vitro* 효능 평가를 실시하였다. 시료는 발아 후 1, 3 및 5일 생육된 것을 사용하였으며, 각 시료에 대한  $\alpha$ -amylase 저해활성, 전분가수분해저해특성, 전분가수분해지수,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성, ACE 저해활성 및 담즙산흡수지연 특성을 비교분석한 결과, 재배일수에 따라 그 효능이 증가하였으며, 병행처리구간의 뚜렷한 차이는 나타나지 않아 발아 5일 시료에서  $\alpha$ -amylase 활성저해율은 약 94~93%, 전분가수분해지수는 약 85~83%,  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율은 약 56~

50%, ACE 활성저해율은 약 72~81%, 담즙산흡수지연율은 약 22~16%로 나타났다.

### 3. 메밀싹기름채소의 RAW 264.7 cell 에 의한 항염증효과 조사

○ 메밀싹기름채소의 항염증 효과를 확인한 결과 두 종류의 메밀싹기름채소의 추출물에서 농도 의존적으로 NO 생성을 억제시켰으며 저 농도에서는 물추출물이 알코올추출물보다 저해능이 우수하였으나, 고농도에서는 유사한 저해능을 나타내었다. 실험에 사용된 농도 내에서 어떠한 세포독성도 확인되지 않았으며 처리 시료의 농도가 높아질수록 LPS에 의한 세포사멸이 억제되어 200 µg/mL 에서는 대조구와 유사한 세포사멸 억제능을 나타내는 것으로 확인되었다.

### 4. 메밀싹기름채소 추출물에 의한 지방세포 내 지방축적 저감 및 ROS (reactive oxygen species) 생성 억제능 평가

○ 0.1 mM MeJA 처리한 메밀싹기름채소 추출물은 3T3-L1 지방세포의 분화를 억제하여 세포 내 지방축적을 대조구에 비하여 효과적으로 감소시켰으며, 이와 연관된 세포내 주요 전사인자들의 발현을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 세포내 ROS의 생성에 관여하는 NOX4의 유전자를 감소시켜 ROS에 의한 산화적 스트레스를 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 한편, 메밀싹기름채소추출물의 주요활성성분(major compounds)인 루틴에 의한 효과는 미비하게 나타나 루틴 이외의 항산화성 페놀화합물들에 의한 항비만 활성이 나타나는 것으로 사료되었다.

### 5. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 *In vivo* 고지혈증 개선 효과 측정

○ 본 연구는 Methyl Jasmonate 처리된 메밀싹기름채소와 고지방 식이를 흰쥐에 섭취시켜 당뇨, 비만 및 고혈압과 관련된 식이성 고지혈증의 개선효과를 조사하였다. 실험군은 정상대조군(NC), 고지방대조군(HFC), 메밀싹대조군(SC), MeJA 처리군(SM), MeJA, NaCl, Light 병행 처리군(SMNL), MeJA 처리 추출물군(SME)으로 나누어 4주간 자유급식으로 섭취시켰다. 모든 실험군의 평균 식이섭취량은 유의적인 차이가 없었으며, 정상쥐를 제외한 다른 실험군들의 사료효율 및 장기무게는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈중 GOT, 총 단백질, 알부민 및 혈당은 실험군들 간에 유의적인 차이가 없었으며 혈중 GPT, BUN 및 creatinine는 모든 실험군에서 정상 범위에 속하였다. 혈중 중성지방, 유리 지방산, 유리 콜레스테롤, CE/FC 비는 실험군 간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고지방 섭취에 의해 혈중 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 농도는 증가하였으며 고지방대조군과 비교해서 SC 군과 SM 군

의 혈중 총콜레스테롤, 에스테르 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 동맥경화지수는 유의적으로 감소하였다. 고지방 섭취에 의해 간장의 지질함량은 정상대조군보다 증가하였으며 고지방대조군에 비교하여 SM 군은 간의 총 지질, 중성지질, 콜레스테롤이 유의적으로 낮았으며, SC 군은 총 지질과 콜레스테롤이 SMNL 군은 중성지질과 콜레스테롤이 유의적으로 낮았다. 실험동물의 일일 건조 분변 무게 및 총 지질 배설량은 모든 실험군에서 유의적인 차이가 없었으나 고지방대조군과 비교해서 SM 군의 일일 변 중 총콜레스테롤, 중성지질이 SMNL 군은 일일 변 중 콜레스테롤이 유의적으로 많았다. 이상을 정리하여 보면 고지방식이에서 혈중콜레스테롤, 간지질, 간중성지질, 간콜레스테롤 저하효과는 MeJA 처리메밀씨기름채소군 (SM군) 이 메밀씨대조군 및 SMNL 군보다 더 큰 유효한 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

## 6. 식물방어기작을 적용한 메밀씨기름채소 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석

○ 고지방 식이를 통해 비만을 유도한 쥐에 식물방어기작을 적용한 메밀씨기름채소를 식이한 후 4주간 자율급식에 의한 식이를 실시하였다. 식이 4주 후 시료구의 혈청을 분리하여 시료구간의 대사체를 분석하였다. 모든 실험군에서 특이적인 mass profiles의 변화는 관찰되지 않았다. PLS-DA 를 통해 분석한 결과 정상군과 비만구가 분리되었으며, MeJA+NaCl 병행처리구를 식이한 실험구에서 정상군과 근접한 것으로 보아 비만에 어느 정도 효과가 있는 것으로 확인되었다. 그룹의 차이에 관여하는 물질을 확인하기 위하여 UPLC-Q-TOF MS 를 이용해 분석한 270개의 대사체들 중 유의적으로 차이 ( $p < 0.05$ ) 가 있는 86개 대사체들이 그룹간의 차이에 관여하는 물질들로 분석되었으나 이들 중 8개의 대사물질들 (Arginine, valine, carnitine, proline, nicotinamide, phenylalanine, lysophosphatidylcholine (LysoPC) 18:2, LysoPC 18:1) 만이 동정되었다. Arginine, carnitine, proline, phenylalanine인 경우 고지방 식이에 의해 그 함량이 감소하는 경향을 보였으나 항비만 효과를 보인 NaCl 와 MeJA 혼합처리군과 메밀씨 추출물 처리군에 의해 대부분 정상 수준으로 회복되는 것으로 확인되었다.

## V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 본 연구과제에서는 식물방어기작을 이용하여 메밀씨기름채소의 유효활성성분인 페놀 및 루틴의 함량을 효과적으로 향상시킬 수 있었다. 메밀씨기름채소는 신선한 상태 그대로 섭취하는 경우가 많으며, 본 연구 성과를 활용하여 메밀씨기름채소를 재배 한다면 아무런 처리도 하지 않은 것에 비해 2배 이상 활성성분이 증가된 메밀씨기름채소를 재배/유통 할 수 있을 것이다.



또한 유효성분 함량이 증가된 메밀싹기름채소를 추출 및 정제과정을 통하여 메밀싹기름채소 유래 수용성페놀물질로 만들어 식품 소재로서의 활용이 가능할 뿐만 아니라 이를 이용해 알긴산 비드 등 다양한 제품으로 응용이 가능할 것이다.

○ 위의 내용을 바탕으로 메밀싹기름채소로부터 페놀 및 루틴 등의 유용성분 함량을 증가시키는 방법에 대해 특허 1건을 출원하였고 메밀싹기름채소의 최적 추출방법 및 응용분야에 대한 국내논문 2편을 투고하였으며, 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 metabolomic 분석관련 국외논문 1편을 투고하였다. 또한, 유용성분 증진에 따른 메밀싹기름채소의 비만 억제 효과 관련 내용으로 국외논문 2편을 투고 중에 있으며, 지질대사 개선 메밀싹기름채소 제조방법 관련한 특허 출원도 진행 중에 있다.

○ 본 연구를 통해서 메밀싹기름채소를 비롯한 싹기름채소에 대한 식물방어기작 및 소재화 기술을 적용하고 유효 활성성분을 향상시킨다면 싹기름채소 및 관련 식품산업의 다양한 제품으로 적용 될 수 있을 것이라 여겨진다.

○ 연구수행 결과, 예상 활용분야는 다음과 같다.

○ 논문 투고

: 염화물처리에 따른 메밀싹기름채소의 영양성분 증폭효과에 관한 논문 투고

: Abiotic or biotic 복합 처리에 따른 메밀싹기름채소의 유효성분 증폭효과에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소의 루틴 및 항산화활성 증가를 위한 염화물과 MeJA의 병행처리 효과에 관한 논문 투고

: 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소를 식이에 의한 *in vivo* 상에서의 지질 개선 효과에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소를 식이에 의한 *in vivo* 상에서의 지질개선 효과에 대한 metabolomics 분석에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소 유래 천연 항산화물질을 포함한 조성물 제조에 관한 특허 출원

○ 메밀싹기름채소 등 싹기름채소류 수확 산지 및 베이비 채소 수확 산지 등

○ 싹기름채소 시스템 설계 및 제작업체

○ 천연 기능성 소재 산업

○ 유효 활성성분이 향상된 싹기름채소의 공급으로 인한 고품질/차별화 상품 확보에 기여

○ 기능성 증진 싹기름채소의 brand화

○ 고품질의 싹기름채소 이용 제품 제조와 다양한 소재 제품의 개발로 기능성 식품의 다양화

# SUMMARY

(영문 요약문)

## I. Title

Development of high value food ingredient and high quality sprouts vegetable applying plant defense mechanism

## II. Purpose and necessity on development of research

In order to expand the demand creation of domestic vegetable sprouts, this study purposes to develop the functional food ingredients through deveoping a treatment method using the food defense mechanism and then producing the high-functional buckwheat vegetable sprout as a method to enhance the functionality to te buckwheat vegetable sprout, which is now being produced through eco-friendly agricultural method, and to contribute to enchancing the international competitiveness of domestic vegetable sprout-related food and to raising the farmer's income through verifying physiological characteristics of the funtional vegetable sprouts and functional food ingredient products *in vitro* and *in vivo*.

## III. Contents and range on development of research

- 1) Development of proper treatment conditions by unit process for producing the functional vegetable sprout using the plant defense mechanism
  - Analysis on the functional ingredient of buckwheat vegetable sprout
  - Development of proper treatment conditions by unit process
  - Selection of optimal abiotic elicitor treatment agent and condition-setting test
  - Selection of optimal stress treatment method and condition-setting test

- Functionality enhancement effect: Inspection *in vitro* over diabetes, obesity and high blood pressure efficacy depending on treatment conditions

2) Development of extraction and stabilization technology of efficient ingredients

- Development of separation and extraction technology of efficient ingredients

- Optimization of devitalization prevention and extraction process of efficient ingredients

- Functionality maintenance of efficient ingredients, and storage stability analysis and assessment

3) Development of food ingredient technology of functional materials

- Pre-treatment process development for using functional food ingredients

- Analysis and assessment on storage stability of functional powder ingredients

4) Quality assessment of vegetable sprout to enhance functionality for field application test

- Test of proper treatment conditions of vegetable sprout to enhance the functionality using food defense mechanism

- Applicability assessment of food ingredients applying capture technology of functional materials

- Efficacy search and evaluation over diabetes, obesity and high blood pressure In vivo

- Field application complementary test and industrialization promotion for transferring the technology

## **IV. Results on development of research**

**Section 1. Technology development by unit process of vegetable sprout to enhance the functionality using plant defense mechanism**

**1. Setting of irrigation treatment conditions during sanitary seed treatment and germination of vegetable sprout**

○ This study was conducted to investigate into the effects of aqueous chlorine dioxide and hot water treatment on the germination and reduction of microbial load in sprout seeds . The increase in treatment time and concentration of aqueous chlorine dioxide water resulted in the increased reduction in total aerobic counts. The seeds treated with aqueous chlorine dioxide (100 ppm/20 min, 200 ppm/20 min) were showed about 1 log cycle decrease in microbial loads. Germination of seeds was not adversely affected by any of the treatments, but the germination rate of the seeds in 55°C/20 min treatment group was reduced by 10% as compared to that of control. The combined treatment of hot water and aqueous chlorine dioxide showed better results in microbial reduction and germination rate than the single treatment. Combined treatment of seeds with 100 ppm aqueous chlorine dioxide and hot water (45°C and 50°C) were showed about 2 log cycle decrease in microbial loads and germination rates were showed a slight to increase by 97.0~97.72%. Total aerobic counts in radish seeds were decreased by aqueous chlorine dioxide and hot water treatment in the order of aqueous ClO<sub>2</sub> + hot treatment > aqueous ClO<sub>2</sub> > Cl water > hot-water > control.

○ The effect of citric acid-aqueous chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) treatment of sprout seeds artificially contaminated with *Salmonella typhimurium* was studied. Sprout seeds were inoculated by immersion, in more than 10<sup>6</sup> log CFU/g seed, of a suspension of *S. typhimurium*, dried, and stored sealed at 4°C. Sprouts seeds soaked in 200 ppm aqueous ClO<sub>2</sub> solution for 10 min showed a bacterial reduction of 1.08 log CFU/g seed, and the lowering of microbial burden noted in seeds soaked in 2% (w/v) citric acid solution for 10 min was 2.89 log CFU/g seed. Next, radish seeds were exposed to 0.5% (v/v) glycerol solution for 10 min either before or after treatment with 200 ppm aqueous ClO<sub>2</sub> or 2% (w/v) citric acid for 10 min. Glycerol exposure after citric acid treatment reduced bacteria by 3.46 log CFU/g seed, and glycerol treatment after aqueous ClO<sub>2</sub> treatment reduced the microbial burden by 2.14 log CFU/g seed. Both glycerol treatments yielded better elimination of *S. typhimurium* than did a single treatment with either citric acid or aqueous ClO<sub>2</sub>. Radish seeds inoculated with *S. typhimurium* were treated throughout the entire growth period. Although radish seed treatment was effective, treatment by citric acid and aqueous ClO<sub>2</sub> after sprouting was not effective to eliminate *S. typhimurium*.

## **2. Proper elicitor treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat vegetable sprout**

○ In order to examine the useful ingredient change depending on the food defense mechanism of buckwheat vegetable sprout, this study inspected the change of methyl jasmonate, MSM, chitosan, CO<sub>2</sub>,N<sub>2</sub>and UV treatment. It examined the change of the α-amylase inhibitory activity, α-glucosidase inhibitory and total phenolic content, ACE inhibitory activity and individual phenolic compounds depending on various treatments. As a result, the change of biologically active and functional ingredient content was observed at all treatments and it could be known that the phenolic compounds rutin content of them increased drastically by the MeJA treatment. The significant change of phenolic compounds could be observed by MSM and chitosan treatment, α-glucosidase impediment rate also increased and the α-amylase inhibitory activity increased at the low-density treatment of chitosan. On the other hand, it was found that the UV treatment not only reduced the phenolic compounds content, but also mitigated the increase of physiological activity. In addition, it was observed that the CO<sub>2</sub>andN<sub>2</sub>treatment showed the increase effect by the long-term treatment. The average ACE inhibition effect of buckwheat vegetable showed around 49% within the same concentration and, compared to the result, did not show a clear effect in MeJA treatment, the treatment over 100mg% of chitosan, N<sub>2</sub>treatment and acid treatment, but showed the highly significant effect in MSM 50 mg% treatment, LA 50 mg% + chitosan 30cps 50 mg% treatment, UV-B treatment and CO<sub>2</sub> 24hr treatment.

## **3. Quality characteristic change of buckwheat vegetable sprout depending on single and combined elicitor treatment**

○ In order to examine the useful ingredient change of food defense mechanism response depending on the abiotic and stress-combined treatment of buckwheat vegetable sprout, this study designed a test based on the proper elicitor treatment result. The results to conduct the treatment period and times of MeJA treatment, UV-B combined treatment conditions, Light combined treatment condition and MeJA, UV-B, Light combined treatment condition and test, which showed the most excellent treatment effect in the proper elicitor treatment result:

- ① According to the result to examine the useful ingredients for 7 days after germination, it was found that they increased drastically by 5 days after germination and decreased a little from 5 days after germination. It was found that the total phenolic content, the useful ingredient, showed the tendency to decrease a little after 5 days since germination in contrast treatment, but was maintained after 5 days since germination in MeJA treatment. Accordingly, the proper harvest period of buckwheat vegetable sprout was set 5 days after germination.
- ② It was found that the same useful ingredient increase effect (around 40% compared to Control) was shown in the buckwheat vegetable sprout treated over 3 times 5 days after germination and the useful ingredient did not show a significant effect compared to Control under the treatment conditions below the above-mentioned one. Accordingly, the treatment over 3 times after germination or the treatment of the 1 time per 1 day was set proper over MeJA treatment.
- ③ According to the treatment result of 0-120 minute treatment in order to set the condition about the UV-B treatment time during growing period, the useful ingredient showed the tendency to increase by the 40 minute-treatment (around 15% compared to Control) but did not show the decrease or significant increase during the more treatment time. Because the UV-B combined treatment condition was shown excellent by 30 minutes in terms of sensual aspect, it was set as 30 minutes.
- ④ According to the result to treat light for 0-7 hours under the fixed 30 minutes of UV-B treatment in order to set the condition about the light treatment time during growing period, the useful ingredient showed the tendency to increase by the treatment of 4 hours (about 20% compared to Control) but showed the same effect during the more treatment time. Because it was examined that the surface color of buckwheat vegetable sprout was shown heavy red in the treatment during over 4 hours, so the UV-B and Light-combined treatment condition was set as UVB (30 minutes) + Light (4 hours).

⑤ According to the result to conduct the test with the contrast treatment, MeJA treatment, MJ+UVB, MJ+light and MJ+light+UVB, the MJ+light (about 120% compared to Control), MJ+light+UVB (about 98%), MJ+UVB (about 85%), MJ (about 80%) and Control in order were shown in the phenolic content of the useful ingredient. As for DPPH radical scavenging ability, the treatment showed the treatment effect over about 10% compared to Control; the highest effect in MJ+light treatment of them. In addition, the rutin content showed the similar tendency as the total phenolic content and the MJ+light treatment increased over 80%; the most excellent effect.

○ In order to conduct the abiotic and stress treatment of buckwheat vegetable sprout as a secondary combined treatment:

① The effect was observed through treating NaCl by concentration. In order to perform the NaCl treatment which can work in metabolic mechanism, in addition to the combined treatment of treatments showing the excellent effect in the proper elicitor treatment results, this study tried to set the proper treatment concentration through the treatment by salt concentration (0–200 mM). According to the treatment, the total phenolics content in the treated concentration of 100 mM increased by over 112% compared to Control and DPPH radical scavenging was also shown about 30% higher. The germination rate showed higher up to 50 mM treatment concentration compared to the Control and it was examined to be similar in the 100 mM concentration treatment. It was found that the NaCl treatment increased the introduction of functional materials in buckwheat vegetable sprout as a whole and it was examined to be possible in the treatment concentration below 100 mM as the proper concentration.

② As the secondary combined treatment to enhance the functionality of buckwheat vegetable sprout, the effect analysis depending on MeJA treatment and NaCl treatment was conducted. According to the result to treat through classifying into Control, MeJA treatment, NaCl treatment, MJ+NaCl 10mM and MJ+NaCl 50mM under the same conditions, all the treatments did not show significant difference in the growing characteristics, but the treatment of MJ+NaCl 50mM was shown to decrease

by about 8%. The total phenolic content, rutin content and DPPH inhibitory activity were shown much in MJ+NaCl 10mM, MJ+NaCl 50mM, MeJA treatment = NaCl treatment and Control in order; the enhancement effect depending on the NaCl combined treatment. The total phenolic content increased by over 103% compared to Control in MJ+NaCl 10mM, and the rutin content increased by over 50%.

- ③ In order to enhance the functionality of buckwheat vegetable sprout, the light treatment (4 hours), which was shown effective in time of MeJA combined treatment, was combined. Through treating MeJA, NaCl and light to buckwheat vegetable sprout treated under the same condition, the Control, MeJA+light treatment, MJ+NaCl 10 mM+light treatment and MJ+NaCl 50mM+light treatment were set. The total phenolic content, rutin content and DPPH inhibitory activity were shown much in MJ+NaCl 10mM+light treatment, MJ+NaCl 50mM+light treatment, MeJA+light treatment = NaCl+light treatment and Control in order; the enhancement effect depending on the NaCl combined treatment. The total phenolic content increased by over 109% compared to Control in MJ+NaCl 10mM+light treatment, and the rutin content increased by over 56%.

#### **4. Functionality enhancement effect and actual test of buckwheat vegetable sprout by the combined elicitor treatment**

○ In order to conduct the positive test with regard to the functionality enhancement effect over the food defense mechanism response after the abiotic and stress-combined treatment of buckwheat vegetable sprout, the test was designed based on the elicitor-combined treatment result. During the treatment period of MJ+light, MJ+NaCl, MJ+NaCl 10mM+light treatment, MeJA treatment and Control which were found excellent as a result of combined treatment, the quality change was examined for 2 years with seeds produced in 2009 and 2010.

- ① According to the combined treatment using the seeds produced in 2009, it was found that length, total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content, acids and free sugar content all increased in the all groups including Control. It was found that the MeJA, NaCl and light combined treatment did not have a



significant effect on the length change of buckwheat sprout during growing period but had a useful effect on total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content. Especially, in case of the MNL conducting the combined treatment of all MeJA, NaCl and light, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed the most excellent effect by 87.01, 56.55, 106.72, 87.61, 145.16, 185.63 and 171.74% respectively, compared to Control 7 days after growing period. In addition, in case of the ML conducting the combined treatment of MeJA and light, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed high by about 77.78, 55.26, 102.44, 77.50, 151.26 and 138.68% respectively, compared to Control 7 days after growing period, and in case of the MN conducting the combined treatment of MeJA and NaCl, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed high by about 51.95, 51.75, 65.88, 30.61, 33.05 and 167.70% 7 days after growing period, so compared to Me treating Control and MeJA, in case of the Me conducting the combined treatment of MeJA, NaCl and light, it was found that the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content increased. The result means that the MeJA, NaCl and light combined treatment has a positive effect on the increase of antioxidant activity through increasing the total phenolic content and rutin content of buckwheat sprout during the growing period, so the combined treatment of MeJA, NaCl and light during growing period of buckwheat sprout not only increases the nutrient value through activating the antioxidant function of buckwheat sprout, but also can be applied as the useful technology to induce the functionality enhancement materials.

② According to the combined treatment using the seeds produced in 2010, it was found that length, total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content, acids and free sugar content all increased in the all groups including Control during growing period. It was found that the MeJA, NaCl and light combined treatment did not have a significant effect on the length change of buckwheat sprout during growing period but had a useful effect on total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content. in case of the MNL conducting the combined treatment of MeJA, NaCl and light 7 days after growing period, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed higher by about 80.30, 39.32, 73.45,

71.17, 96.94 and 50.87% respectively compared to Control, in case of the ML conducting the combined treatment of MeJA, and light, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed higher by about 111.74, 38.98, 105.11, 94.32, 68.64 and 67.76% respectively compared to Control and in case of the MN conducting the combined treatment of MeJA and NaCl, the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content showed higher by about 78.85, 37.49, 71.10, 35.31 and 58.56% respectively compared to Control, so in case of the combined treatment of MeJA, NaCl and light during growing period of buckwheat sprout, it was found that the total phenolic content, electronic donating activity, frap assay, rutin content, carotinoids content and acids content increased. The result means that the MeJA, NaCl and light combined treatment has a positive effect on the increase of antioxidant activity through having a useful effect on the increase of the total phenolic content and rutin content of buckwheat sprout during the growing period, so the combined treatment of MeJA, NaCl and light during growing period of buckwheat sprout not only increases the nutrient value through activating the antioxidant function of buckwheat sprout, but also can be applied as the useful technology to induce the functionality enhancement materials.

○ We study could be known that the combined treatment based on MeJA over the buckwheat vegetable sprout showed a significant effect through the first and second positive tests, and as a result, the phenolic content increased by over 111%, rutin content by over 94% and frap assay by over 106%, so it could be known that the useful ingredients showed the significant increase.

○ According to the result to measure the change of weight reduction rate, chromaticity and brown chromaticity, total phenolic content, electron donating activity, frap assay, rutin content and carotinoids content while storing for 10 days at 1°C at two-day interval after harvesting buckwheat vegetable sprout through combined treatment of Control, MeJA treatment and MeJA+NaCl, which are excellent in sensitivity, in order to examine the quality change during the circulation of buckwheat vegetable sprout enhanced in functionality, it was found that weight reduction rate, Hunter b value, brown chromaticity, rutin content and carotenoids content increased in similar fashion in all the groups including Control during the storage period passage and that Hunter L and a value, total phenolic content, electron donating activity and frap assay value decreased. In addition, it was found that total phenolic content, electron donating activity, frap assay and rutin

content of the exclusively treated MeJA and the MeNa treated with NaCl and MeJA in parallel remained higher compared to Control during storage period(10 days) right after being harvested. In order words, the combined treatment of NaCl and MeJA did not have a big effect on the change of antioxidant activity depending on the storage period of buckwheat vegetable sprout after being harvested, but had a positive effect on the total phenolic content and rutin content of buckwheat vegetable sprout before being harvested and then showed a useful action to antioxidant activity, so it was thought that the effect remained stable during the storage period of buckwheat vegetable sprout after being harvested, too. Accordingly, it was found that the combined treatment of NaCl and MeJA not only increases the nutrient value through activating the antioxidant function of buckwheat vegetable sprout, but also can be applied to a useful technology to induce the functionality enhancement materials.

## **Section 2. Research on food ingredient of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism**

### **1. Analysis on nutrient ingredient of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism**

○ This study analyzed the MeJA treatment, Control nutrient ingredient and function ingredient in order to use buckwheat vegetable sprout as a functional ingredient. It examined the characteristics of amino acids content, organic acids, free sugar content and DPPH inhibitory activity after raising for 7 days at the same treatment conditions. Yield rate did not show a bit difference by treatment for 3 days after germination but showed a slight difference after 5 days of germination, so the chitosan treatment showed the highest yield rate. The total phenolic content increased drastically after 3 days of germination, MeJA treatment showed the increase of total phenolic content by over 50% compared to Control and chitosan treatment also increased by around 10%. The rutin content in MeJA treatment showed the highest increase rate of over 40% between 3 and 5 days after germination. In addition, DPPH radical scavenging ability showed the similar tendency as total phenolic content and rutin content, so it showed the increase effect by over 25% compared to Control. According to the analysis on the free sugar, organic acids and amino acids content after harvesting the buckwheat vegetable sprout by growing period, it was found that the sample interval did not show the significant difference due to the severe

change of raising days. As a result, though the total phenolic content and antioxidant activity increased in elicitor treatment (MeJA treatment) and Control, the nutrient difference did not show a big difference, so it could be found that MeJA treatment was proper in enhancing the quality of buckwheat vegetable sprout.

## **2. Optimization of Extraction Conditions to Obtain Functional Components from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) Sprouts, using Response Surface Methodology**

○ Response surface methodology (RSM) was used to optimize extraction conditions for functional components of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). A central composite design was applied to investigate the effects of three independent variables, namely extraction temperature (X1), extraction time (X2), and ethanol concentration (X3), on responses including extraction yield (Y1), total phenolic content in the extract (Y2),  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity (Y3), and acetylcholine esterase (ACE) inhibition activity (Y4). Data were analyzed using an expert design strategy and statistical software. The maximum yield was 24.95% (w/w) at 55.75°C extraction temperature, 8.75 h extraction time, and 15.65% (v/v) ethanol. The maximum total phenolic yield was 222.45 mg/100 g under the conditions of 28.11°C extraction temperature, 8.65 h extraction time, and 81.72% (v/v) ethanol. The maximum  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity was 85.38% at 9.62°C, 7.86 h, and 57.58% (v/v) ethanol. The maximum ACE inhibition activity was 86.91% under extraction conditions of 10.12°C, 4.86 h, and 44.44% (v/v) ethanol. Based on superimposition of a four-dimensional RSM with respect to levels of total phenolics,  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity, and ACE inhibition activity, obtained under various extraction conditions, the optimum ranges of conditions were an extraction temperature of 0–70°C, an extraction time of 2–8 h, and an ethanol concentration of 30–80% (v/v).

## **3. Setting of functional ingredient extraction condition in buckwheat vegetable sprout depending on solvent properties**

○ According to the result to examine the rutin extraction yield rate at the extraction temperature of 70°C, the extraction time of 3 hours, the concentration boundary of 30–100% using hot water, ethanol, methanol and isopropanol, ethanol, methanol and isopropanol all

showed the best extraction efficiency as 5–7mg/g at the solvent of 50–70% concentration; this result was similar to that of response surface methodology. The free sugar did not show a significant difference by solvent proportion and the lower the solvent proportion of organic acids and the higher the moisture content, the higher the value. The DPPH radical scavenging did not show a clear difference by solvent but the higher the solvent proportion of the methanol and isopropanol, the higher effect the ethanol in 70%. Nitrite scavenging ability showed the high scavenging ability regardless of the solvent proportion and did not show a clear difference by solvent. As a result, the extraction efficiency depending on solvent kinds showed a slightly high tendency in isopropanol, but it was found that because the difference among solvents was not big, the ethanol of 70% was proper in using it in the industry field as food ingredient.

#### **4. Purification of extracted materials from buckwheat vegetable sprout**

○ In order to produce the water-soluble phenol materials originated from buckwheat vegetable sprout, this study tried the purification of phenol materials (SCP) using Amberlite XAD-7 resin after extracting the buckwheat vegetable sprout under the condition selected by the response surface methodology and the extraction condition test by solvent characteristics. The total phenolic content increased 5 times from 42.1–61.8mg/g after extracting the buckwheat vegetable sprout to 301.5–367.3mg/g after purifying column. In addition, it was found that the DPPH radical scavenging ability increased 4–6 times between pre- and post-purification and FRAP 4.9–11.2 times. As a result, it was found that because antioxidant activity as well as phenolic compounds increased in the course of purification using resin and water solubility and moisture absorption were also improved, they showed a high utilization possibility as a food ingredient.

#### **5. Manufacturing of beads using natural antioxidant ingredient extracted from buckwheat sprout**

○ Alginate bead was manufactured by using SBP and NBCE originated from buckwheat vegetable sprout. W/O/W style emulsion bead was manufactured by using dichlormetha (DCM) for NBCE, and alginate bead for SBP. The proper condition to manufacture NBCE is MeOH: It was set as DCM, alginate, loading=1:5, 2% and 0.1mL and alginate bead for SBP used 2% alginate emulsion. The emulsion bead was shown high as 86.32% of

collection ratio after manufacturing, while alginate bead as 52.20%; it could be known that the collection ratio for SBP is low. It was found through bead discharge test that the emulsion bead discharged over 80% within 3 hours, while the alginate bead did not show the elution of 50%. In addition, in the discharge test according to the drying method of emulsion bead, the freeze-dried emulsion bead showed a 20-times quick elution effect, but all the two samples showed the elution phenomenon of over 80% for 5 hours. In the discharge test depending on pH, the alginate bead showed the elution effect of about 20% compared to the neutral condition of pH 7.4, so it was found that the alginate bead remained comparatively stable under the acidic condition. As a result, it was found that the bead manufactured with non-soluble phenolic materials of natural antioxidant ingredients extracted from buckwheat vegetable sprout showed the high utilization possibility as a food ingredient.

### **Section 3. Research on metabolomic characteristics and lipid metabolic characteristics of buckwheat sprout applying plant defense mechanism**

#### **1. Metabolomic Analysis of Phenolic Compounds in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.) Sprout Treated with Methyl Jasmonate**

○ The effect of exogenous methyl jasmonate (MeJA) on phytochemicals of buckwheat sprouts cultivated under dark condition for 1d, 3d, 5d, and 7d was investigated by metabolomic analysis using ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight (UPLC-Q-TOF) mass spectroscopy (MS) and partial least-squares-discriminant analysis (PLS-DA). Without any change of appearance, MeJA and control groups were clearly discriminated from each other on PLS-DA score plot and metabolites contributing to the discrimination were assigned as chlorogenic acid, catechin, isoorientin, orientin, rutin, vitexin, and quercitrin having various health effects. In these metabolites, isoorientin, orientin, rutin, and vitexin were assigned as main phytochemicals of the sprout cultivated under dark condition. The accumulation of these metabolites was caused to increase the content of phenolic compounds and antioxidant activity of the sprout. This study revealed that the accumulation of these compounds was caused by the stimulation of the phenylpropanoid pathway by MeJA treatment. Therefore, these metabolites could be used to better understand the MeJA effect on buckwheat sprout phytochemicals and contributed

to improve the functional quality of the sprout.

## **2. Assessment on *in vitro* efficacy of buckwheat sprout applying plant defense mechanism**

○ According to a result to compare and analyze the *in vitro* efficacy depending on 3 kinds of planting days of MeJA 0.1mM treatment group, chitosan 30 cps 0.1% treatment group and MSM 0.05% treatment groups evaluated as valid sample by the proper elicitor treatment,  $\alpha$ -amylase active inhibitory activity rate was evaluated high in MeJA 0.1mM treatment group, MSM 0.05% treatment group, chitosan 30 cps 0.1% treatment group and non-treatment group in order; especially the planting 7-day sample of MeJA 0.1mM treatment was evaluated most effective as the inhibitory activity of 63%. As for starch hydrolysis rate, MeJA 0.1mM treatment group, MSM 0.05% treatment group and chitosan 30cps 0.1% treatment group was found comparatively low compared to non-treatment group and the 3 kinds of treatment groups was evaluated similar regardless of planting days. On the other hand, as for the starch hydrolysis rate, the 3 kinds of treatment groups except non-treatment group showed the tendency to lower depending on planting days; especially, the planting 7-day sample of MeJA 0.1mM treatment group was evaluated more effective than 82. As for  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity rate, the inhibitory activity was evaluated high in MeJA 0.1mM treatment group, MSM 0.05% treatment group, non-treatment group and chitosan 30cps 0.1% treatment group in order; especially, the planting 7-day sample of MeJA 0.1mM treatment group was evaluated to show the highest inhibitory activity as 75.1%. ACE active inhibitory rate showed a similar tendency to  $\alpha$ -glucosidase active inhibitory pattern, so the planting 7-day sample of MeJA 0.1mM treatment group was evaluated to inhibit the highest ACE activity as 77.8%. As for the bile acid absorption delay for 48 hours, in time of the response of 48 hours, the planting 5- and 7-day sample of MeJA 0.1mM treatment group and chitosan 30cps 0.1% treatment group was evaluated to have a big absorption delay effect. According to a result to compare and analyze *in-vitro*  $\alpha$ -amylase inhibitory activity, starch hydrolysis inhibitory characteristics, starch hydrolysis rate,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, ACE inhibitory activity and bile acid absorption delay characteristics depending on 3 kinds of planting days of MeJA 0.1 mM treatment group, chitosan 30 cps 0.1% treatment group and MSM 0.05% treatment group evaluated as valid sample by the proper elicitor treatment, the planting

7-day sample efficacy in 0.1mM Methyl Jasmonate treatment group was found to be the optimal ingredient.

○ In addition, *in vitro* efficacy depending on planting days was evaluated over MeJA, NaCl and light treatment sample and light-combined treatment sample which were evaluated to be a valid sample according to are salt to treat in parallel to buckwheat vegetable sprout using food defense mechanism. The samples harvested 1, 3 and 5 days after germination were used, and according to a result to compare and analyze  $\alpha$ -amylase inhibitory activity, starch hydrolysis inhibitory characteristics, starch hydrolysis rate,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, ACE inhibitory activity and bile acid absorption delay characteristics, the efficacy increased depending on the planting days and in the germination 5-day sample in MeJA+light treatment group,  $\alpha$ -amylase inhibitory activity rate, starch hydrolysis rate,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity, ACE inhibitory activity and bile acid absorption delay were evaluated to be the most efficient ingredients as 94, 85, 56, 72 and 22% respectively.

### **3. Research on anti-inflammatory effect through RAW 264.7 cell of buckwheat sprout**

○ According to a result to confirm the anti-inflammatory effect of buckwheat sprout, it controlled NO production depending on the concentration of extracted materials from two kinds of buckwheat sprouts and the inhibitory ability of low-concentration extract was more excellent than MeOH extract, while showed the similar inhibitory ability in high concentration. No cytotoxicity was found within the concentration used in the test and the higher the concentration of treated sample, the more restrained the apoptosis by LPS, so it was found that 200  $\mu$ g/mL showed the apoptosis control ability similar to Control.

### **4. Fat accumulation reduction and ROS (reactive oxygen species) production inhibition within fat cells through extract from buckwheat sprout**

○ The extract from buckwheat vegetable sprout treated with 0.1mM MeJA inhibits the 3T3-L1 fat cell development and reduced the fat accumulation effectively compared to



Control; it was found that the occurrence of major transcription factors was inhibited within cells. In addition, it reduced NOX4 gene related to the production of ROS within cell, so it was found that the oxidative stress from ROS was reduced effectively. In addition, the effect from rutin, the major compounds of the extract from buckwheat vegetable sprout, was shown slightly, so it was thought that anti-obesity activity occurred from anti-oxidant phenol compounds besides rutin.

#### **5. Effect measurement of *In vivo* hyperlipidemia inhibition of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism**

○ This study tried to review the improvement effect of dietary cholesterol through having a white rat eat buckwheat vegetable sprout and high-fat food treated with methyl jasmonate. The test targets were divided into normal Control (NC), high-fat Control (HFC), buckwheat vegetable sprout (SC), MeJA treatment group (SM), MeJA and NaCl-combined treatment group (SMN), extract group after MeJA treatment (SME) and were fed with 4-week free meals. The average dietary intake for all the test targets did not show a significant difference and the feed efficiency and the internal organ weight of all the test targets except normal rats did not show a significant difference. Serum GOT, total protein, albumin and glucose did not show a significant difference among test targets and serum GOT, BUN and creatinine are included with normal boundary in all the test targets. Serum neutral lipid, free fatty acids, free cholesterol, and CE/FC ration did not show a significant difference among the test targets. Serum total cholesterol, LDL-cholesterol and cholesterol esters concentration increased due to high-fat intake and serum total cholesterol, LDL-cholesterol, esters cholesterol and atherogenic index in SC and SM group decreased significantly. The lipid content of liver and bowels increased due to high-fat intake compared to normal Control, and total lipid, neutral lipid and cholesterol of liver in SM group were low significantly compared to high-fat Control and total lipid and cholesterol in SC group and neutral lipid and cholesterol in SMN group were low significantly. Daily dry fecal weight and total lipid excretion of test targets did not show a significant difference in all the test target groups, but daily-fecal total cholesterol and neutral lipid in SM group and the daily-fecal cholesterol in SMN group showed a significant increase compared to high-fat Control. Accordingly, it was found that in terms of the reduction effect in serum

cholesterol, liver lipid, liver neutral lipid, liver cholesterol in high-fat dietary, MeJA-treated buckwheat vegetable sprout group showed a bigger effect than buckwheat vegetable Control and SNN group.

## **V. Study results and plans for application**

○ This study could increase effectively the phenol and rutin content, the useful activation ingredients of buckwheat vegetable sprout, using food defense mechanism. People usually intake the buckwheat vegetable sprout under the fresh condition, so if they raise it using the study performance, it's possible to raise and circulate the buckwheat vegetable sprout with the over 2 times-added active ingredient compared to non-treated sprout. In addition, through extraction and purification process of buckwheat vegetable sprout added with useful ingredients, it will be possible to use as food ingredient through soluble phenolic materials originated from buckwheat vegetable sprout and to use it as various products including alginate bead using the materials.

○ Based on the above contents, the method to increase the useful content including phenol and rutin from buckwheat vegetable sprout has already applied for a patent, 2 domestic papers regarding the optimal extract method and application field of the sprout were filed, one domestic paper regarding the metabolomic analysis of the sprout applying food defense mechanism was filed and 2 foreign papers regarding anti-obesity depending on the increased useful ingredients are now under the contribution.

○ If the food defense mechanism and ingredient-making technology regarding the vegetable sprout including the buckwheat vegetable sprout would be applied through this study and the useful activation ingredients would be improved, the vegetable sprout and the related food industry could be applied to various products.

○ According to this study, the expected utilization fields are as follows:

- Harvest area of vegetable sprouts including buckwheat vegetable sprout and baby vegetables
- Vegetable sprout system design and manufacturer

- Natural functionality material industry
- Contribution to securing high-quality/differentiated products resulted from vegetable sprouts with improved active ingredients
- Enhanced-functionality vegetable sprout brand-making
- Production manufacture using high-quality vegetable sprout and varied functionality foods through various-materials production development

# CONTENTS

(영 문 목 차)

<b>SUMMARY</b> .....	<b>3</b>
<b>CONTENTS</b> .....	<b>35</b>
<b>Chapter 1. Outline of Research and Development</b> .....	<b>46</b>
<b>Chapter 2. World-wide trends in related technology</b> .....	<b>54</b>
<b>Chapter 3. Results of Research and Development</b> .....	<b>59</b>
Section 1. Materials and methods .....	59
1. Development of proper treatment conditions by unit process for producing the functional vegetable sprout using the plant defense mechanism .....	59
1) Setting of irrigation treatment conditions during sanitary seed treatment and germination of vegetable sprout .....	59
(1) Aqueous chlorine dioxide water .....	59
(2) Total aerobic counts .....	59
(3) Germination rate .....	59
(4) Culture strain .....	59
(5) Contaminated with <i>Salmonella typh</i> .....	60
(6) Aqueous chlorine dioxide water, citric acid and glycerin treatment .....	60
2) Proper elicitor treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	60
(1) Extract .....	60
(2) Total phenolics .....	60
(3) Isolation and identification of phenolic compounds using UPLC-Q-TOF .....	61
(4) Rutin .....	61
(5) DPPH radical scavenger activity .....	61
(6) Ferric reducing ability of plasma (Frap) assay .....	62
(7) Phenylalanine-ammonina lyase (PAL) activity assay .....	62

(8) $\alpha$ -Glucosidase inhibition activity .....	62
(9) $\alpha$ -Amylase inhibition activity .....	63
(10) ACE inhibition activity .....	63
3) Quality characteristic change of buckwheat sprout depending on single and combined elicitor treatment .....	63
(1) Length of sprouts .....	64
(2) Weight loss .....	64
(3) Color and browning color intensity .....	64
(4) Carotinoid .....	64
(5) Free organic acid .....	64
(6) Free sugar .....	65
(7) Statistic analysis .....	65
2. Research on food ingredient of buckwheat sprout applying plant defense mechanism .....	65
1) Optimization of extraction conditions to obtain functional components from buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) sprouts, using response surface methodology .....	65
(1) Extract .....	65
(2) Experimental design for extraction condition .....	65
(3) Prediction of optimization conditions .....	67
(4) Yield .....	67
2) Setting of functional ingredient extraction condition in buckwheat sprout depending on solvent properties .....	67
(1) Materials .....	67
(2) Extraction condition of solvents .....	68
3) Purification of extracted materials and manufacturing of beads from buckwheat sprout .....	68
(1) Purification of water soluble phenolic compounds (SBP) .....	68
(2) Manufacturing of beads using buckwheat sprouts extract .....	68
(3) Release property of beads .....	69
(4) Scanning electron microscope .....	70
(5) Bead size and globular shape .....	70
3. Research on metabolomics and lipid metabolic characteristics of buckwheat sprout applying plant defense mechanism .....	70
1) Metabolomic analysis of phenolic compounds in buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i>	

M.) sprout treated with Methyl Jasmonate .....	70
(1) Cultivation of buckwheat sprout treated with MeJA .....	70
(2) Metabolomic analysis of buckwheat sprout using UPLC-Q-TOF .....	70
(3) Data process .....	71
(4) Multivariate statistics and data analysis .....	71
2) Assessment on <i>in vitro</i> efficacy of buckwheat sprout applying plant defense mechanism .....	72
(1) Manufacture of the functional extract using buckwheat sprout .....	72
(2) Hydrolysis index .....	72
(3) Taurocholic acid retardation rates .....	73
3) Research on anti-inflammatory effect through RAW 264.7 cell of buckwheat vegetable sprout .....	73
(1) Extract .....	73
(2) RAW 264.7 cells culture .....	73
(3) Nitrite oxide (NO) concentration .....	74
(4) Cell viability .....	74
4) Fat accumulation reduction and ROS (reactive oxygen species) production inhibition within fat cells through extract from buckwheat sprout .....	74
(1) Materials .....	74
(2) Extract and sample preparation .....	74
(3) 3T3-L1 cell culture and differentiation .....	75
(4) Cell viability ratio using XTT assay .....	75
(5) Lipid accumulation using Oil Red O staining .....	76
(6) ROS production using NBT assay .....	76
(7) Expression analysis of primer sequences .....	76
(8) Total RNA extraction and cDNA synthesise .....	77
(9) Semi-quantitative RT-PCR .....	77
(10) Statistic analysis .....	78
5) Effect measurement of <i>in vivo</i> hyperlipidemia inhibition of buckwheat sprout applying plant defense mechanism .....	78
(1) Materials .....	78
(2) Animal experimentation .....	78

(3) Experimental diet .....	79
(4) Feces, drawing blood, organ weight .....	79
(5) Serum analysis .....	80
(6) Liver and feces analysis .....	80
(7) Statistic analysis .....	80
6) Metabolomic analysis of serum from rat fed high-fat diet with various buckwheat sprouts cultivated with/without MeJA and/or NaCl .....	81
(1) Material and sample preparation .....	81
(2) Metabolomic analysis of serum using UPLC-Q-TOF MS .....	81
(3) Data analysis .....	81
Section 2. Technology development by unit process of vegetable sprout to enhance the functionality using plant defense mechanism .....	82
1. Setting of irrigation treatment conditions during sanitary seed treatment and germination of vegetable sprout .....	82
1) Setting of during sanitary seed treatment conditions of vegetable sprout .....	82
2) Setting of irrigation treatment conditions during germination of vegetable sprout .....	90
2. Proper elicitor treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	94
1) Functional water treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	94
2) MSM treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	99
3) Chitosan treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout I .....	102
4) Chitosan treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout II .....	106
5) CO <sub>2</sub> treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	111
6) N <sub>2</sub> treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	114
7) UV treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	117
8) MeJA treatment effect for enhancing the functionality of buckwheat sprout .....	121
3. Quality characteristic change of buckwheat sprout depending on single elicitor treatment .....	124
1) Quality characteristic change of buckwheat sprout depending on Methyl Jasmonate treatment .....	124
(1) Quality characteristic change by various concentration of methyl Jasmonate .....	124
(2) Quality characteristic change by harvest day and treated cycle of methyl Jasmonate .....	132
2) Quality characteristic change of buckwheat vegetable sprout depending on NaCl treatment .....	136

4. Quality characteristic change of buckwheat sprout depending on combined elicitor treatment .....	141
1) Establish of combined treatment condition (MeJA, UV-B and Light) .....	141
2) Establish of combined treatment condition of MeJA and NaCl treatment .....	145
3) Establish of combined treatment condition of MeJA, NaCl and Light .....	152
5. Functionality enhancement effect and actual test of buckwheat sprout by the combined elicitor treatment .....	165
1) Quality characteristic change of buckwheat sprout by the combined elicitor treatment ..	165
2) Quality characteristic change of buckwheat sprout by the combined elicitor treatment II ..	177
3) Distribution quality characteristic change of buckwheat sprout .....	189
Section 3. Research on food ingredient of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism .....	198
1. Analysis on nutrient ingredient of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism .....	198
2. Optimization of extraction conditions to obtain functional components from buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) sprouts, using Response Surface Methodology .....	206
3. Evaluation of functional ingredient extraction condition in buckwheat vegetable sprout depending on solvent properties .....	215
4. Purification of extracted materials from buckwheat vegetable sprouts .....	222
1) Separation of water soluble phenolic compounds in buckwheat sprouts .....	223
2) Manufacturing of beads using natural antioxidant ingredient extracted from buckwheat sprouts .....	230
Section 4. Research on metabolomic characteristics and lipid metabolic characteristics of buckwheat sprouts applying plant defense mechanism .....	243
1. Metabolomic analysis of phenolic compounds in buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) sprouts treated with Methyl Jasmonate .....	243
2. Assessment on <i>in vitro</i> efficacy of buckwheat sprout applying plant defense mechanism	250
1) Assessment on <i>in vitro</i> efficacy of buckwheat sprout depending on single elicitor treatment .....	250
2) Assessment on <i>in vitro</i> efficacy of buckwheat sprout depending on combined elicitor treatment .....	272
3. Research on anti-inflammatory effect through RAW 264.7 cell of buckwheat sprout .....	278



4. Fat accumulation reduction and ROS (reactive oxygen species) production inhibition within fat cells through extract from buckwheat sprout .....	281
5. Effect measurement of <i>in vivo</i> hyperlipidemia inhibition of buckwheat vegetable sprout applying plant defense mechanism .....	292
6. Metabolomic analysis of serum from rat fed high-fat diet with various buckwheat sprouts cultivated with/without MeJA and/or NaCl .....	301
<b>Chapter 4. Research Attainments and Contributions to Related Fields ....</b>	<b>306</b>
<b>Chapter 5. Application Plans for Research Products .....</b>	<b>309</b>
<b>Chapter 6. Science and Technology Information from Abroad .....</b>	<b>313</b>
<b>Chapter 7. Reference .....</b>	<b>320</b>
<b>Appendix .....</b>	<b>335</b>

# 목 차

요 약 문 .....	3
목 차 .....	41
제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	46
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	54
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	59
제 1 절 재료 및 방법 .....	59
1. 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 싹기름채소의 단위 공정별 기술개발 .....	59
가. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 및 발아 중 관수처리 조건 설정 .....	59
(1) 이산화염소수의 제조 .....	59
(2) 총균수 측정 .....	59
(3) 발아율 측정 .....	59
(4) 균주 배양 및 현탁액 제조 .....	59
(5) 균주의 인위적인 오염 .....	60
(6) 이산화염소수, citric acid 및 glycerin 처리 .....	60
나. 메밀싹기름채소의 기능성 증진을 위한 elicitor 처리 효과 .....	60
(1) 추출 .....	60
(2) 총 페놀 함량 측정 .....	60
(3) UPLC-Q-TOF 를 이용한 phenolic compounds 의 분리 및 동정 .....	61
(4) 루틴 함량 측정 .....	61
(5) DPPH 라디칼 소거능 .....	61
(6) Ferric reducing ability of plasma (Frap) assay 측정 .....	62
(7) Phenylalanine ammonina lyase (PAL) activity assay .....	62
(8) $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성 측정 .....	62
(9) $\alpha$ -Amylase 저해활성 측정 .....	63
(10) ACE 저해 활성 측정 .....	63

다. 병행 elicitor 처리에 의한 메밀싹기름채소의 기능성 증진 실증실험 .....	63
(1) 길이변화 측정 .....	64
(2) 중량 감소율 측정 .....	64
(3) 색도 및 갈색도 측정 .....	64
(4) 카로티노이드 함량 측정 .....	64
(5) 유기산 함량 측정 .....	64
(6) 유리당 함량 측정 .....	65
(7) 통계처리 .....	65
2. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 식품 소재화 연구 .....	65
가. 반응표면분석법에 의한 메밀 ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화·	65
(1) 추출 .....	65
(2) 추출조건 설정을 위한 실험설계 .....	65
(3) 최적 추출조건의 예측 및 실증시험 .....	67
(4) 수율 측정 .....	67
나. 용매 특성에 따른 메밀싹기름채소의 유효성분 추출 조건 설정 .....	67
(1) 재료 .....	67
(2) 용매 추출 조건 .....	68
다. 메밀싹기름채소 추출물의 분리정제 및 비드 제조 .....	68
(1) 수용성 펙놀 물질 (SBP) 정제 .....	68
(2) 메밀싹기름채소 추출물을 이용한 비드제조 .....	68
(3) 비드 방출실험 .....	69
(4) SEM 분석 .....	70
(5) Bead 크기 및 구형 분석 .....	70
3. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 Metabolomic 특성 및 지질대사 개선 연구 .....	70
가. 메밀싹기름채소의 기존생산 방식과 MeJA 처리구간의 Metabolomic 특성 조사 .....	70
(1) 메밀싹기름채소 재배 및 MeJA 처리 .....	70
(2) UPLC-Q-TOF 를 이용한 메밀싹기름채소의 metabolites 분석 .....	70
(3) Data process .....	71
(4) 다변량통계분석 및 data analysis .....	71
나. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 <i>in vitro</i> 효능 평가 .....	72
(1) 메밀싹기름채소 기능소재 추출물 제조 .....	72
(2) 전분가수분해 저해 효과 .....	72

(3) 담즙산흡수지연 효과 .....	73
다. 메밀싹기름채소의 RAW 264.7 cell 에 의한 항염증효과 조사 .....	73
(1) 추출 .....	73
(2) RAW 264.7 cells 배양 .....	73
(3) Nitrite oxide (NO) 생성량 측정 .....	74
(4) 세포 독성 측정 .....	74
라. 메밀싹기름채소 추출물에 의한 지방세포내 지방축적 저감 및 ROS (reactive oxygen species) 생성 억제능 평가 .....	74
(1) 재료 .....	74
(2) 추출 및 시료조제 .....	74
(3) 3T3-L1 세포배양 및 분화 .....	75
(4) XTT assay 를 이용한 세포독성평가 .....	75
(5) Oil Red O staining 을 이용한 지방축적량 관찰 .....	76
(6) NBT assay 를 이용한 ROS 함량 측정 .....	76
(7) 주요 유전자의 발현 조사 .....	76
(8) Total RNA 의 추출 및 cDNA 의 합성 .....	77
(9) Semi-quantitative RT-PCR .....	77
(10) 통계분석 .....	78
마. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 <i>in vivo</i> 고지혈증 개선 효과 측정 .....	78
(1) 재료 .....	78
(2) 실험동물 .....	78
(3) 실험식이 .....	79
(4) 분변의 수집, 채혈, 장기무게 측정 .....	79
(5) 혈액성분 측정 .....	80
(6) 간장 및 분변의 성분 측정 .....	80
(7) 통계처리 .....	80
바. UPLC-Q-TOF MS 를 이용한 메밀 싹 처리 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석 .....	81
(1) 재료 및 시료 전처리 .....	81
(2) UPLC-Q-TOF MS 를 이용한 혈청 대사체 분석 .....	81
(3) Data analysis .....	81
제 2 절 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 싹기름채소의 단위 공정별 기술개발 .....	82
1. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 및 발아 중 관수처리 조건 설정 .....	82

가. 짝기름채소의 위생적인 종자 처리 조건 설정 .....	82
나. 짝기름 채소의 말아 중 관수처리 조건 설정 .....	90
2. 메밀 짝기름채소의 기능성 증진을 위한 적정 elicitor 처리 효과 .....	94
가. 기능수 처리에 따른 메밀 짝채소의 기능성 증진 효과 .....	94
나. MSM 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능 특성 변화 .....	99
다. 키토산 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 I .....	102
라. 키토산 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 II .....	106
마. CO <sub>2</sub> 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 .....	111
바. N <sub>2</sub> 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 .....	114
사. UV 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 .....	117
아. Methyl Jasmonate 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성 특성 변화 .....	121
3. 단독 elicitor 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 품질 특성 변화 .....	124
가. Methyl Jasmonate 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 품질 특성 변화 .....	124
(1) Methyl Jasmonate 농도별 처리에 따른 품질 특성 변화 .....	124
(2) Methyl Jasmonate 처리에 따른 수확일별 및 처리 주기에 따른 품질 특성 변화 .....	132
나. 염화물 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 품질 특성 변화 .....	136
4. 병행 elicitor 처리에 따른 메밀 짝기름채소의 품질 특성 변화 .....	141
가. MeJA에 대한 UV-B 및 light 병행 처리 조건 설정 .....	141
나. MeJA에 대한 염화물 병행 처리 조건 설정 .....	145
다. MeJA에 대한 염화물과 light 병행 처리 조건 설정 .....	152
5. 병행 elicitor 처리에 의한 기능성 증진 메밀 짝채소의 재배효과 및 실증실험 .....	165
가. 병행 처리에 따른 메밀 짝채소의 품질 특성 .....	165
나. 병행 처리에 따른 메밀 짝채소의 품질 특성 II .....	177
다. 병행 처리에 따른 메밀 짝채소의 유통 품질 특성 .....	189
제 3 절 식물방어기작을 적용한 메밀 짝기름채소의 식품 소재화 연구 .....	198
1. 식물방어기작을 적용한 메밀 짝기름채소의 영양성분 분석 .....	198
2. 반응표면분석법에 의한 메밀 ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화 .....	206
3. 용매 특성에 따른 메밀 짝기름채소의 기능성분 추출 조건 설정 .....	215
4. 메밀 짝기름채소 추출물의 분리정제 .....	222
가. 메밀 짝기름채소의 수용성 페놀 물질 분리 .....	223
나. 메밀 짝기름채소로부터 추출한 천연항산화성분을 이용한 비드제조 .....	230
제 4 절 식물방어기작을 적용한 메밀 짝기름채소의 Metabolomic 특성 및 지질대사 개선 연구 .....	243

1. 메밀싹기름채소의 기존생산 방식과 MeJA 처리구간의 Metabolomic 특성 조사 .....	243
2. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 <i>in vitro</i> 효능 평가 .....	250
가. 적정 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름채소의 <i>in vitro</i> 효능 평가 .....	250
나. 병행 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름채소의 <i>in vitro</i> 효능 평가 .....	272
3. 메밀싹기름채소의 RAW 264.7 cell 에 의한 항염증효과 조사 .....	278
4. 메밀싹기름채소 추출물에 의한 지방세포내 지방축적 저감 및 ROS (reactive oxygen species) 생성 억제능 평가 .....	281
5. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 <i>in vivo</i> 고지혈증 개선 효과 .....	292
6. UPLC-Q-TOF MS 를 이용한 메밀싹기름채소 처리 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석 .....	301
<b>제 4 장    목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>306</b>
<b>제 5 장    연구개발 성과 및 성과활용 계획 .....</b>	<b>309</b>
<b>제 6 장    연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....</b>	<b>313</b>
<b>제 7 장    참고문헌 .....</b>	<b>320</b>
<b>부    록    .....</b>	<b>335</b>

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구 개발의 최종목적

국내 싹기름채소의 수요창출을 확대시키기 위하여 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 싹기름채소에 기능성을 향상시킬 방안으로 식물 방어 기작을 이용한 처리방법을 개발하여 고기능성의 싹기름채소를 생산한 다음 기능성 식품소재를 개발하고 기능성 싹기름채소와 기능성 식품소재제품의 생리활성 특성을 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 검증하여 국내 싹기름채소의 국제 경쟁력 제고와 농가의 소득증대에 이바지하고자 함.

## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 기술적 측면

○ 싹기름채소 (sprouts: 어린 싹, 새싹채소)는 발아하여 본 잎이 전개되지 않은 미숙한 상태의 것을 말하며 재배용기에서 물로 만 키우며, 무순, 보리순, 알팔파싹, 브로콜리싹, 유채싹, 적양배추싹, 레드비트싹, 해바라기싹, 적무싹, 클로버싹, 겨자싹, 부추싹, 보리싹, 배추싹, 양파싹, 옥수수싹, 치커리싹, 적케일싹, 완두싹 등이 있으며 비빔밥, 부재료, 생식용, 요리 장식용 등으로 이용됨.

○ 싹기름채소는 생산 주기가 짧고 생산물의 생장이 빠르며, 대부분이 여리고 부드러운 기관이나 식물체이며 씨앗 불리기 → 재배기에서 재배 → 수확 → 탈수 → 예냉 → 포장 → 밴딩 → 출하과정 등의 시스템을 거쳐 1 주일 이내에 수확하는 것으로 재배기간이 짧아 화학 비료 없이도 잘 자라는 무공해 식품으로 비타민과 무기질 등 각종 영양소 함유량이 다 자란 채소보다 훨씬 높아 씨앗을 발아시킬 경우 다 자란 채소보다 영양소가 약 3~4배 이상 많이 들어있는 것으로 밝혀지는데 이는 각종 영양성분이 농축되어 있는 씨앗이 발아하면서 phytochemical 을 생성, 합성하기 때문으로 알려짐.

○ 싹기름채소는 다양한 영양성분이 부여된 농산물로서 각광받아 브로콜리싹에는 혈압강화, 비만억제, 항암활성 및 면역활성 작용이 있는 sulforaphane 과 melatonin 성분이 함유되어 있으며, 알팔파싹에는 비만억제효과가 있는 아르기닌, 리진, 스테오닌, 에스트로젠 등의 다양한 건강기능성 물질이 함유되어 있음.

○ 케일썩은 비타민 C, 카로틴, 단백질 함량이 높고, 간 기능을 향상시키고 혈중 콜레스테롤을 낮게 하는 기능과 고혈압증을 개선시키고 혈당치를 정상으로 되돌리는 작용을 하며, 홍화썩은 비타민 E, 칼슘, 베타카로틴, 엽산, 식이섬유, 리놀렌산, 리놀산과 특히 SOD 가 풍부하며 뼈가 약한 사람이나 여성질환, 혈압에 좋으며, 완두썩은 당뇨병의 치료효과가 있고 체력회복, 스테미너 증진, 심장병, 여성미용 등에 효과가 있으며, 인, 철, 칼슘, 비타민 C 등이 풍부함.

○ 메밀 (*Fagopyrum esculentum*) 은 전통성이 강한 음식재료로서 막국수, 메밀국수, 묵, 부침 등으로 이용되어 왔으나, 최근에는 메밀 속의 생리 활성물질인 루틴에 관한 연구가 활발히 진행되고 있어, 그 함량을 높이려는 연구가 발아메밀의 형태로 식품에 적용하려는 시도가 이루어짐.

○ 루틴 (Rutin) 은 비타민 P로 알려져 있으며 자연계에서 널리 분포되어 있고, 담황색을 띠는 flavonoid 계 물질로 구조적으로 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone-3-rutinoside 이며 모세혈관을 강화시켜 동맥경화, 고혈압, 뇌출혈과 같은 심혈관과 같은 심혈관계 질환을 예방하고, 당뇨병, 잇몸출혈, 구취제거 등에도 탁월한 효과가 있는 것으로 밝혀져 있으며, alcohol 에 대한 용해도가 높고, chloroform, 에테르 등에 용해되지 않은 성질이 있어, 조리 가공 시에 손실이 적음.

○ 식물방어기작 (Induced defense mechanism, Induced resistance mechanism, plant defense mechanism) 은 1980년대 초반부터 식물생리연구분야에서 식물이 병원균의 침입에 방어하는 시스템을 연구하면서 시작되었으며 식품분야에서는 식물의 여러 가지 방어기작을 이용하여 식물의 특정 기능성을 향상시키기 위해 도입되어 pathogen attack, physical wounding, UV-light 등을 이용한 biotic 및 abiotic stresses 로 방어 반응과 2차 대사물질의 증가를 유도하는 것으로 알려짐.

○ 다양한 식물방어기작은 phenolic compounds, terpenoids 및 alkanoids와 같은 2차 대사물질을 식물체내에 축적하여 이를 섭취하는 인체에 많은 유용한 특성을 나타내는 것으로 알려지고 있어 stress에 의해 유도된 기능성 성분의 발현 기작 등에 대한 연구와 이를 식품에 응용한 연구가 새로운 연구분야로 주목받고 있음.

○ Stress 유도에 사용되는 jasmonic acid, methyl jasmonate, salicylic acid와 같은 식물호르몬성 물질 뿐만 아니라 chitosan,  $\beta$ -glucan, oligofalacturonide 등의 탄수화물 또는 단백질, 지방산 elicitor 등이 실험되고 있으며, 이 외에도 chemical stress, environment stress, fungi stress 등 다양한 방법들이 응용될 수 있음.



○ 현재 대부분의 국내 싹기름채소연구는 초기 단계로서 기능성성분 (루틴 등) 들을 증진시키고자 하는 연구가 거의 이루어지지 않고 있으며, 싹기름채소에 들어있는 기능성 성분들이 동맥경화, 고혈압, 뇌출혈과 같은 심혈관계 질환에 효과가 있다고 홍보하면서도 효과를 얻기 위해서 어느 정도의 싹기름채소를 섭취하여야 하는지 등에 관한 자료가 제시되지 않고 있음.

○ 따라서, 기존의 싹기름채소보다 루틴 등의 기능성 함량을 월등히 높이고 루틴 등의 기능성 물질에 의한 당뇨, 고혈압, 고지혈증, 비만 등 성인병 예방 및 개선 효과를 실험을 통하여 증명하면서 새로운 소비형 식품소재를 개발한다면 소비자의 건강 증진에 크게 기여함은 물론 싹기름채소의 산업도 크게 촉진될 것으로 기대됨.

○ 또한, 국내 싹기름채소의 고품질화 (고기능화) 를 통하여 생산품질을 향상시킴과 동시에 이를 활용할 수 있는 식품소재화 기술에 대한 연구로서 싹기름채소의 고급 brand화를 통한 고급화와 이용성 증진을 높이는 연구를 통한 싹기름채소 관련 신시장의 개척이 필요하고, FTA 시대를 대비한 수출상품으로서의 육성이 절실히 필요함.

## 2. 경제 · 산업적 측면

○ 채소류 재배면적은 2000년 38만 6천 ha 에서 2005년 29만 8천 ha 로 연평균 5% 감소하고 있으나 싹기름채소 재배면적은 2005년 65ha 로 2002년 대비 연평균 5% 증가하였고, 2002년부터 본격적으로 재배된 이후 연평균 24.1% 의 증가세를 나타내고 있으며, 2005년 160억 원의 시장을 형성하고 있음. 생산액 또한 2002년 이후 23.9%가 증가하고 있는 것으로 나타나 엽채류, 근채류, 조미채소류 등이 연평균 4% 내외로 감소하고 있는 것에 반하여 급속도로 새로운 시장을 형성하고 있음.

○ 또한, 싹기름채소 종자 시장규모는 우리나라 채소종자 시장규모 1,500억 원 중 2%인 30억 수준으로 추정되며, 그 중 24억 원 이상이 수입되고 있으며, 향후 싹기름채소 재배면적이 증가할 것으로 예상되어 종자 수입액은 더 증가할 것으로 전망됨. 현행 수입되는 싹기름채소 종자는 브로콜리, 클로버, 무 등은 주 수입국이 미국이며, 적양배추, 적무, 알팔파, 월동춘채, 적콜라비 등은 이탈리아, 무 종자는 뉴질랜드산에 집중되고 있음.

○ 미국이나 유럽 · 호주 등지에서는 채소 매장의 약 30% 정도를 싹기름채소가 차지할 정도로 일반화되어있으며 시장규모는 200억 달러를 넘고 있고, 동양에서는 일본을 중심으로 싹기름채

소가 발달하여 채소시장의 약 10~20%에 달함.

○ 국내에서도 인구 구조적 요인으로 2인 이하 가정이 약 42%를 나타내고 있는 현실에서 짙기름채소등의 편의식품 소비 증대가 식품의 새로운 소비 형태로 부각되고 있으며, 신선식품 중 국내 채소 생산량의 7% 인 8만 톤 정도가 짙기름채소를 포함한 신선편이식품 형태로 가공 소비됨.

○ 또한, 짙기름채소는 고품질이면서 기능성채소를 가장 선호하고 구매형태는 혼합소포장 형태, 식품의 안전성과 관련이 있는 친환경 농산물 여부에 대한 속성이 소비선호의 중요한 요인으로 작용하고 있으며, 잠재수요가 높은 식품으로서 소비자 인지도가 50% 미만이고, 이의 효능 등을 알고 있는 소비자는 전체 소비자 중 약 40~50% 미만으로 조사되고 있어 신규 수요가 높은 소비 증가형 식품임.

○ 국내 짙기름채소 생산은 2000년 초부터 시작되었으나, 품목이 다양하지 못하여 2002년 재배면적이 34ha 로 집계된 이후 2005년 65ha 로 연평균 약 24% 증가한 이후 2005년 무순이 31% 로 가장 높고, 순무 약 30%, 알팔파 약 10%, 셀러리 약 6%, 로메인 약 5% 수준이며, 짙기름채소의 수출은 미미한 수준이나 순무, 셀러리 등은 2005년 91만 불로 미국 36만 불, 중국 24만 불, 괌 18만 불 등이 있어 향후 미국과 중국, 괌 등에 수출 확대 가능성이 높은 품목임.

○ 짙기름채소의 최종 소비 형태는 대부분 신선편이 식품으로 사용하기 때문에 생산단계에서부터 품질 관리를 통해 유통과정의 문제점을 점차 개선할 수 있을 것이며, 고기능성 제품의 생산을 통하여 가공제품의 원산지 표시를 함으로써 향후 FTA 시대 후 국내에 수입될 다양한 신선채소 제품과 품질의 차별화가 가능할 뿐 아니라 국외 수출에 대한 안정된 산업적 기반을 마련할 수 있음.

### 3. 사회·문화적 측면

○ 일반적인 식품의 구매성향은 여러 주변 환경 여건에 따라 변화하며 국내 식품 소비측면에서는 종전의 영양 섭취 위주에서 건강 지향 및 편의성 추구의 방향으로 뚜렷한 변화 경향을 나타내고 있으며, 이러한 변화에 따라 식품소재 가운데서는 과일, 채소의 소비 증대가 괄목하며 그 중 가공제품 보다는 신선 식품에 대한 소비경향이 급신장하고 있음.

○ 국제 싹기름채소 생산자협회 ISGA (International Sprout Growers Association) 에 따르면 기능성 품종 개발에 많은 관심을 두고 있으며, 미국의 경우, 1990년대 “암을 예방할 가능성이 높은 식물성 식품 40품목”에 브로콜리싹이 발표되었고, 미국 존스홉킨스 폴 탈라레이 (Dr. Paul Talalay) 박사는 1992년부터 항산화 물질이 풍부한 SGS 브로콜리 새싹을 육종하여 생산하고 있음.

○ 자연지향, 세계화, 퓨전화, 외식문화의 보편화 등 식품소비환경의 변화에 따라 ‘건강’을 최우선으로 정신적·육체적·미적 효과가 있으면서도 안전하고 맛있는 기능성 식품, 맞춤형 식품, 실버 푸드 등의 성장이 가속화 되고 있으며, 인구 구조적 요인으로 2인 이하 가정이 약 42%를 나타내고 있는 현실에서 편의식품의 소비 증대가 식품의 새로운 소비 형태로 부각되고 있으며, 신선식품 중 국내 채소 생산량의 약 7%인 8만 톤 정도가 신선편이식품 형태로 가공 소비됨.

○ 건강한 삶 및 환경에 대한 관심 때문에 친환경농산물 및 안전 농식품의 생산이 중요해지는 현상은 농식품 소비 트렌드로 정착되고 있으며, 이는 농식품 소비의 인구 구조적 요인, 사회·경제적 요인, 심리적 요인 등에 의해 영향을 받아 전체 인구 65세 이상의 비율이 2005년 현재 약 9.5% 이상으로 고령화 사회로 편리성, 질감, 맛, 영양, 포장, 분위기까지 노인들의 취향에 맞게 개발된 ‘실버 푸드’에 대한 관심이 높아지고, 기러기 가족을 포함한 독신자가 600만 명으로 농식품 소비단위가 더욱 소량화 되고, 간편 식품화 되고 있음.

○ 싹기름채소는 효능 및 소비 방법 등을 홍보함으로써 신규 수요가 있을 것으로 보이며, 소득 증가로 외식 소비가 늘어 샐러드, 비빔밥, 생선회가 소비가 증가하여 이에 따른 싹기름채소 소비도 증가할 전망이다. 또한 다이어트, 피부미용, 항암효과, 성인병 예방, 당뇨, 아토피 등 많은 부분에 효능이 있는 것으로 알려지고 있어 향후 소비가 증대될 것으로 전망됨.

○ 싹기름채소의 소비자 선호도에 대한 조사에 의하면 고품질·기능성채소의 경우 등급이 구매에 미치는 영향이 가장 큰 것으로 나타나 고품질을 선호하고 있으며, 고품질에 초점을 맞춘 상품생산이 이루어져야하므로 싹기름채소의 기능성을 증가시키는 방안을 통하여 새로운 brand 로 신수요 시장을 창출하는데 기여할 것임.

### 제 3 절 연차별 연구개발의 목표 및 내용

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
1차년도	2008	식물방어기작을 이용한 싹기름채소 단위 기술 개발 및 식품소재화 공정 기술 정립	○ 식물방어기작을 이용한 싹기름채소의 단위 공정별 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 메밀싹기름채소의 기능성 성분 분석</li> <li>- 종자 처리 조건 설정시험 : 종자 처리조건 설정 : 침지수에 따른 기능성 성분의 발아 후 성분 변화 비교</li> <li>- 최적 abiotic elicitor 처리제 선발 및 조건 설정시험 : methyl jasmonate, jasmonic acid 등을 이용한 최적 처리 조건 설정</li> <li>- 최적 stress 처리법의 선발 및 조건 설정시험 : Gas shock, Heat shock, 광조사 등을 이용한 최적 처리 조건 설정</li> </ul>
			○ 유효성분의 추출 및 안정화 기술 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 메밀싹기름채소 원료에 대한 전처리 공정 개발</li> <li>- 유효성분의 분리 및 추출 기술 개발 : 용매 추출법 등을 이용한 추출 공정 개발 : 수율 및 유효 성분 측정</li> </ul>
			○ 기능성 식품 소재의 활용을 위한 전처리 공정 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 고부가 기능성 식품 소재의 전처리 공정 개발</li> <li>- 추출/분리에 의한 기능성 성분의 가공특성 조사</li> <li>- 최적 추출/분리 조건 설정</li> </ul>
			○ 품질특성 비교 및 평가	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 처리에 따른 영양성분의 변화 조사</li> <li>- 처리에 따른 기능성성분의 변화에 대한 <i>in vitro</i> 조사</li> </ul>

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
2차년도	2009	고기능성 짝기름채소의 생산 공정 확립과 기능성 성분 분리 기술 개발	○ 식물방어기작을 이용한 짝기름채소의 생산 공정 확립 기술 개발	- 최적 abiotic elicitor 처리 조건 설정 : 기능성 성분의 처리 조건별 변화 조사 - 최적 stress 처리법의 설정 : 기능성 성분의 처리 조건별 변화 조사 - 최적 abiotic elicitor 및 stress 처리의 병행 처리 조건 설정 - 처리 방법과 기존 생산 방식과의 비교 및 품질 특성 조사
			○ 식물방어기작을 이용한 짝기름채소의 기능성 평가	- 기능성 소재의 당노, 비만 및 고혈압 관련 <i>in vitro</i> 효능 조사 : $\alpha$ -amylase 저해 활성, $\alpha$ -glucosidase 저해 활성, 전분 가수분해 특성, ACE 저해 활성, 담즙산 흡수 지연 특성 조사
			○ 유효 성분의 추출 공정 최적화 조건 시험	- 유효 성분의 실활 방지 및 추출 공정 정립 : 생리활성 측정에 따른 추출 효과 분석 : 추출 공정 별 유효 성분의 특성 및 최적 추출 조건 설정 - 유효 성분의 추출 공정 기술 개발
3차년도	2010	현장 적용 시험에 의한 기능성 짝기름채소 품질 평가 및 기능성 소재 응용 제품의 효과 조사	○ 기능성 증진 짝기름채소의 현장 적용 시험에 의한 품질 평가	- 식물 방어 기작을 이용한 기능성 증진 짝기름채소 제조를 위한 적정 처리 조건 실증 실험 : 기능성 증진 짝기름채소와 기존 짝기름채소의 품질 비교 : 생산 단계별 기능성 증진 효과 조사 : 기능성 증진 짝기름채소의 유통 품질 비교

구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	연구범위
3차년도	2010	현장적용시험에 의한 기능성 짝기름채소 품질평가 및 기능성 소재 응용 제품의 효과 조사	○ 식물방어기작을 이용한 짝기름채소의 기능성 및 위생성 평가	- 짝기름채소 및 기능성소재의 <i>in vivo</i> 효능 탐색 및 평가  : Rat 수준에서 유효시료 및 유효소재의 혈당, 혈중 지질 profiles, 단백질 성분 및 간기능 관련 효소 평가 및 효능 확인
			○ 기능성 분말 소재의 유지, 저장 안정성 분석 및 평가	- 가공조건에 따른 안정성 분석  - 식품산업 인접 소재분야의 고부가가치 기능성 원료로 활용하기 위한 용도개발

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 제 1 절 국내외 관련분야 환경변화

○ 메밀 (*Fogopyrum esculentum*) 은 전통성이 강한 음식재료로서 막국수, 메밀국수, 묵, 부침 등으로 이용되어 왔으나, 최근에는 메밀 속의 생리 활성물질인 루틴에 관한 연구가 활발히 진행되고 있어, 그 함량을 높이려는 연구가 발아메밀의 형태로 식품에 적용하려는 시도가 이루어지고 있으며 봉평의 경우 지역 특화 사업으로서 메밀을 이용한 다양한 사업에 대한 관심을 높이고 있음.

○ 다양한 식물방어기작은 phenolic compounds, terpenoids 및 alkanoids 와 같은 2차 대사물질을 식물체내에 축적하여 이를 섭취하는 인체에 많은 유용한 특성을 나타내는 것으로 알려지고 있어 stress에 의해 유도된 기능성 성분의 발현 기작 등에 대한 연구와 이를 식품에 응용한 연구가 새로운 연구분야로 주목받고 있으며, 이를 활용하여 최근 산삼 및 고가 특용작물의 재배에 활용하고자 하는 움직임이 있음.

○ 채소류 재배면적은 2000년 38만 6천 ha 에서 2005년 29만 8천 ha 로 연평균 약 5% 감소하고 있으나 싹기름채소 재배면적은 2005년 65ha 로 2002년 대비 연평균 약 5% 증가하였고, 2002년부터 본격적으로 재배된 이후 연평균 약 24.1% 의 증가세를 나타내고 있으며, 2005년 160억 원의 시장을 형성하고 있음. 생산액 또한 2002년 이후 약 23.9% 가 증가하고 있는 것으로 나타나 엽채류, 근채류, 조미채소류 등이 연평균 약 4% 내외로 감소하고 있는 것에 반하여 급속도로 새로운 시장을 형성하고 있음.

○ 자연지향, 세계화, 퓨전화, 외식문화의 보편화 등 식품소비환경의 변화에 따라 ‘건강’을 최우선으로 정신적·육체적·미적 효과가 있으면서도 안전하고 맛있는 기능성 식품, 맞춤형 식품, 실버 푸드 등의 성장이 가속화 되고 있으며, 인구 구조적 요인으로 2인 이하 가정이 약 42%를 나타내고 있는 현실에서 편의식품의 소비 증대가 식품의 새로운 소비 형태로 부각되고 있으며, 신선식품 중 국내 채소 생산량의 약 7%인 8만 톤 정도가 신선편이식품 형태로 가공 소비됨.

○ 건강한 삶 및 환경에 대한 관심 때문에 친환경농산물 및 안전 농식품의 생산이 중요해지는 현상은 농식품 소비 트렌드로 정착되고 있으며, 이는 농식품 소비의 인구 구조적 요인, 사회·

경제적 요인, 심리적 요인 등에 의해 영향을 받아 전체 인구 65세 이상의 비율이 2005년 현재 약 9.5% 이상으로 고령화 사회로 편리성, 질감, 맛, 영양, 포장, 분위기까지 노인들의 취향에 맞게 개발된 ‘실버 푸드’에 대한 관심이 높아지고, 기러기 가족을 포함한 독신자가 600만 명으로 농식품 소비단위가 더욱 소량화 되고, 간편 식품화 되고 있음.

○ 싹기름채소는 효능 및 소비 방법 등을 홍보함으로써 신규 수요가 있을 것으로 보이며, 소득 증가로 외식 소비가 늘어 샐러드, 비빔밥, 생선회가 소비가 증가하여 이에 따른 싹기름채소 소비도 증가할 전망이다. 또한 다이어트, 피부미용, 항암효과, 성인병 예방, 당뇨, 아토피 등 많은 부분에 효능이 있는 것으로 알려지고 있어 향후 소비가 증대될 것으로 전망됨.

○ 싹기름채소는 발아됨에 따라 효소가 다량 생성되고 단백질의 질적 변화, 미량 영양소의 증가, 탄수화물의 소화율 증가 및 antinutritional factor 의 감소나 제거가 이루어지는 등 다양한 변화가 일어나기 때문에 발아에 의한 식품의 영양적 가치를 증대시키고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있음.

○ 식물방어기작을 이용한 식물의 기능성 증진 연구는 식물의 병충해 방지, 가뭄에 대한 환경 적응성에 대한 연구로서 작물의 생산성을 향상시키고자 식물학 또는 식물유전학 측면에서 다양하게 진행되어 MeJA 등이 함유된 병해방지제등이 시판되고 있으며, 이와 관련된 연구로서 식품학적인 연구는 phenolic compounds, terpenoids, alkanoids 에 대한 연구가 진행되고 cell 수준에서 biotic 또는 abiotic 물질을 처리하여 기능성을 향상시키고자 하는 연구가 다발적으로 진행되고 있는 실정임.

## 제 2 절 연구개발대상 기술의 국내·외 현황

### 1. 세계적 수준

개념정립 단계		기업화 단계	●	기술 안정화 단계	
---------	--	--------	---	-----------	--

○ 외국의 경우 미국을 중심으로 식물방어기작에 대한 연구가 가장 활발하게 진행되고 있으며 조지아 대학의 연구소에서 식물세포에 주는 영향, 식물이 인식하는 방법 등을 세포배양, 식물 조직을 이용하여 구명하고 있음. 캐나다의 경우 토마토 등의 병에 대한 저항성을 증가시키는



연구 등을 하고 있으며, 일본 등 세계 여러 나라에서 농업에 이용하려는 노력은 매우 활발하게 진행되고 있는 실정임.

○ 싹기름채소는 발아됨에 따라 효소가 다량 생성되고 단백질의 질적 변화, 미량 영양소의 증가, 탄수화물의 소화율 증가 및 antinutritional factor 의 감소나 제거가 이루어지는 등 다양한 변화가 일어나기 때문에 발아에 의한 식품의 영양적 가치를 증대시키고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있음.

○ 식물방어기작을 이용한 식물의 기능성 증진 연구는 식물의 병충해 방지, 가뭄에 대한 환경 적응성에 대한 연구로서 작물의 생산성을 향상시키고자 식물학 또는 식물유전학 측면에서 다양하게 진행되어 MeJA 등이 함유된 병해방지제등이 시판되고 있음.

○ 식물방어기작을 이용한 식품학적인 연구는 phenolic compounds, terpenoids, alkanoids 에 대한 연구로 진행되어 오고 있으며 cell 수준에서 biotic 또는 abiotic 물질을 처리하여 기능성을 향상시키고자 하는 연구가 진행 중에 있음.

○ 이와 유사하게 녹차의 GABA 를 증진시키기 위한 방안으로서 환경적 스트레스를 주어 GABA 함량이 크게 증진된 GABARON tea 가 일본에서 산업적으로 개발되었으며, 일본 Oryza 사에서는 GABA 를 고농도로 증진시키고 풍미를 개량한 쌀 배아를 제조하여 이를 기능성 소재로 이용하고, 大洋香料 에서는 유산균 발효에 의해 제조된 GABA 고농도 추출물을 혈압강하와 정신안정 효과를 나타내는 기능성 식품 소재로 활용하고 있음.

## 2. 국내수준

○ 국내에서 이용되고 있는 싹기름채소는 무싹, 순무싹, 브로콜리싹, 알팔파 등 다양하나, 국내 싹기름채소에 대한 연구로 메밀의 루틴에 대한 혈압강하효과, 비만억제효과 등이 밝혀지면서, 케일싹의 간 기능 향상 등에 효과가 있는 것으로 밝혀지고 있으며, 홍화싹의 경우 칼슘, 베타 카로틴, 리놀렌산, 리놀산 및 SOD 가 풍부하여 혈압유지 및 뼈 강화에 효과를 나타내며, 완두 싹은 당뇨병의 치료효과와 심장병 등에 효과가 있는 것으로 연구되고 있음.

○ 식물방어기작에 대하여서는 생물학적 병저항성기작을 위한 다양한 연구가 진행되고 있으나, 기능성 식품으로서 식물방어기작을 적용한 연구는 초기단계의 수준임.

○ 발아곡물의 경우 고기능성 발아현미 및 GABA 증진 발아 콩을 생산하기 위하여 일부 환경 stress 를 활용하고 있는 수준이나 싹기름채소와 같이 stress에 의한 기능성 물질을 증진 후 고기능성 품질유지를 통한 신선 싹기름채소를 소비자에게 공급하고자 하는 연구는 매우 미미한 상태임.

### 3. 국내 · 외의 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
아리조나 대학교 식물과학과	Elicitor를 이용한 식물의 기능성 증진효과	Elicitor의 식물 내 발현기작 구명에 있으며 식품의 활용에 대한 연구 추진 중에 있음
코넬 대학교	Elicitor를 이용한 병충해 억제 및 항충성 작물 생산	Elicitor를 식물에 발현시켜 병충해에 저항성이 높은 작물을 생산하고 있음

○ 식물의 방어시스템을 이용한 연구는 biotic elicitors (cellulase, pectinase 등) 을 이용하여 식물세포 의 방어기작의 내적 신호전달에 의한 salicylic acid, jasmonic acid 등의 유도기작 및 이에 의한 2차 대사산물의 축적에 관한 연구와 ultraviolet radiation, heavy metal salts 및 chemical 물질 등을 이용한 abiotic elicitors 또는 다양한 stress 에 의해 발생하는 유도 기작 및 이를 이용한 기능성물질을 생산하는 방법들이 세포단계에서 다양하게 연구되고 있으나 식품의 적용하는 사례는 아주 미약함.

○ 국내 연구의 경우 Kim 등 (2006) 의 'Effect of methyl jasmonate on phenolics, Isothiocyanate, and metabolic enzymes in Radish sprout (*Raphanus sativus* L.)' 에서 무싹의 DPPH free radical scavenging capacity 와 phenolic acid 가 증가하였으며, Kim 등 (2005) 의 'Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.)' 에서 chitosan 의 처리에 의해서 생리활성이 증가하는 결과를 나타내고 있어 이들의 싹기름채소에 적용할 때 다양한 기능성을 증가시킬 수 있는 연구 자료로 판단됨. 또한, 한국인삼연초연구원 (2000) 에서 '고려인삼 모상근으로부터 생산에 미치는 Jasmonic acid 와 Methyl Jasmonate 의 영향'에서는 인삼모근의 ginsenosides 의 함량을 높이기 위하여 jasmonic acid 와 Methyl Jasmonate 을 적정 조건으로 처리하여 ginsenosides 와 생산성을 향상시킨 결과를 나타냄.

○ 메밀에 대한 연구는 국내외로 다양하게 연구되고 있으며, 그중 Zhanping 등은 구취증세의 환자를 대상으로 메밀가루를 이용해 1개월간 치료한 결과 약 62%가 완치되었고, 약 20.7%가 많이 좋아졌으며, 약 13.7%가 약간의 효과를 보인 것으로 치근막염과 잇몸출혈 치료에 현저한 효과가 있다고 보고하였으며, 그 이유로 미량원소와 비타민류, 특히, rutin, quercetin을 많이 함유하고 있어 모세혈관을 튼튼하게 하고 염증을 제거하기 때문으로 보고함. Xiping 과 Xianquiong 등은 비만 환자를 대상으로 한 메밀의 효능을 검사한 결과 매일 40 g 씩 섭취할 경우 triglycerided 와 cholesterol, 혈압 및 체중이 현저하게 감소하였으며, 그 이유로 Mg 이 심장 및 혈관의 정상적인 활동을 조절하고 저밀도의 lipoprotein 의 함량을 감소시키고 동맥경화의 예방에 효과가 있는 고밀도의 lipoprotein 의 함량의 증가와 혈중 cholesterol 의 농도를 감소시켜 혈압과 체지방을 저하시킨다고 보고함.

○ 국내 대학 연구팀에서는 메밀의 고혈압 및 당뇨에 효과가 있는 루틴의 함량을 높이기 위하여 발아를 이용하여 생리활성 물질의 변화를 검토하였고, 메밀 품종 중 생리활성성분이 높은 품종을 선발, 한국산 메밀을 이용한 기능성 성분을 분리하기 위한 재배 메밀의 전초를 메밀 잎, 전초, 종실 등으로 구분하여 혈압상승 억제물질의 탐색하고 이를 이용하여 루틴음료를 개발하여 그 기능성을 확인한바 있으나 이는 품종에 의한 차이를 나타낸 것으로서 싹기름채소에 관한 연구는 다양하게 진행되지 않았음.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 재료 및 방법

#### 1. 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 싹기름채소의 단위 공정별 기술개발

##### 가. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 및 발아 중 관수처리 조건 설정

###### (1) 이산화염소수의 제조

이산화염소수는 chlorine dioxide generator system ((주)부벽엔텍) 을 사용하여 제조하였으며 농도는 iodometry standard method 를 이용하여 측정하였다.

###### (2) 총 균수 측정

시료 10 g에 9 배수의 0.85% 식염수를 첨가하여 분쇄한 후 여액을 식염수로 희석하여 배지에 분주·배양하고 형성된 colony 를 계수하여 시료 당 colony forming unit (CFU) 의 수치로 나타내었다. 본 실험에 사용된 선택 배지는 총 균으로 plate count agar (PCA, Difco Co., Detroit, MI, USA) 를 사용하여 37°C 에서 48시간 후에 조사하였다.

###### (3) 발아율 측정

발아율은 10~12 g 의 종자를 소독한 후 5 겹의 cheese cotton 을 놓은 페트리접시에 각각 분주하여 10 mg 의 증류수를 주어 25°C 에서 24 시간 후 싹의 발아정도를 확인하여 백분율 (%) 로 나타내었다.

###### (4) 균주 배양 및 현탁액 제조

*Salmonella typhimurium* ATCC 14028 을 사용하여 분석하였다. 균주는 brain heart infusion broth (Difco, Becton, MD, USA) 를 사용하여 37°C 에서 24시간동안 계대 배양하였다. 계대 배양한 것을 동일한 액체배지 1 L 에 1 백금이를 접종하여 최적온도에서 24시간 배양하였다. 이 영양세포 현탁액을 원심분리기 (Sorvall RC28S, Dupont Co., USA) 를 이용하여 4°C 에서 3,300 × g 로 15분간 원심 분리하여 얻은 균체를 0.1% 펩톤수로 세척, 원심 분리하여 최종 영양세포의 농도가 10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> CFU/mL 가 되도록 농도를 조절하였다.

#### (5) 균주의 인위적인 오염

종자 (Asia Seed Co., Seoul, Korea) 1 kg을 균주 현탁액 1 L 에 침지하여 10분 동안 혼합하였다. 혼합된 균주현탁액을 정치시켜 상층액을 제거하고, 약 21~23°C 에서 24시간 동안 종자를 건조하였으며, 건조된 종자는 Whirl-pak bags (B01416, Nasco Co., USA) 에 밀봉하여 4°C 에 보관하면서 사용하였다. 균주를 인위적으로 오염시킨 시료 10 g 에 9 배수의 0.85% 식염수를 첨가하여 분쇄한 후 여액을 식염수로 희석하여 배지에 분주·배양하고 형성된 colony 를 계수하여 시료 당 colony forming unit (CFU) 의 수치로 나타내었다. 본 실험에 사용된 배지는 *Salmonella typhimurium* 의 선택배지로 XLD agar (Difco Co., Detroit, MI, USA) 를 사용하여 37°C 에서 24시간 후에 조사하였다.

#### (6) 이산화염소수, citric acid 및 glycerin 처리

이산화염소수, 구연산 및 glycerin 처리는 무 종자 10 g 에 9 배수의 처리수를 첨가하여 stirrer (PC-410, Corning Co., Nagog Park Acton, MA, USA) 를 이용하여 3의 속도로 교반하였다. 이산화염소수는 50, 100 및 200 ppm 의 농도, citric acid 는 0.5, 1.0, 2.0 및 5.0% 의 농도, glycerin 은 0.1, 0.2 및 0.5% 의 농도로 조절한 후 10 분간 교반·처리하였다.

### 나. 메밀씨기름체소의 기능성 증진을 위한 elicitor 처리 효과

#### (1) 추출

시료 3 g 을 취하여 80% 에탄올 30 mL 를 가한 다음, 20°C 의 shaking incubator 에서 3 시간 추출한 후 10,000 xg 에서 15분간 원심 분리하여 분리된 상층액을 여과지 (Whatman No. 2) 를 사용하여 감압 여과한 것을 4 ± 1°C 에 저장하여 실험에 사용하였으며, 각 조건별로 3회 반복 추출하였다.

#### (2) 총 페놀 함량 측정

시료의 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법 (AOAC 1995) 에 따라 함량을 측정하였다. 캡 튜브에 시료를 0.5 mL 채취하고 1 N Folin-Ciocalteu 시약을 0.5 mL 를 첨가하여 정확히 3분 후에 2% sodium carbonate anhydrous 포화용액 10 mL 를 첨가한 후 1시간 동안 반응시킨 것을 여과하여 750 nm에서 UV-spectrophotometer (V-570, Jasco Co., Japan) 로 흡광도를 측정하여 총 페놀 함량을 구하였다. 표준물질로는 tannic acid (Sigma, USA) 를 사용하였다.

### (3) UPLC-Q-TOF 를 이용한 phenolic compounds 의 분리 및 동정

메밀싹 추출물에서 phenolic compounds 를 분리하고 동정하기 위하여 ultra performance liquid chromatography (UPLC)-quadrupole-time of flight (Q-TOF) 를 사용하였다. UPLC 에 장착된 BHE C<sub>18</sub> column 을 0.1% formic acid 를 함유한 LC/MS 용 distilled water 로 equilibration 시킨 후 시료 3 uL 를 autoinjector 로 주입하였다. 시료의 elution 은 0.1% formic acid 를 함유한 acetonitrile 를 fellow rate 0.3 mL/min 으로 초기 15% 에서 40% 까지 5분간 점차적으로 증가시켜 주면서 진행하였다. 분리된 eluent 는 photodiode array (PDA) detector 를 이용하여 254 nm 에서 흡광도를 측정하였으며 연속으로 Q-TOF 를 이용하여 mass spectrum 를 측정하였다. Q-TOF 는 ES-positive 와 negative 조건에서 분석하였으며 capillary 와 sample cone voltage 는 각각 2.78 과 26 V 이고 source 온도와 desolvation 온도는 각각 110°C 와 300°C 이며, desolvation 과 cone 속도는 각각 700 L/h 와 50 L/h 조건에서 수행하였다. Precursor 분석을 위한 collision cell energy 는 4 kV 를 사용하였으며 물질 동정 시에는 collision cell energy를 10 kV 에서 30 kV 로 올리면서 사용하였으며 200 pmole leucine 을 lock mass 로 사용하였다. 물질의 동정은 elemental composition 으로 물질을 1차 screening 한 후 online database (www. chemsider.com) 와 Waters 사의 mass fragmentation software 를 이용하여 2차 screening 하였으며 최종 표준물질을 이용하여 동정하였다.

### (4) 루틴 함량 측정

메밀싹기름채소의 루틴 함량은 Choung 의 방법을 이용하여 측정하였다. 메밀싹기름채소 추출물을 0.45 µm membrane filter 로 여과한 후 여과액 10 µL 를 HPLC 에 주입하여 분석하였다. 칼럼은 ACE C<sub>18</sub> column (4.6 × 250 mm, ACE, Scotland) 을 사용하였으며, 이동상은 acetic acid:water=2:98 (v/v) 과 acetic acid:acetonitrile:water=2:45:53 (v/v/v) 을 혼합하여 사용하였다. 유속은 1 mL/min, 칼럼오븐의 온도는 35°C 로 UV detector 를 사용하여 355 nm 에서 분석하였다. 루틴의 정량에는 표준물질로 작성한 정량곡선을 이용하였다.

### (5) DPPH 라디칼 소거능

시료의 DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등 (2007) 의 방법을 참고하여, 항산화물질에 의한 2,2-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능을 측정하여 조사하였다. 시험관에 0.15 mM DPPH 용액 2.7 mL 와 농도별로 조제한 시료 0.8 mL 을 넣고 실온에서 15분 동안 방치한 후 흡광도 (525 nm) 를 UV/Visible spectrophotometer (V-570, Jasco Co., Japan) 로 측정하였다. 또한, 시료 대신 메탄올을 사용하여 대조구의 흡광도를 측정하였으며 다음의 계산식을 이용하여 DPPH 라디칼 소거능 (%) 을 계산하였다.

$$DPPH\ radical\ scavenging\ activity(\%) = (1 - \frac{Abs_{sample}}{Abs_{control}}) \times 100$$

(6) Ferric reducing ability of plasma (Frap) assay 측정

메밀싹기름채소의 Frap assay 는 Benzie and Strain 의 방법을 이용하여 측정하였다. 실험을 위한 반응 용액은 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) solution 와 20 mM Ferric chloride (Iron(III) chloride hexahydrate) 를 10:1:1 의 비율로 혼합하여 Working Frap Reagent (WFR) 를 제조한 후, 실험 전까지 37°C 를 유지하여 사용하였다. 메밀싹기름채소 추출물 60 μL 에 증류수 250 μL 과 WFR solution 3.6 mL 를 혼합하여 30 분간 반응시킨 후 593 nm 에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 Iron(II) sulfate heptahydrate 를 사용하였다.

(7) Phenylalanine ammonina lyase (PAL) activity assay

PAL 활성을 측정하기 위하여 15 mM β-mercaptoethanol 을 함유한 0.1 M Na-borate (pH 8.8) 로 단백질을 추출한 후 ammonium sulfate 를 이용하여 80% 까지 포화시켜 단백질을 salting out 시킨 후 조효소액을 얻었다. 조효소액 (200 μL) 에 10 mM L-phenylalanine 을 함유한 0.1 M Na-borate (pH 8.8) 1 mL 를 넣어 37°C 에서 7시간 반응시킨 후 생성물인 cinnamic acid 를 toluene 으로 분획하였다. 획득한 cinnamic acid 를 정량분석하기 위하여 toluene 을 N<sub>2</sub> gas 로 날려 보낸 다음 methanol 로 다시 녹여 C<sub>18</sub> column 이 장착된 UPLC 로 정량 분석하였다.

(8) α-Glucosidase 저해 활성 측정

α-Glucosidase 저해활성은 nitrophenol 분석법을 응용하여 측정하였다. 0.2 U/mL α-glucosidase 효소액 50 μL 과 시료액 20 μL 혼합액을 shaking 하고 5분간 preincubation 시킨 후 405 nm 에서 흡광도를 측정하였다 (A값). 효소와 시료 혼합액에 2.5 mM p-nitrophenyl α-D-glucopyranoside (pNPG) 을 50 μL 가하고 shaking 한 후 정확히 5분간 실온에서 반응시킨 후 405 nm 에서 흡광도를 측정하였다 (B값). 대조구는 α-glucosidase 와 기질만 넣고 위와 같은 방법으로 측정하였다. 효소저해활성은 다음과 같이 구하였다.

$$\alpha - Glucosidase\ 저해\ 활성(\%) = \frac{Abs_{control}(B - A) - Abs_{sample}(B - A)}{Abs_{control}(B - A)} \times 100$$

(9)  $\alpha$ -Amylase 저해활성 측정

메밀추출물 시료와  $\alpha$ -amylase 와의 전처리는 Dunaif 방법을 이용하였고,  $\alpha$ -amylase 활성은 Pesce 방법으로 측정하였다. 즉, porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 20 mM phosphate buffer (pH 6.9) containing 6.7 mM NaCl (Sigma, USA) 용액에 시료를 녹인 후 전분용액과 반응시키기 전 실온에서 10 분간 pre-incubation 하였다. 200  $\mu\text{L}$  시료와 반응시킨 효소액 1 mL 를 1% 전분용액 1 mL 와 혼합하여 20 $^{\circ}\text{C}$  에서 3 분간 반응시킨 후 여기에 3,5-dinitrosalicylic acid 용액 (30% sodium potassium tartrate in 2 N NaOH) 2 mL 를 가해 반응을 정지시켰다. 위 반응액을 100 $^{\circ}\text{C}$  에서 5 분간 끓여 발색시킨 후 차가운 물에서 완전히 냉각시켰다. 이 반응액에 5 mL 의 증류수를 가하고 잘 혼합한 후 550 nm 의 spectrophotometer (Beckmann, Germany)에서 흡광도를 측정하였다. 위와 동일한 방법으로 시료를 가하지 않은 효소를 전분기질과 반응시키고 그 결과를 대조구로 하여 시료의 효소활성저해율을 계산하였다. 시약에 의한 영향을 배제하기 위해 시약 blank를 실시하였으며 시료의 당함유에 의한 영향을 배제하기 위해 시료 각각에 대한 blank를 실시하여 실험값에서 빼 주었다.

(10) ACE 저해활성 측정

Cushman 과 Cheung 의 방법에 의하여 ACE 저해활성을 측정하였다. 즉, 50  $\mu\text{L}$  시료에 100  $\mu\text{L}$  ACE 효소액 1 Unit/20 mL of 0.2 M sodium borate buffer (pH 8.3) containing 0.4 M NaCl (Sigma, USA) 및 0.2 M sodium borate buffer (pH 8.3) 200  $\mu\text{L}$  을 가한 다음 37 $^{\circ}\text{C}$  에서 10 분간 preincubation 하였다. 여기에 기질로써 5 mM Hip-His-Leu 100  $\mu\text{L}$  을 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$  에서 30 분간 반응시킨 다음 1 N HCl 500  $\mu\text{L}$  을 가하여 반응을 정지하였다. Ethyl acetate 1.5 mL 를 가하여 1 분간 교반한 후 3,000  $\times\text{g}$  에서 5 분간 원심 분리하여 상정액 1 mL 를 취하였다. 이 상정액을 120 $^{\circ}\text{C}$  heating block 에서 완전히 건조시킨 뒤 1 N NaCl 1 mL 를 가하여 용해한 후 228 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 시료 blank 도 측정하여 시료의 흡광도에서 빼주었으며 다음 식에 의해 ACE 저해활성 (%) 을 구하였다.

$$ACE \text{ 저해활성}(\%) = \frac{(Abs_{control} - Abs_{control blank}) - (Abs_{sample} - Abs_{sample blank})}{Abs_{control} - Abs_{control blank}} \times 100$$

다. 병행 elicitor 처리에 의한 메밀싹기름체소의 기능성 증진 실증실험

총 페놀 함량 측정, 루틴 함량 측정, Ferric reducing ability of plasma (Frap) assay 측정, DPPH 라디칼 소거능 및 Phenylalanine ammonina lyase (PAL) activity assay 측정은 1. 나.에서의 측정방법과 동일하게 실시하였다.



#### (1) 길이변화 측정

메밀싹기름채소의 길이변화는 수확 직 후 각 실험군에서 무작위로 10 개체를 선정하여 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 절단 부분의 길이를 측정하여 평균값으로 나타내었다.

#### (2) 중량 감소율 측정

Elicitor 를 병행 처리한 메밀싹기름채소의 저장 기간에 따른 중량 감소율 변화는 수확 직 후 각 실험군의 초기 중량에 대한 저장 후 측정된 중량의 차이를 초기 중량에 대한 백분율로 나타내었다.

#### (3) 색도 및 갈색도 측정

Elicitor 를 병행 처리한 메밀싹기름채소의 저장 기간에 따른 색도 및 갈색도의 변화는 Ha and Kim 의 방법을 이용하여 측정하였다. 색도는 표준백판 ( $L=77.24$ ,  $a=1.22$ ,  $b=-8.51$ ) 으로 보정된 Chromameter (Ultrascan XE, HunterLab Co., Reston, VA, USA) 을 이용하여 L (명도), a (적색도) 및 b (황색도) 값을 측정하였으며, 갈색도는 시료 5 g 에 대하여 50 mL 의 메탄올을 가한 뒤 1시간 동안 추출한 다음 3,500 xg 에서 15분 동안 원심분리한 후 여과하여 이 여액을 UV/Visible spectrophotometer (V-570, Jasco Co., Japan) 로 420 nm 에서 흡광도를 측정하여 갈색도를 나타내었다.

#### (4) 카로티노이드 함량 측정

Elicitor 를 병행 처리한 메밀싹기름채소의 저장 기간에 따른 카로티노이드 함량의 변화는 Kim 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 동결 건조한 시료 0.2 g 에 0.1% BHT 를 포함하는 ethanol 6 mL 를 혼합하여 85°C 드라이 오븐에서 반응시키고 80% KOH 120  $\mu$ L 을 첨가하여 85°C 드라이 오븐에서 10분 동안 반응시킨 후 반응액이 충분히 냉각되면 증류수와 hexane 용액을 각각 3 mL 씩 첨가하고 3,500 xg 에서 15분 동안 원심 분리하여 상층액만 수집하였다. 증류수와 hexane 용액을 첨가하여 동일한 과정을 1회 반복하여 상층액이 총 2회 수집되면 질소가스로 건조시킨 후 건조된 잔여물에 methanol/MTBE (1:1) 을 첨가하여 450 nm 에서 UV-spectrophotometer (V-570, Jasco Co., Japan) 로 흡광도를 측정하여 카로티노이드 함량을 구하였다. 표준물질로는  $\beta$ -carotene (Sigma Co., USA) 을 사용하였다.

#### (5) 유기산 함량 측정

유기산 함량은 메밀싹기름채소 추출물을 0.45  $\mu$ m membrane filter 로 여과한 후 여과액 10  $\mu$ L 를 HPLC 에 주입하여 분석하였다. 칼럼은 Prevail<sup>TM</sup> Organic acid analysis column

(4.6 × 250 mm, Prevail™, USA) 을 사용하였으며, 이동상은 25 mM potassium dihydrogenphosphate (pH 2.5) (v/v), 유속은 1.0 mL/min, 칼럼오븐의 온도는 35°C 고, RID-10A detector 로 분석하였다. 표준곡선은 oxalic acid, ascorbic acid, citric acid, formic acid, malic acid, acetic acid, succinic acid 로 작성하였다.

#### (6) 유리당 함량 측정

유리당 함량은 메밀씨기름채소 추출물을 0.45 μm membrane filter 로 여과한 후 여과액 1.5 μL 를 HPLC 에 주입하여 분석하였다. 칼럼은 carbohydrate analysis column (3.9 × 300 mm, Waters, USA) 을 사용하였으며, 이동상은 ACN:Water=78:22 (v/v), 유속은 1.4 mL/min, 칼럼오븐의 온도는 35°C 고, RID-10A detector 로 분석하였다. 표준곡선은 glucose, fructose, maltose, sucrose로 작성하였다.

#### (7) 통계처리

대조구 및 실험구의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량 실험 결과의 관련성은 SPSS ver 9.0 을 이용하여 상관분석을 실시하여 검토하였다.

## 2. 식물방어기작을 적용한 메밀씨기름채소의 식품 소재화 연구

### 가. 반응표면분석법에 의한 메밀 (*Fagopyrum esculentum M.*) 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화

총 페놀 함량 측정, α-Glucosidase 저해 활성 측정, ACE 저해 활성 측정은 은 1. 나.에서의 측정 방법과 동일하게 실시하였다.

#### (1) 추출

추출조건 설정을 위한 추출물의 추출방법은 시료 10 g 를 취하여 각각 조건별로 가수한 다음, 환류냉각장치로 추출온도와 추출시간을 달리하면서 추출한 후 100 mL 로 정용하여 여과지 (Whatman No. 2) 를 사용하여 감압 여과한 것을 추출물의 품질인자 측정에 사용하였으며, 각 조건별로 3회 반복 추출하였다.

#### (2) 추출조건 설정을 위한 실험설계

○ 본 실험에서는 반응표면분석법 (response surface methodology; RSM) 을 이용하여 최적추출조건의 예측과 추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성을 모니터링 하였다. 추출조건의

Table 1. Experimental range and value of the independent variable in the central composite design for extraction conditions

Independent variables	Variable	Variable Level				
		-1.68	-1	0	1	1.68
Extraction temperature ( °C)	X <sub>1</sub>	7.2	22.5	45	67.5	82.8
Extraction time (hr)	X <sub>2</sub>	2	4	7	9	11
Ethanol concentration (%)	X <sub>3</sub>	8	25	50	75	92

Table 2. Central composite design matrix of three test variables in coded values, three observed responses of cultivated media

Run no.	Coded values			Responses		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Extraction temperature ( °C)	Extraction time (hr)	Ethanol concentration (%)
1	-1	-1	-1	22.5	4	25
2	+1	-1	-1	67.5	4	25
3	-1	+1	-1	22.5	9	25
4	+1	+1	-1	67.5	9	25
5	-1	-1	+1	22.5	4	75
6	+1	-1	+1	67.5	4	75
7	-1	+1	+1	22.5	9	75
8	+1	+1	+1	67.5	9	75
9	-1.68	0	0	7.2	7	50
10	+1.68	0	0	82.8	7	50
11	0	-1.68	0	45	2	50
12	0	+1.68	0	45	11	50
13	0	0	-1.68	45	7	8
14	0	0	+1.68	45	7	92
15	0	0	0	45	7	50
16	0	0	0	45	7	50
17	0	0	0	45	7	50
18	0	0	0	45	7	50
19	0	0	0	45	7	50
20	0	0	0	45	7	50

최적화를 위한 실험계획은 중심합성계획법에 의하여 설계하였고, 반응표면분석을 위해서는 SAS (statistical analysis system) program 을 사용하였다.

○ 중심합성계획에 의한 독립변수 ( $X_i$ ) 의 실험계획은 **Table 1** 와 같이 추출공정에서 중요한 변수로 고려되는 인자, 즉 시료의 추출온도 ( $X_1$ ), 추출시간 ( $X_2$ ), 증류수에 대한 에탄올 농도 ( $X_3$ ) 를 -1.68, -1, 0, 1, 1.68 의 5 단계로 부호화하였다. 독립변수 ( $X_i$ ) 는 중심합성계획에 따라 **Table 2** 과 같이 20구간으로 설정하여 추출실험을 실시하였다. 또한, 이들 요인변수에 의한 영향을 받는 종속변수 ( $Y_n$ ) 는 추출물의 품질인자로서 수율 ( $Y_1$ ), 총 페놀성 화합물 함량 ( $Y_2$ ), ACE 저해활성 ( $Y_3$ ) 및  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성 ( $Y_4$ ) 으로 하였으며, 이들은 3회 반복 측정하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 변수들의 추출특성과 그에 상응하는 최적 추출조건은 Mathematica program 을 이용하여 4차원 반응표면으로 나타내었다.

### (3) 최적 추출조건 예측 및 실증시험

최적 추출조건은 반응변수인 추출물의 특성 즉, 수율, 총 페놀성 화합물 함량,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 및 ACE 저해활성의 반응표면을 superimposing 했을 때 중복되는 부분의 범위로 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의의 점을 설정하여 회귀식에 대입한 후 그 예측된 최적값들에 대하여 검증을 실시하였다.

### (4) 수율 측정

시료의 수율은 항량을 구한 수기에 추출액 10 mL 을 취하여 105°C 에서 증발 건조시킨 후 그 무게를 측정하여 추출액 조제에 사용된 원료 양에 대한 백분율 (%) 로 나타내었다.

## 나. 용매 특성에 따른 메밀싹기름체소의 유효성분 추출 조건 설정

루틴 함량, 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능, FRAP assay 의 분석방법은 1. 나.에서의 측정방법과 동일하게 실시하였다.

유리당과 유기산의 분석방법은 1. 다.에서의 측정방법과 동일하게 실시하였다.

### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2008~2010년에 재배된 종자를 구입한 것을 사용하였으며, 메밀 종자는 4시간 침수 시킨 뒤 건전한 것을 선별한 후 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EastGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7 일간 18°C 에서

성장시켰다. 메밀싹기름채소는 뿌리부분을 제외한 줄기이상의 부분을 절단하여 동결건조기 (T D5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (K A-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850  $\mu\text{m}^2$ ) 표준망에 통과시켜 실험을 위한 시료로 사용하였다.

## (2) 용매 추출 조건

시료에 추출용매 MeOH (Methanol), EtOH (Ethanol), IPA (Isopropanol) 를 각각 100 mL 씩 첨가하여 추출하였다. 추출조건은 온도 70°C, 시간 5 hr, 용매농도 0, 30, 50, 70 및 100%로 각각 설정하여 추출하였다. 용매를 추출한 추출액은 원심분리 (3000 rpm, 15 min) 하여 고형물을 제거하고 액상부분만 분리하여 여과 (Whatman No.2) 하였다. 여과액은 농축하여 (50°C) 에서 용매를 제거하였다. 농축이 끝난 시료는 증류수에 녹이고 동일하게 부피를 100 mL 로 맞추는 다음 일부는 분석 시료로 사용하였으며, 나머지는 동결건조 하여 분말시료로 사용하였다.

## 다. 메밀싹기름채소 추출물의 분리정제 및 비드 제조

### (1) 수용성 페놀 물질 (SBP) 정제

용매추출물에서 수용성페놀성분을 정제하기 위하여 Amberlite XAD-7 resin 을 사용하였다. 오픈컬럼에 XAD-7 resin 250 g 을 500 mL 증류수로 컬럼에 채우고 증류수에 10% 로 녹인 시료를 filter-paper (whatman No.2) 여과 하고 컬럼에 loading 하였다. 증류수를 컬럼 5배 volume 의 증류수로 0.5 mL/min 씩 흘려주었다. 컬럼에 흡착된 폴리페놀성분은 MeOH 을 사용하여 컬럼 5배 volum 으로 추출 하였다. 추출된 정제추출물은 rotary-evaporator 로 농축하여 동결건조 후 분말 상태로 사용하였다.

### (2) 메밀싹기름채소 추출물을 이용한 비드제조

알긴산 나트륨 2.0 g 을 정제수 100 mL 에 가하여 알긴산 나트륨 용액을 제조하고 제조된 알긴산 나트륨 용액에 추출정제된 분말을 0.1 g 을 가하여 완전히 용해 될 때까지 균질화시켜 유제를 제조하였다. 제조된 유제를 파스테르 피펫을 사용하여 3% 의 염화칼슘 용액에 적하하여 메밀새싹 추출물을 포집하고 있는 알긴산 비드를 제조하였다. 또한, emulsion 비드는 난용성 페놀 물질 (NBCE) 을 소량의 MeOH 에 녹인 후 DCM (Dichloromethan) 에 혼합한 하여 alginate 비드에 포집하여 encapsulation 시켜 emulsion 비드를 제조하였다. 제조된 비드는 열풍건조기 또는 동결건조기에서 건조하여 실험에 사용하였다.

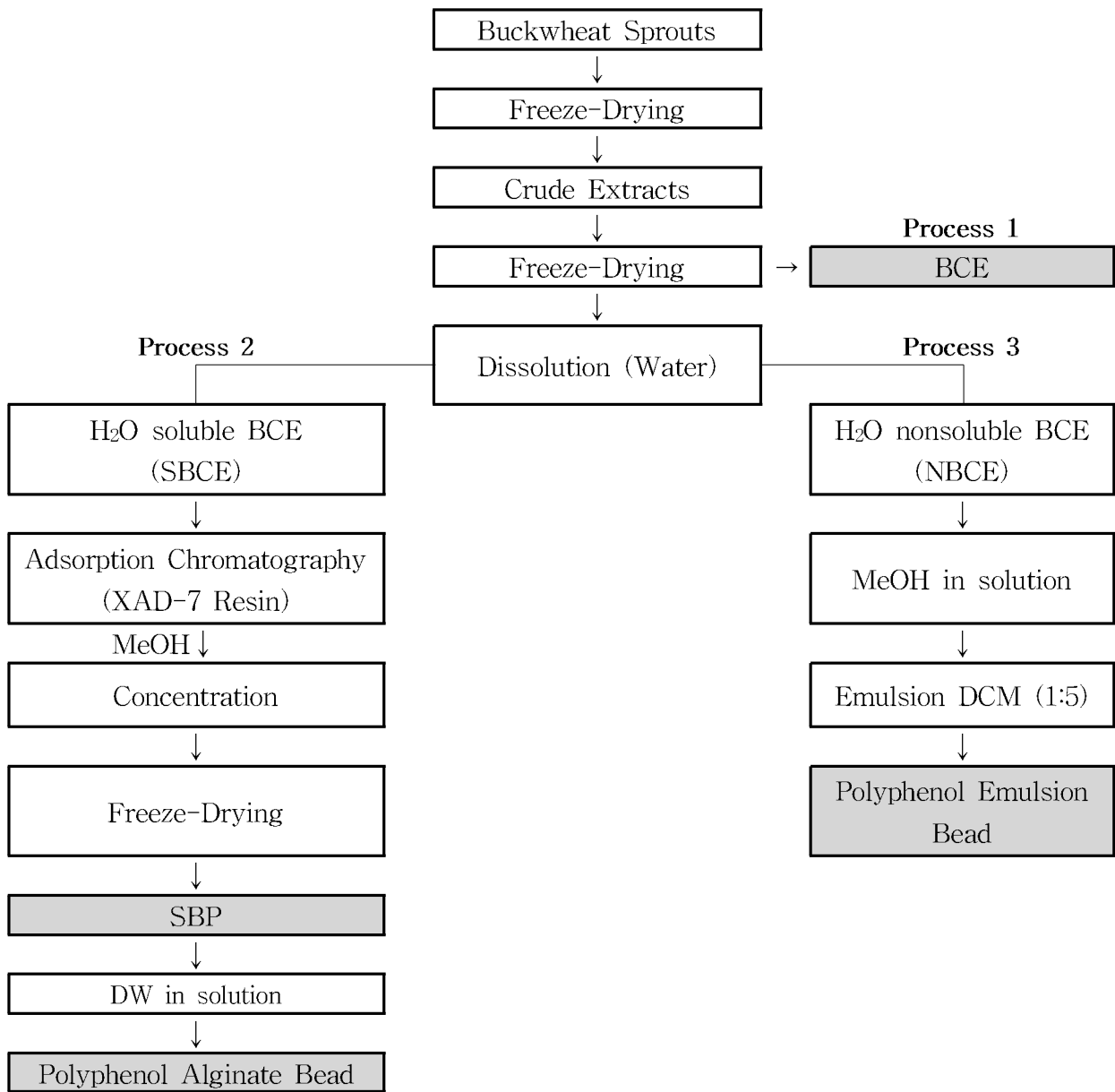


Fig. 1. Process for the materialization of polyphenol extraction and bead from buckwheat sprouts.

BCE, Buckwheat sprout crude extract; SBP, Water Soluble buckwheat sprout polyphenol; NBCE, Water nonsoluble buckwheat sprouts crude extract

### (3) 비드 방출실험

비드의 방출실험을 위하여 중성영역과 산성영역으로 구분하여 실험을 실시하였다. 중성영역에서는 PBS (Phosphate buffered saline, pH 7.4) 를 산성영역에서는 HCl buffer solution (pH 1.2) 을 사용하였다. 비드의 방출실험을 위하여 건조된 비드를 buffer solution 300 mL 에 분산시킨 후 일정한 속도로 교반하면서 항온 수조에서 체온과 같은 온도인  $37.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  를 유

지하도록 하였다. Sample 채취는 적정 시간 조건에서 2 mL를 20 시간 분취 받았다. 분취 받은 sample 은 총 페놀 함량을 측정하여 방출량을 비교 하였다.

#### (4) SEM 분석

표면 초미세구조는 주사전자현미경 (Scanning electron microscope, SEM, S2380N, Hitachi, Japan) 을 이용하여 측정하였다. 시료는 건조 상태에서 sputter coater (Spisupplies, USA) 를 이용하여 10~30 nm의 두께로 gold-palladium 으로 도금하여 측정하고 가속전압 20 kV 에서 50~1200 배율로 촬영하였다.

#### (5) Bead 크기 및 구형 분석

비드의 크기 및 구형을 분석하기 위하여 화상분석장치를 사용하였다. 화상입력장치는 Micro Hi-scope system (Hirox co., Ltd., Japan) 을 사용하였고, 획득한 이미지는 소프트웨어 (Image Pro Plus. version 4.5.0.19, USA) 를 이용하여 분석하였다.

### 3. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 Metabolomic 특성 및 지질대사 개선 연구

#### 가. 메밀싹기름채소의 기존생산 방식과 MeJA 처리구간의 Metabolomic 특성 조사

총 페놀 함량, FRAP assay, PAL activity assay 측정은 1. 나.에서의 측정방법과 동일하게 실시하였다.

##### (1) 메밀싹기름채소 재배 및 MeJA 처리

씻은 메밀 씨앗 (40 g) 를 25°C 물에 4 시간 동안 침지한 후 거즈에 깔린 메밀싹 발아 트레이 (32 × 6 × 2.8 cm)에 넣었다. 4 개의 독립된 트레이를 자동 스프레이 시스템을 갖고 있는 한 개의 상업용 싹 재배기 (MikroFarm; EasyGreen) 에 두었다. 싹은 18°C (2°C), 암실에서 7일간 재배하였으며 매 12 시간마다 30 분씩 물이 스프레이 되었다.

0.1 mM MeJA 를 한 트레이당 50 mL 씩, 격일로 스프레이를 해줬으며 control 로 0.25% ethanol 를 사용하였다. 메밀씨앗, 발아메밀 (0d), 1d, 3d, 5d, 7d에 수확한 메밀싹은 동결 건조하여 실험에 사용하였으며 효소측정을 위한 시료는 -70°C 에서 보관하였다.

##### (2) UPLC-Q-TOF를 이용한 메밀싹기름채소의 metabolites 분석

동결 건조한 시료 (0.1 g) 을 2 mL, 80% methanol 로 추출한 metabolites 를 ultra

performance liquid chromatography (UPLC)-quadrupole-time of flight (Q-TOF) 를 이용하여 분석하였다. UPLC 에 장착된 ACQUITY UPLC BHE C<sub>18</sub> column (1.7  $\mu$ M, 2.1  $\times$  100 mm) 을 0.1% formic acid 를 함유한 LC/MS 용 distilled water 로 equilibration 시킨 후 시료 3  $\mu$ L 를 주입하였다. 시료의 elution 은 0.1% formic acid 를 함유한 acetonitrile 를 flow rate 0.3 mL/min 으로 초기 5% 에서 50% 까지 5 분간 점차적으로 증가시켜 주면서 진행하였다. 분리된 eluent 는 photodiode array (PDA) detector 를 이용하여 254 nm 에서 흡광도를 측정하였으며 연속으로 Q-TOF 를 이용하여 mass spectrum 를 측정하였다. Q-TOF 는 ES-negative 조건에서 분석하였으며 capillary 와 sample cone voltage 는 각각 3 kV 과 45 V 이고 source 온도와 desolvation 온도는 각각 110°C, 300°C이며, desolvation 속도는 700 L/h 조건에서 수행하였다. TOF MS data 는 scan time 0.2 초, interscan delay time 0.02 초의 조건에서 m/z 50-1000 범위 내의 mass 를 분석하였다. Precursor 분석을 위한 collision cell energy 는 3 V 를 사용하였으며 물질의 MS/MS spectra 는 collision cell energy 를 10 에서 30 eV 로 올리면서 사용하였으며 200 pmole leucine 을 lock mass 로 사용하였다. Retention time, m/z, ion intensity 를 포함하는 모든 mass data 정보는 MarkerLynx 를 이용하여 수집하였다. 물질의 동정은 elemental composition 으로 물질을 1차 screening 한 후 online database (www.chemsider.com) 와 Waters 사의 mass fragmentation software 를 이용하여 2차 screening 하였으며 최종 표준물질을 이용하여 동정하였다.

### (3) Data process

LC/MS data 는 MarkerLynx 를 이용하여 alignment 되고 normalization 되었다. Peak 들은 1초의 5% height 에서의 peak width, noise elimination 6, 그리고 intensity threshold 50 의 조건에서 분석되었으며 data alignment 은 mass tolerance 0.04 Da 와 retention time window 0.15 min 조건에서 분석되었다.

### (4) 다변량통계분석 및 data analysis

Mean-centered LC/MS data sets 은 SIMCA-P<sup>+</sup> version 12.0.1 (Umetrics, Umeå, Sweden) 의 다변량통계분석 (multivariate statistical analysis) 방법을 이용하여 분석하였다. Partial least-squares discriminant analysis (PLS-DA) 와 orthogonal partial least-squares discriminant analysis (OPLS-DA) 가 MeJA 를 처리한 메밀싹과 처리하지 않은 메밀싹 (control) 의 차이를 시각적으로 보여주기 위하여 사용하였다. Hotelling's T<sup>2</sup> test 은 그룹들 사이의 차이를 통계적으로 분석하기 위하여 사용하였으며 95% 신뢰구간을 벗어나는 outlying 시료들은 차후 분석과정에서 제외시켰다. PLS-DA 와 OPLS-DA model 들의 quality 는 3개



의 parameters: R2X, R2Y, Q2Y 를 이용하여 평가하였다. R2 는 model 이 잘 그려졌는지를 보는 것이며 Q2 값은 예측할 수 있는 능력을 보여주는 것으로 사용된다. Model validation 을 위해서 7-fold validation 이 사용되었으며 model의 신뢰는 permutation test (n=200) 를 통해서 확인하였다. MeJA 처리군과 비처리군과의 차이에 관여하는 metabolites 를 찾기 위해 분석된 모든 metabolites 의 intensity를 independent t-test (Mann-Whitney U-test) 을 이용하여 분석하였으며 OPLS-DA의 p (1) 과 P (corr) 를 이용하여 S-plot 을 그렸다. 또한 총 페놀 함량과 PAL activity는 independent t-test (Mann-Whitney U-test)를 이용하여 통계분석하였다.

### 나. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 *In vitro* 효능 평가

$\alpha$ -Glucosidase 저해 활성 측정,  $\alpha$ -Amylase 저해활성 측정 및 ACE 저해 활성 측정은 1. 나.에서의 측정방법과 동일하게 실시하였다.

#### (1) 메밀싹기름채소 기능소재 추출물 제조

메밀싹기름채소 기능소재를 *in vitro* 에서  $\alpha$ -amylase 저해활성, 전분가수분해율저해특성,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성, ACE 저해활성 평가를 위하여 0일, 1일, 3일, 5일 및 7일간 재배, 동결 건조, 분말화한 시료 0.2 g 에 80% 에탄올 5 mL 을 가한 다음 15°C, 220 rpm 에서 2시간 동안 추출한 후 3,000 rpm 에서 원심분리하고, 상층액을 본 연구의 추출물로 사용하였다. 또한 담즙산흡수지연효과 시료는 동결 건조된 시료를 그대로 사용하였다.

#### (2) 전분가수분해 저해 효과

*In vitro* enzyme/dialysis system 에서 재배일수에 따른 메밀싹기름채소 추출물 첨가가 옥수수전분의 가수분해율에 미치는 영향은 Tovar 등의 방법을 응용하였다. 즉 기질로 사용한 2.5% (w/w) 에 해당하는 옥수수전분을 0.05 M phosphate buffer 에 녹인 후 100°C 에서 약 10분간 잘 저어주면서 호화시켰다. 호화된 전분용액을 실온까지 식힌 후 5 mL 의 전분용액, 0.01 g 의  $\alpha$ -amylase (28 Unit/mg solid, Sigma), 메밀싹기름채소 추출물 400  $\mu$ L 을 dialysis bag (M.W. 12,000 cut off) 에 넣고 양쪽 끝을 dialysis tubing closure 로 밀봉하였다. 37°C 로 맞추어진 130 mL 의 0.05 M phosphate buffer (pH 6.9) 가 담긴 비이커에 dialysis bag 을 넣고 2시간동안 온도를 유지시키면서 140 rpm 으로 일정하게 저어서 가수 분해된 glucose 가 dialysis bag 밖의 phosphate buffer 로 유리되도록 하였다. 전분가수분해율을 시간별로 측정하기 위해 가수분해 시작 후 30, 60, 90 및 120분에 각각 phosphate buffer 1 mL 을 취하여 유리된 glucose 를 DNS 방법으로 측정하였다. 표준곡선은 glucose 을 기준으로 하였으며, 대조군

은 시료를 넣지 않고 옥수수전분과  $\alpha$ -amylase 만 가한 후 전분가수분해율을 측정하였다. 대조군과 시료 첨가 시 옥수수전분의 가수분해율을 비교하기 위해 2시간동안 가수분해된 곡선의 아래 면적을 각각 구하였으며, 다음과 같이 전분가수분해지수 (hydrolysis index, HI) 를 구하였다 (Granfeldt 등의 방법).

$$HI = \frac{\text{Area of the starch hydrolysis curve when addition of buckwheat sprout}}{\text{Area of the starch hydrolysis curve}} \times 100$$

### (3) 담즙산흡수지연 효과

Bile acid 투과 억제효과는 투석막 내부에 시료 0.2 g 와 0.1% sodium azide 를 포함하는 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) 에 15 mmole taurocholic acid/L 을 녹인 용액 6 mL 를 넣고 투석막의 나머지 한 쪽 끝도 밀봉한 후 뚜껑이 있는 용기 (직경 8 cm × 길이 8 cm) 에서 시료를 14시간동안 수화시켰다. 대조구는 시료를 제외하고 bile acid 용액만 넣었다. 여기에 0.1% sodium azide 를 포함하는 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) 100 mL 를 가하고 37°C water bath에서 120 rpm 으로 48시간동안 shaking 하면서 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간에 투석외액 1 mL 를 취하여 taurocholic acid 함량을 Boyd 등의 방법으로 분석하였다. 즉 투석외액 1 mL 에 70% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 5 mL 를 가하고 5분 후 0.25% furfural 용액 1 mL 첨가하고 60분 후 UV-spectrophotometer 로 510 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 48시간의 담즙산 흡수지연율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{담즙산 흡수 지연율 (\%)} = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100$$

## 다. 메틸썩기름채소의 RAW 264.7 cell에 의한 항염증효과 조사

### (1) 추출

환류냉각관을 연결시킨 water bath 상에서 85°C/3시간동안 물로 추출한 열수 추출물과 상온에서 80% methanol 에서 200 rpm 의 속도로 5시간 동안 추출한 메탄올 추출물은 whatman No. 2 여과지로 여과한 후 원심분리기를 이용하여 12,000 rpm 에서 원심분리한 후 상등액을 0.45  $\mu$ m 여과지로 여과시킨 후 본 실험에 사용하였다.

### (2) RAW 264.7 cells 배양

마우스의 염증세포인 RAW 264.7 cells 를 American Type Culture Collection 에서 구입하여 배양하였다. 세포는 100-mm dish 에 10% fetal bovine serum (FBS) 이 포함된 Dulbecco's

modified Eagle's medium (DMEM) 을 이용하여 5% CO<sub>2</sub>, 95% air at 37°C incubator 에서 배양하였으며 2~3일에 한 번씩 계대 배양하였다.

### (3) Nitrite oxide (NO) 생성량 측정

대식세포를 96 well plate에 배양한 뒤 메틸색 추출물을 30분 전처리하고 lipopolysaccharide (LPS) 를 24 시간 처리한 세포 배양 상층액 50 uL 를 취하여 다른 96-well plate에 옮기고 같은 량의 Griess reagent 와 혼합하여 10분 후에 550 nm 에서의 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite 를 표준물질로 사용하여 배양액에 축적된 nitrite 의 양을 정량하였다.

### (4) 세포 독성 측정

세포의 생존율은 MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) assay 법을 사용하였다. 세포를 24 wells 에  $1 \times 10^5$  cells/mL 씩 분주하여 24시간 배양 시키고 실험조건에 따라 처리한 후 MTT (0.5 mg/mL) 와 1시간 반응시켰다. 이때 살아있는 세포의 미토콘드리아 dehydrogenases 에 의하여 기질인 MTT 를 분해하여 생성된 자주색 비수용성인 formazan 를 파장 540 nm 에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 측정한 formazan 생성 정도는 정상적인 세포의 값과 비교하여 백분율 (%) 로 표시하였다.

## 라. 메틸색기름채소 추출물에 의한 지방세포내 지방축적 저감 및 ROS(reactive oxygen species) 생성 억제능 평가

### (1) 재료

본 실험에 메틸은 봉평에서 2010년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MeJA 를 0.1mM 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다. 메틸새싹은 뿌리부분을 제외한 줄기이상의 부분을 절단한 후 -70°C 의 온도에서 동결한 후 동결건조기를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60mesh (850mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출 시료로 사용하였다.

### (2) 추출 및 시료조제

시료를 80% 에탄올 30 mL를 가한 다음, 20°C 의 shaking incubator 에서 3시간 추출한 후 10,000 xg 에서 15분간 원심 분리하여 분리된 상층액을 여과지 (Whatman No. 2) 를 사용

하여 감압 여과하여 동결 건조한 것을 DMSO (dimethyl sulfoxide) 에 녹인 후, 3T3-L1 세포 독성 및 지방세포 분화 실험에 사용하였다. 3T3~L1 세포배양 및 분화에 사용된 insulin, Oil Red O, Dexamethasone (DEX), 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) 은 Sigma (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 로부터 구입하였고, Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), bovine serum (BS), fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin (P/S), phosphate-buffered saline (PBS) 및 trypsin-EDTA 는 Gibco (Gaithersburg, MD, USA) 로부터 구입하여 사용하였다.

### (3) 3T3-L1 세포배양 및 분화

3T3-L1 지방세포 분화과정 중, 메틸싹기름채소 추출물에 의한 세포내 지방축적의 변화를 관찰하였다. 마우스 유래 3T3-L1 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, CL-173, Manassas, VA, USA) 으로부터 분양 받아 사용하였다. 3T3-L1 전구지방세포는 실험 목적에 따라 24-well 및 6-well 에 각각  $1 \times 10^6$  의 seeding 한 후, 고BS (10%) 및 P/S (1%) 를 함유한 고농도 포도당 DMEM (89%) 에서 100% confluence 될 때까지 배양하였다. 이로부터 2일 후에, 지방세포 분화유도 물질 (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  insulin, 1  $\mu\text{M}$  DEX, 0.5 mM IBMX) 과 FBS (10%) 및 P/S (10%) 를 함유한 DMEM 으로 전지방세포를 지방세포로 분화유도 하였다. 지방세포 분화 (day 0) 시 DMEM 에 시료를 각각 10, 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  로 처리하여 지방세포의 분화억제 효과 및 세포내 지방축적의 변화를 관찰하였다. 지방세포의 분화는 분화유도 물질을 처리한 후, 2일마다 지속적으로 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  insulin, 1% P/S, 10% FBS 가 함유된 배지에 각각의 시료를 처리한 후, 8일 동안 분화시키면서 지방축적량 및 ROS 의 생성량을 관찰하였다.

### (4) XTT assay를 이용한 세포독성평가

3T3-L1에 대한 시료의 세포독성평가는 XTT {2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide innersalt} assay kit 를 이용하여 측정하였다. XTT에 electron coupling agent 역할을 하는 PMS (phenazine methosulfate) 를 첨가하여 bioreduction 을 증가시키게 한 후, 세포에 XTT 와 PMS 를 첨가하여 살아있는 세포의 mitochondrial dehydrogenase 에 의한 XTT 의 tetrazolium ring 이 분해시켜 formazan crystal 을 형성하게 되면, formazan crystal 은 수용액에 녹아 노란색을 나타나게 된다. 이 노란색을 ELISA (VersaMax ELISA Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, USA) 로 측정하여 세포 독성 평가에 이용하였다. 즉 3T3-L1 세포는 실험전날  $1 \times 10^6$  cell 농도로 96-well plate 에 seeding 하고 시료 10, 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  를 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 그 후  $-20^\circ\text{C}$  에 보관중인 XTT 및 PMS reagent 를  $37^\circ\text{C}$  에서 완전히 해동시킨 후, 1 mL

의 XTT reagent 와 20  $\mu$ L PMS reagent 를 혼합하여 working solution 을 준비하여 놓고, pipet 을 이용하여 96-well medium 부피의 20% 되는 양 만큼 취하여 각각의 well 에 조심스럽게 첨가하여 plate 를 바닥에 붙인 상태로 진후좌우로 가볍게 흔들면서 혼합하였다. CO<sub>2</sub> incubator 에서 4시간 동안 배양한 후, ELISA 를 이용하여 450 nm 흡광도 값에서 690 nm 의 흡광도 값을 뺀 결과 값으로 세포독성을 계산하였다.

#### (5) Oil Red O staining을 이용한 지방축적량 관찰

분화과정에 따른 3T3-L1 세포내 지방축적량을 측정하고자 각각의 시료를 처리하여 24-well 에서 8일 동안 분화된 3T3-L1 세포의 배양액을 제거한 후, 10% formalin 용액 500  $\mu$  L 를 첨가하여 5분간 실온에서 방치하였다. 동량의 formalin 용액으로 분화된 3T3-L1 세포 1 시간 이상 실온에서 방치한 후, formalin 을 제거하고 60% isopropanol 용액 500  $\mu$ L 로 세척하여 세포를 완전히 건조시켰다. 완전히 건조된 세포들은 미리 제조해 둔 Oil red O working solution (Oil red O : DDW = 6 : 4) 으로 세포 내 축적된 지방성분들을 충분히 염색 한 후, 증류수를 이용하여 세포를 3~4회 세척하고 완전히 건조시켰다. 세포 내 축적된 지방성분과 결합한 Oil red O 는 100% isopropanol 을 이용하여 모두 용출 시킨 후, ELISA 를 이용하여 490 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

#### (6) NBT assay를 이용한 ROS 함량 측정

분화과정에 따른 지방세포의 ROS 생성량을 측정하기 위하여 먼저 24-well 에 배양 및 분화된 3T3-L1 세포의 배양액을 제거한 후 멸균된 PBS (Phosphate buffer saline, pH 7.4) 를 이용하여 2회 세척, 0.2% NBT 용액 0.2 mL 를 첨가하여 CO<sub>2</sub> incubator안에서 90분간 반응시켰다. 지방세포 내에 축적된 ROS들은 NBT 용액과 반응하여 dark blue formazan 을 생성하게 되며, 100% acetic acid 를 이용하여 이들 dark blue formazan 을 모두 용출 시켜 570 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

#### (7) 주요 유전자의 발현 조사

지방세포에서 분화 및 지방축적에 관여하는 주요 유전자들의 변화를 검토하기 위하여 지방세포에 존재하는 total RNA 를 추출한 후, 역전사중합효소 (reverse transcriptase) 를 사용하여 cDNA 를 만들었다. 합성된 cDNA 와 각각의 유전자별 primer 를 RT-PCR 로 증폭한 후 유전자의 발현정도를 측정하였다.

(8) Total RNA의 추출 및 cDNA의 합성

지방세포로부터 total RNA의 추출은 TRIzol reagent (phenol + guanidine isothiocyanate) 방법을 이용하였다. 분화 8일째 되는 지방세포에 PBS 를 이용하여 2회 세척하고 1 mL 의 Trizol 을 첨가하여 세포들을 수확하였다. 1 mL 의 TRIzol reagent 당 0.2 mL 의 chloroform 을 넣고 15초간 잘 흔들어 준 후 실온에서 2~3분간 반응시키고 15,000 rpm 에서 10분간 원심 분리한 후 상등액을 걷어내어 다른 튜브에 옮기고 isopropyl alcohol (최초에 사용된 TRIzol 1 mL당 0.5 mL) 을 넣고 10분간 반응시켜 RNA 를 침전시켰다. 침전된 RNA 에 75% DEPC-ethanol 로 씻어준 후 (최초에 사용된 TRIzol 1 mL당 1 mL) 11,000 rpm 에서 약 5분 간 원심분리 하고 실온에서 pellet 을 5~10분간 건조시킨 다음 DEPC water 40 µL 에 녹여서 spectrophotometer (260 nm) 로 O.D.값을 측정하여 total RNA 의 농도를 정량하였다. cDNA Premix (Maxime RT Premix (oligo dT primer), Seongnam, South Korea) 에 동일한 농도의 total RNA 를 각각 5 µg 씩 넣고 전체 용량이 20 µL 이 되도록 DEPC-water 를 첨가한 후, 45°C 에서 60분간, 95°C 에서 5분간 처리하여 cDNA 를 합성하였다.

(9) Semi-quantitative RT-PCR

Table 3. Primer sequences for semi-quantitative RT-PCR analysis

Primers	Sequences	
	Forward	Reverse
GAPDH	CAAGGTCATCCATGACAACCTTIG	GGCCATCCACAGTCTTCTGG
CEBPα	GCAGTGTGCACGICTATGCT	AGCCCACTTCATTTTCATTTGG
aP2	GACCTGGAAACTCGICTCCA	CATGACACATTTCCACCACCA
NOX4 (NADPH Oxidase4)	GAAGCCCATTTGAGGAGTCA	GGGTCCACAGCAGAAAACTC
G6PDH	CGATGGCAGAGCAGGT	GATCTGGTCTCTCAG
Cu/Zn-SOD	CAGCATGGGTTCACGTCCA	CACATTTGGCCACACCGTCT
Mn-SOD	GGGTGGCTTGGTTTCAATAAGGAA	AGGTAGTAAGCGTGTCCACACAT
GPx (glutathione peroxidase)	CTCGGTTCCTCGTGAATCAG	GTCAGCCAGTAATCACCAAG
Catalase	TCTGCAGATACCTGTGAACTG	TAGTCAGGGTGGACGTCAGTG

cDNA 와 지방세포 분화와 관련된 주요 유전자 (Table 3) 의 primer 들을 각각 혼합한 후, RT-PCR Amplification mixture 를 혼합하여 total volume 이 20  $\mu$ L 이 되도록 하여, denaturation, annealing, polymerization 단계를 약 30~35회 반복하면서 원하는 DNA 부분이 증폭하였다. 이때 annealing 온도는 primer 에 따라 각각 적정온도로 처리하였다. RT-PCR 산물을 확인하기 위하여 5  $\mu$ L 을 취하여 1.5% 한천 (agarose) gel 에서 전기영동한 후, EtBr (ethidiumbromide) 로 염색하여 자외선투시기 (transilluminator) 를 이용하여 증폭된 DNA band 를 확인 하였다. DNA band 는 image J program 을 이용하여 band intensity 로 수치화 하여 나타내었다.

#### (10) 통계분석

모든 실험결과는 SAS package (release 8.01)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 수행하였고 평균값의 통계적 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 검정하였다.

### 마. 식물방어기작을 적용한 메밀씨기름채소의 *In vivo* 고지혈증 개선 효과 측정

#### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2010년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자를 세척 후 5배수의 물에 침지 후 25°C 의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7일간 18°C 의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀씨기름채소가 발아하기 시작하면 MeJA 처리구는 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 스프레이로 분주하여 처리하였으며, MeJA, 염화물 및 light 병행처리구는 MeJA 처리 시 NaCl 10 mM 100 mL 와 light 를 4시간동안 처리하여 발아 후 5일째 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시 -70°C 의 온도에서 동결하였으며, 동결된 메밀새싹은 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh 표준망 (850  $\mu$ m<sup>2</sup>)에 통과시켜 시료로 사용하였다.

#### (2) 실험동물

실험동물은 5주령의 Sprague-Dawley 계 숫쥐 48마리를 두열 바이오텍으로부터 분양받아 사육용 steel cage 에 1마리씩 사육하였으며, 쥐 사육용 고품사료로 1주일간 예비 사육하였고 모든 실험군들의 체중이 일정하도록 고려한 후 실험군을 8마리씩 6군으로 나누었다. 사육기간

동안 사육실 온도는  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  로 일정하게 유지하고 12시간 주기로 명암을 자동조절 하였으며, 사육 전 기간 동안에 사료와 물은 자유섭취 방법으로 급식하였고, 사료 섭취량은 매일 오전 10 시에, 체중은 1주일 간격으로 측정하였다.

### (3) 실험식이

1주일간의 예비사육 기간 동안 실험 식이는 고품 쥐 사료를 섭취시켰다. 본 실험의 실험군은 정상대조군 (Normal control, NC), 고지방대조군 (High fat control, HFC), 메밀싹대조군 (Buckwheat sprouts control: SC), 메밀싹 MJ군 (Buckwheat sprouts MJ: SMJ), 메밀싹 MeJA+NaCl+Light군 (Buckwheat sprouts MJ+NaCl+Light: SMNL), 메밀싹 MJ 추출물군 (Buckwheat sprouts MJ extracts: SME) 군으로 나누어 4주간 섭취시켰다. 본 실험기간에 사용한 식이는 **Table 4**와 같이 제조하였다. 즉, 정상대조군은 옥수수기름 10%를 함유하며, 고지방대조군은 옥수수기름 10%, 돼지기름 10%, 콜레스테롤 1%, sodium cholate 0.25%를 함유하는 식이에 제조하였다. 메밀싹 대조군, 메밀싹 MJ 군, 메밀싹 MeJA+NaCl+Light 군은 고지방 식이에 생육조건을 달리한 각각의 메밀싹 5%를 첨가하였고, 메밀싹 MJ 추출물군은 고지방 식이에 1.3% 첨가하였다.

### (4) 분변의 수집, 채혈, 장기무게 측정

Table 4. Composition (%) of experimental diet

	NC	HFC	SC	SMJ	SMNL	SE
Casein	20	20	20	20	20	20
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Sucrose	10	10	10	10	10	10
Corn starch	50	38.75	38.75	38.75	38.75	38.75
Cellulose	5	5	5	5	5	5
Corn oil	10	10	10	10	10	10
Lard	-	10	10	10	10	10
Cholesterol	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Sodium cholate	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Mineral mix <sup>1)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mix <sup>2)</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline bitatrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
BS <sup>3)</sup> Control	-	-	5.0	-	-	-
BS MJ	-	-	-	5.0	-	-
BS MeJA+NaCl+Light	-	-	-	-	5.0	-
BS MJ extract	-	-	-	-	-	1.3

<sup>1)</sup>AIN Vitamin mixture (g/kg mix). <sup>2)</sup>AIN-76 Mineral mix (g/kg mix). <sup>3)</sup>BS : Buckwheat sprouts.



실험기간이 끝나기 3일 전부터 하루에 배설되는 분변을 3일간 수집한 후 이물질을 제거하고 무게를 측정된 후 동결 건조하여 분석시료로 사용하였다. 실험쥐의 사육기간이 끝나기 전 12시간 공복시킨 후 에틸에테르로 마취시킨 다음 5 mL 주사위를 이용하여 복부대동맥에서 채혈한 후 원심분리 시험관에 조심스럽게 가하여 뚜껑을 닫고 2~3회 가볍게 기울여 잘 섞이도록 하였다. 혈액은 3,000 rpm (4°C) 에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 분리하고 분석 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다. 또한 간장, 비장, 신장은 전체를 적출하였고 부고환지방과 등지방은 왼쪽부분만 떼어내어 식염수에 헹군 다음 거름종이에서 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다. 간장은 먼저 생리식염수로 혈액을 제거한 후 물기를 제거하고 간장의 총무게를 측정하였다.

#### (5) 혈액성분 측정

혈액의 총 단백질, 알부민, BUN (blood urea nitrogen), creatinine, GOT, GPT, 당질, 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 유리지방산은 아산제약의 kit로 측정하였으며, 유리콜레스테롤은 효소비색법을 이용한 Wako사 kit 시약을 이용하여 측정하였다. 또한 총콜레스테롤에서 유리 콜레스테롤을 뺀 값으로 cholesteryl ester를 구하였으며 분석된 혈중 지질 수치를 이용하여 Cholesteryl ester/Free cholesterol 비율, LDL-콜레스테롤 농도 (Friedewald 등 1972) 및 동맥경화지수 (atherogenic index, AI)를 구하였다.

#### (6) 간장 및 분변의 성분 측정

간장과 분변의 총 지질 함량은 클로로포름:메탄올 (2:1, v/v) 용액을 이용하여 지질을 추출한 후 용매를 날려 보내고 지질의 무게를 측정하여 구하였다. 추출한 간장과 분변의 지질은 일정량의 클로로포름에 녹여 튜브에 넣고 뚜껑을 닫은 후 중성지질과 콜레스테롤 함량 분석 전까지 냉동·저장하였다. 중성지질 및 총콜레스테롤은 혈액 측정 시 사용한 것과 동일한 kit 시약 (아산제약)으로 각각 측정하였다. 변에서의 고형분 함량은 동결건조한 후 무게를 측정하여 구하였다.

#### (7) 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계처리는 SAS computer program을 이용하여 실험군별로 평균과 표준편차를 구하였고, 각 실험군들 간의 유의성을 확인하기 위하여 ANOVA에 의해  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test를 행하여 실험군 사이의 평균의 차이에 대한 통계적 유의성을 검증하였다.

## 바. UPLC-Q-TOF MS를 이용한 메틸 짝 처리 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석

### (1) 재료 및 시료 전처리

재료는 3. 마.의 실험에서 채혈된 혈청단백질을 사용하였다. 혈청단백질은 cold acetonitrile로 침전시킨 후 원심분리하여 제거하고 상등액은 동결건조한 후 external standard를 함유하고 있는 20% 메탄올로 녹여 UPLC-Q-TOF MS를 이용한 대사체 분석 시료로 사용하였다.

### (2) UPLC-Q-TOF MS를 이용한 혈청 대사체 분석

혈청 대사체를 분석하기 위하여 ultra performance liquid chromatography (UPLC)-quadrupole-time of flight (Q-TOF)를 사용하였다. UPLC에 장착된 ACQUITY UPLC BHE C<sub>18</sub> column (1.7  $\mu$ M, 2.1 $\times$ 100 mm)을 0.1% formic acid를 함유한 LC/MS용 distilled water로 equilibration시킨 후 시료 5  $\mu$ L를 주입하였다. 시료의 elution은 0.1% formic acid를 함유한 acetonitrile를 fellow rate 0.3 mL/min으로 초기 0.5%에서 90%까지 18분간 점차적으로 증가시켜 주면서 진행하였다. 분리된 eluent는 Q-TOF를 이용하여 mass spectrum를 측정하였다. Q-TOF는 ES-positive 조건에서 분석하였으며 capillary와 sample cone voltage는 각각 3.0과 30 kV이고 source 온도와 desolvation 온도는 각각 110도, 300도이며, desolvation과 cone 속도는 각각 700 L/h와 50 L/h 조건에서 수행하였다. precursor 분석을 위한 collision cell energy는 4 V를 사용하였으며 물질 동정시에는 collision cell energy를 10 V에서 30 V로 올리면서 사용하였으며 200 pmole leucine을 lack mass로 사용하였다. 물질의 동정은 elemental composition으로 물질을 1차 screening 한 후 online database ([www.chemsider.com](http://www.chemsider.com))와 Waters사의 mass fragmentation software를 이용하여 2차 screening 하였다.

### (3) Data analysis

혈청의 대사체 profiles은 MarkerLynx (Waters, Milford, MA, USA) 에 의하여 alignment 하였고 external standard 를 이용하여 normalization 하였다. 보정이 끝난 data 는 시료간의 차이와 그 차이에 관여하는 물질들을 동정하기 위하여 SIMCA-P<sup>+</sup>software version 12.0.1 (Umetrics,Umeå,Sweden) 를 이용하여 다변량통계분석을 실시하였다. Partial least-squares discriminant analysis (PLS-DA) 를 사용하였고, Hotelling's T<sup>2</sup> test 는 그룹들 사이의 차이를 통계적으로 분석하기 위하여 사용하였으며 99% 신뢰구간을 벗어나는 outing 시료들은 차후 분석과정에서 제외시켰다. PLS-DA의 quality 는 3개의 parameters: R<sup>2</sup>X, R<sup>2</sup>Y, Q<sup>2</sup>Y 를 이용하여 평가하였다. R<sup>2</sup> 는 model 이 잘 그려졌는지를 보는 것이며 Q<sup>2</sup> 값은 예측할 수 있는 능력을 보여주는 것으로 사용된다. Model 의 overfit 여부를 확인하기 위하여 7-fold validation 이 사용되었으며 model 의 신뢰는 permutation test (n=200) 를 통하여 확인하였다. 대사체들의 mass intensities 는 SPSS (2003; SPSS Inc., Shicago, IL) 의 analysis of variance (ANOVA) 와 Ducan 을 이용하여 분석되었다.

## 제 2 절 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 싹기름채소의 단위 공정별 기술개발

### 1. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 및 발아 중 관수처리 조건 설정

#### 가. 싹기름채소의 위생적인 종자 처리 조건 설정

##### (1) 재료 및 처리 조건

○ 종자는 2008년 11월에 에드팜 영농조합에서 구입한 것으로 강원도 평창 산이며, 평균발아율이 80% 이상인 것 중 외관이 건전한 것만을 선별하여 사용하였다.

○ 처리 조건: 이산화염소수 처리는 종자 10 g에 9배수를 첨가하여 상온에서 침지하였으며, 열수처리는 항온수조 (VS-1205SW1, Vision scientific Co., Korea) 을 이용하여 각각의 실험조건으로 침지하였다. 이산화염소수와 열처리의 혼합처리에는 이산화염소수를 항온수조에서 실험온도로 설정한 후 각각의 처리 조건으로 침지하였다.

○ 이산화염소수의 처리는 50, 100, 200 ppm 의 농도로 조절한 후 각각 5, 10, 20분간 침지하였으며 열처리의 조건은 45, 50, 55°C 의 온도로 조절한 후 5, 10, 20분간 침지 처리하였다.

##### (2) 결과 및 고찰

##### (가) 염소수 처리

염소수의 농도 및 침지시간에 따른 종자의 미생물 제어효과는 **Fig. 2** 에 나타내었다. 총균은 대조구인 물로 세척한 경우가 약 4.42 log CFU/g 으로서 무 처리구의 약 4.34 log CFU/g 와 유사한 값을 나타내었다. 종자를 염소수로 처리 한 직후 총 균을 측정된 결과 침지 농도에 대한 영향은 크게 나타나지 않았으나 침지 시간에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 염소수 200 ppm 의 농도에서 20분간 처리한 경우 약 3.61 log CFU/g 으로서 대조구에 비하여 약 1 log cycle 의 감소효과를 나타내었으며 100 ppm 에서 20분간 처리한 구는 약 3.77 log CFU/g 으로서 200 ppm 과 유사한 결과를 나타내었다.

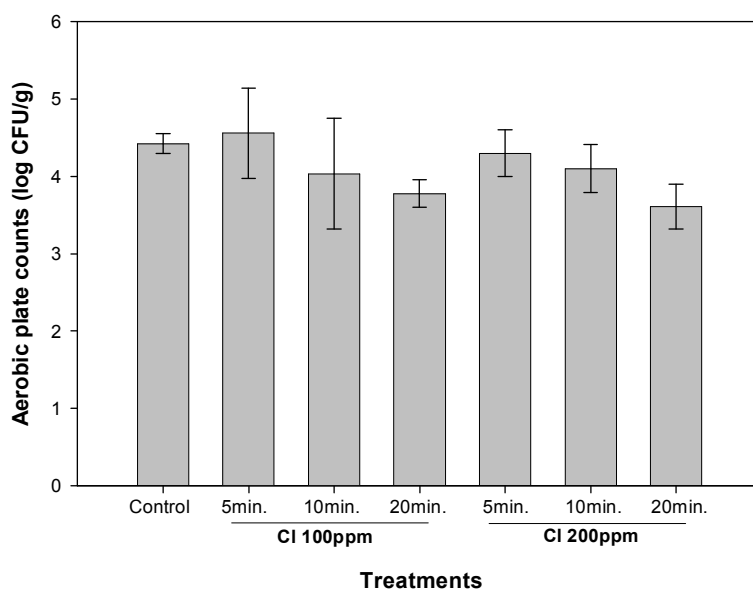


Fig. 2. Effect of different time/chlorinated water concentration regimes on the populations of microbial load on seeds.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

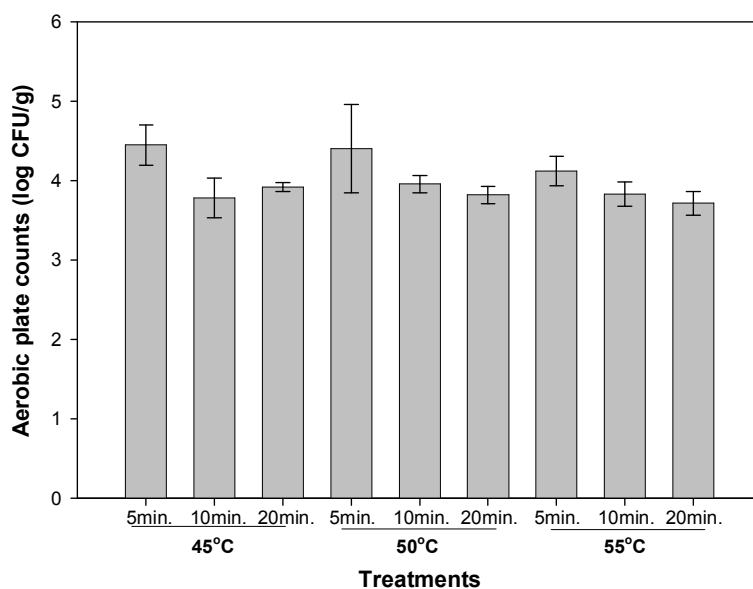


Fig. 3. Effect of different time/temperature regimes on the populations of microbial load on seeds. All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(나) 이산화염소수 처리

종자를 이산화염소수로 처리 한 후 총 균을 측정 한 결과 침지시간의 증가에 따라 균수의 감소하는 경향을 나타내었다 (Fig. 3). 침지시간에 따른 총 균의 제어효과는 침지시간 5분에서 200 ppm 처리구가 약 4.03 log CFU/g 으로 낮은 제어효과를 보였으나, 침지시간 10분 이상에서는 모든 처리구의 균수가 1 log cycle 이상 감소하는 경향을 나타내어 이산화염소수 50, 100, 200 ppm 에서 각각 약 3.54, 3.36, 3.53 log CFU/g 을 나타내었다. 이산화염소수 처리에 의해 100 ppm/20분, 200 ppm/20분 처리구가 각각 약 3.26 log CFU/g, 약 3.33 log CFU/g 로 나타나 전반적으로 이산화염소수의 처리효과는 염소수의 처리 효과보다 우수한 것으로 나타났다.

(다) 열수처리

종자를 45~55°C 범위에서 열수처리한 후 총 균을 측정 한 결과는 Fig. 4 에 나타내었다. 처리 범위의 온도에서 5분간 침지한 경우 대조구와 유사한 총 균수를 나타내어 55°C/5분 처리구가 약 4.12 log CFU/g 을 나타내었으며, 10분 이상의 처리구에서는 총 균수의 감소를 나타내어 55°C/20분 처리구가 약 3.72 log CFU/g 을 나타내었으나 총 균수의 감소는 1 log cycle 을 넘지 못하였다.

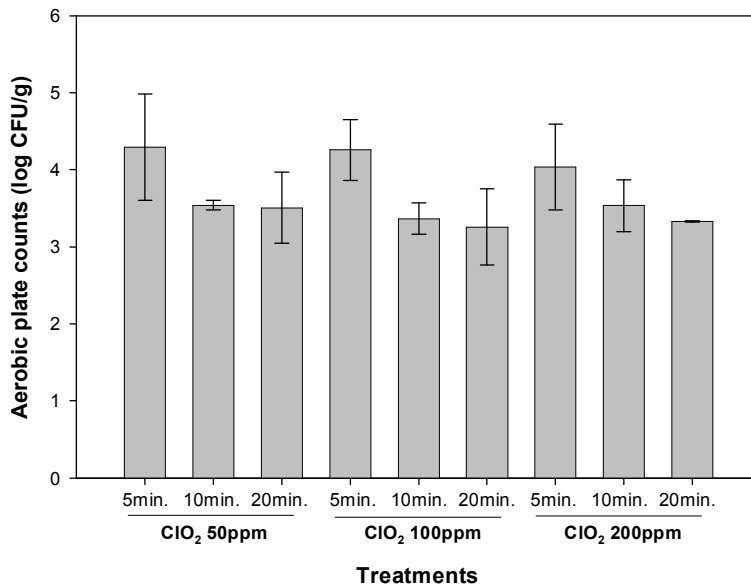


Fig. 4. Effect of different time/aqueous chlorine dioxide concentration regimes on the populations of microbial load on seeds.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(라) 복합처리

이산화염소수와 열수처리의 복합조건에 의한 총 균수의 제어효과는 Fig. 5에 나타내었다. 종자의 이산화염소수와 열수처리의 복합처리는 단독처리에 비하여 총 호기성 세균수의 제어효과가 우수한 것으로 나타났으며, 이산화염소수 100 ppm 과의 복합처리가 50 ppm 과의 복합처리에 비하여 상대적으로 우수한 제어효과를 나타내었다. 특히, 이산화염소수 100 ppm 농도에 서는 대조구에 비하여 약 2 log cycle 의 총 균수의 감소효과를 나타내었으며, 50 ppm 농도에 서는 온도와 시간이 증가할수록 총 균수의 감소효과가 높아 50 ppm/45°C/5min 처리에서 약 3.62 log CFU/g 로 대조구에 비하여 1 log cycle 이상을 감소시키는 것으로 나타났다. 또한, 50 ppm/50°C/10min 처리구와 100 ppm/50°C/10min 처리구는 각각 약 2.73 log CFU/g, 약 2.45 log CFU/g 로 대조구에 비하여 각각 약 39 및 45% 의 감균 효과를 나타내었다 (Table 5).

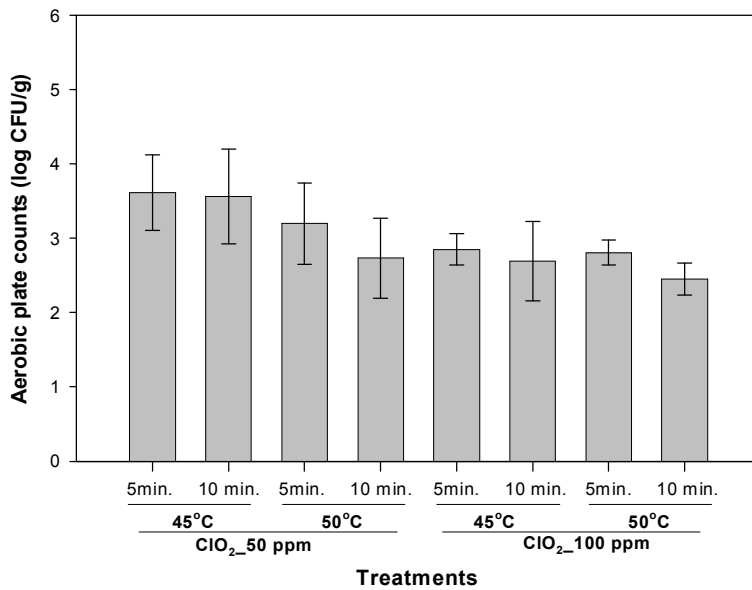


Fig. 5. Effect of time/temperature/aqueous chlorine dioxide concentration regimes on the populations of microbial load on seeds.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations.

Table 5. Effect on combined treatment of aqueous chlorine dioxide and hot water on aerobic counts (log CFU/g) and germination rate in seeds

Treatment		Treatment time (min)	Aerobic counts (log CFU/g) <sup>1)</sup> after treatment	Germination (%) <sup>2)</sup>
Chlorine water (ppm)	Hot water(°C)			
50	45	5	3.62 ± 0.51 <sup>a3)</sup>	98.25 ± 2.47 <sup>a</sup>
		10	3.56 ± 0.64 <sup>a</sup>	98.96 ± 1.47 <sup>a</sup>
	50	5	3.20 ± 0.55 <sup>a</sup>	97.08 ± 0.92 <sup>a</sup>
		10	2.73 ± 0.54 <sup>a</sup>	97.40 ± 0.74 <sup>a</sup>
100	45	5	2.85 ± 0.21 <sup>a</sup>	97.72 ± 1.57 <sup>a</sup>
		10	2.69 ± 0.53 <sup>a</sup>	97.37 ± 1.99 <sup>a</sup>
	50	5	2.81 ± 0.17 <sup>a</sup>	98.81 ± 1.68 <sup>a</sup>
		10	2.45 ± 0.21 <sup>a</sup>	97.09 ± 0.82 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Percent of seeds capable of germination after treatments.

<sup>3)</sup>Values in the column sharing a common letter are not significantly different (p<0.05).

(마) 염소수 처리에 따른 발아율

종자의 염소수 처리에 따른 발아율의 변화를 조사한 결과는 **Fig. 6** 에 나타내었다. 종자를 증류수로 처리한 직후의 발아율은 약 94.78% 수준이었으나 염소수를 처리한 후 발아율이 약 91.61~95.92%를 나타내어 염소수 처리에 따른 발아율의 변화를 보이지 않았다.

(바) 이산화염소수 처리에 따른 발아율

이산화염소수 50~200 ppm 농도 범위에서 발아율은 약 92.21~96.36% 범위로서 대조구와 유사한 값을 나타내어 (**Fig. 7**), 염소수와 이산화염소수의 처리에 의한 발아율의 감소효과 및 증가 효과는 나타나지 않았다. 일반적으로 종자의 휴면타파와 발아촉진을 위해 이용되고 있는 화학물질들은 종자내부에 수분흡수를 가속화하여 단백질의 수화 및 침윤작용을 촉진시키고 효소활력을 증대시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있어, 저선량 방사선, 자기장 및 온도처리 등과 같은 물리적 처리는 휴면타파, 발아율 증가, 발아촉진 및 생육 촉진 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.

(사) 열수처리에 따른 발아율

화학적 처리와는 달리 45~50℃ 열수처리 후 발아율은 약 93.65~97.08% 로 나타나 대조구에 비하여 다소 증가하는 경향을 보였다 (**Fig. 8**). 반면, 55℃ 열수처리의 경우 발아율이 시간의 증가에 의해서 감소하는 경향을 보여 55℃/20분 처리 시 약 84.96% 로서 대조구에 비하여 약 10%의 감소를 나타내었다.

(아) 복합처리에 따른 발아율

이산화염소수와 열처리의 복합처리에 의한 발아율은 약 97.07~98.95% 로서 대조구에 비하여 발아율이 다소 증가하는 경향을 나타내었다 (**Fig. 9**).



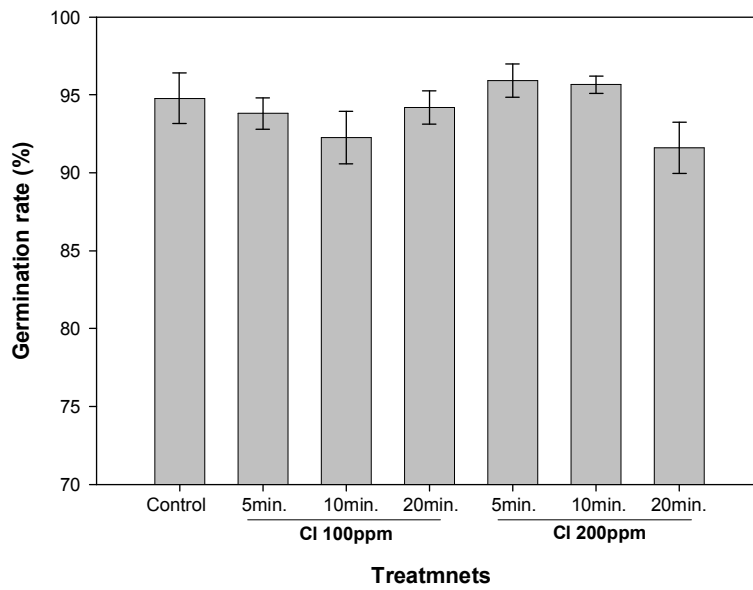


Fig. 6. Effect of different time/chlorinated water concentration regimes on the germination rate of seeds.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

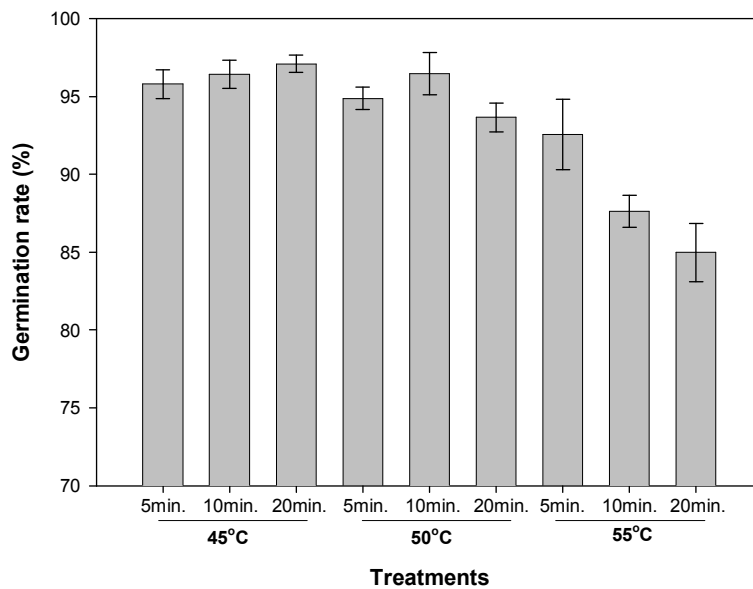


Fig. 7. Effect of different time/temperature regimes on the germination rate of seeds.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

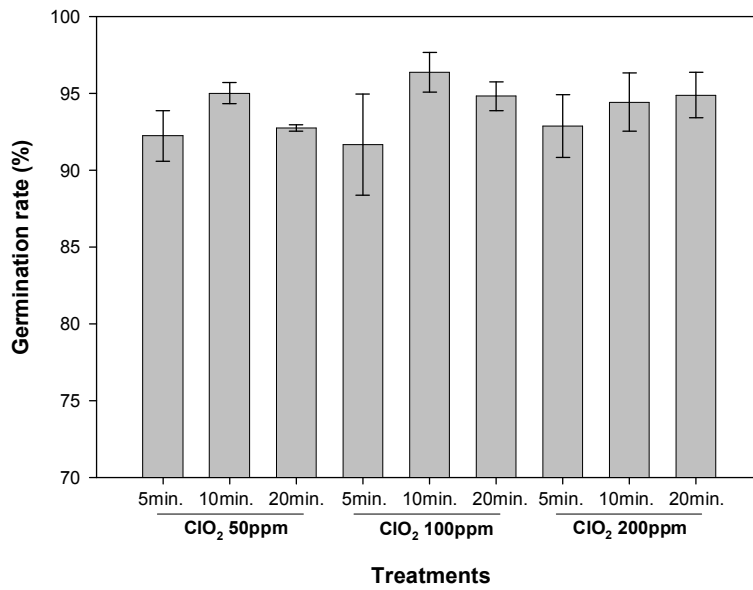


Fig. 8. Effect of different time/aqueous chlorine dioxide concentration regimes on the germination rate of seeds.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

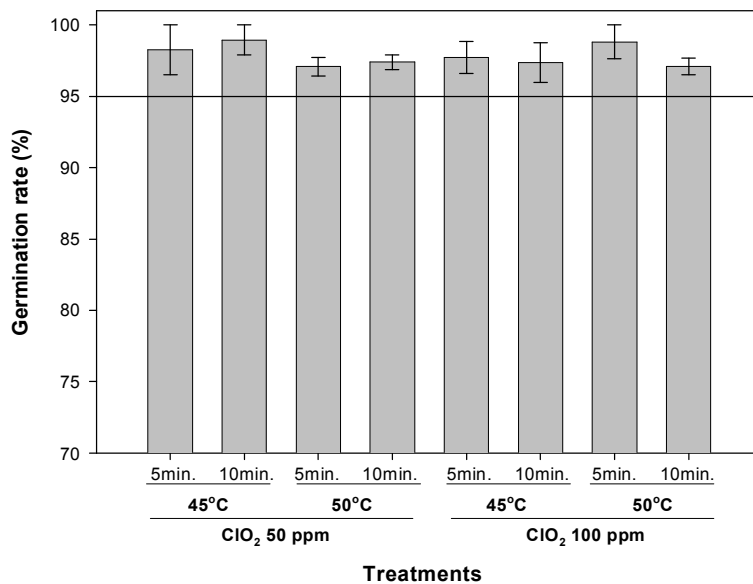


Fig. 9. Effect of time/temperature/aqueous chlorine dioxide concentration regimes on the germination rate of seeds.

The line indicates the 95% germination rate. All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

## 나. 싹기름 채소의 발아 중 관수처리 조건 설정

### (1) 재료 및 처리조건

균주를 인위적으로 오염시킨 종자는 새싹채소 재배용 용기에 담아 25℃의 식물생장기 (HB-303DH, Hanbaek Sci. Co., Seoul, Korea)에서 1일 2회 10분간 처리수를 분무하여 4일간 성장시켰다. 대조구로서는 증류수를 사용하였으며, 처리수는 이산화염소수 200 ppm, citric acid 2.0% 및 glycerin 0.5%을 사용하였다. 이산화염소수, citric acid 및 glycerin 처리가 종자의 *Salmonella typhimurium* 감소에 미치는 영향을 알아보았다. 실험에 사용된 *S. typhimurium*이 인위적으로 오염된 종자의 초기 균수는 약 7 log CFU/g로 설정하였다.

### (2) 이산화염소수 처리

이산화염소수 처리에 의한 *S. typhimurium*의 균수 변화는 Fig. 10에 나타내었다. *S. typhimurium*의 균수는 증류수로 세척한 경우가 약 7.32 log CFU/g으로서 무처리구의 약 7.88 log CFU/g보다 약 0.5 log CFU/g 감소하는 것으로 나타났다. 종자를 이산화염소수로 처리한 직 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과 이산화염소수 50~200 ppm의 농도범위에서 무처리구에 비하여 약 0.55~1.08 log CFU/g의 감소 범위를 나타내었으며, 이산화염소수 100 ppm 이상의 농도에서 유의적인 차이를 나타내었다.

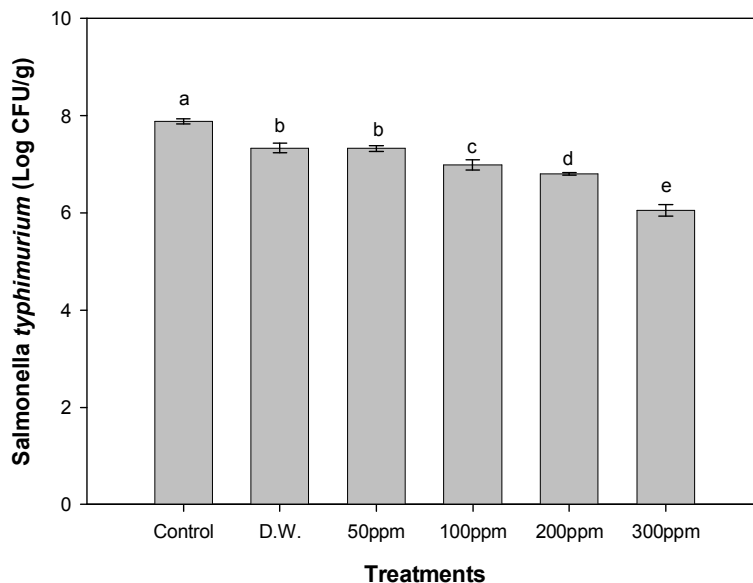


Fig. 10. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated seeds after treatment with aqueous  $\text{ClO}_2$  of various concentrations.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatments were as follows: aqueous  $\text{ClO}_2$  (10 min). Values not preceded by the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### (3) Citric acid 처리

Fig. 11 은 citric acid의 처리에 의한 *S. typhimurium*의 균수변화에 대하여 나타내었다. 종자를 0.5~5.0% 처리농도에서 citric acid를 처리한 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과, 처리 범위의 농도에서 10분간 침지한 경우 대조구와 모든 처리구에서 유의적인 차이를 나타내었고, 그 감소범위 또한 약 1.60~4.17 log CFU/g의 효과를 나타내었다. 처리농도 5.0%에서 약 4.17 log CFU/g의 감소로 가장 우수한 효과를 나타내었으나, 5.0%의 농도에서 처리한 무 종자의 발아율이 50% 이하로 감소하여 사용농도로서는 부적절한 것으로 판단된다. Citric acid 2.0% 처리농도에서는 *S. typhimurium*이 약 2.89 log CFU/g가 감소하여 이산화염소수 200 ppm 처리보다 우수한 결과를 나타내었다.

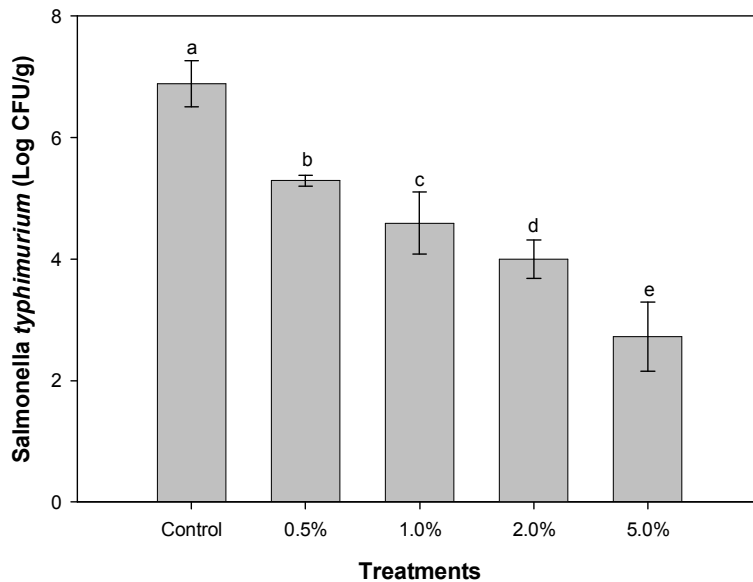


Fig. 11. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated seeds after treatment with citric acid of various concentrations.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatments were as follows: citric acid (10min). Values not preceded by the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### (4) Glycerin 처리

*S. typhimurium*로 인위적으로 오염시킨 종자를 0.1~0.5% 처리농도에서 glycerin으로 세척한 후 *S. typhimurium*의 균수를 측정된 결과 (Fig. 12), 0.1~0.5%의 처리농도에서 대조구와 glycerin 단독 처리구간의 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 0.5% 농도에서 유의적인 차이를 나타내었다. glycerin 0.5%와 이산화염소수 및 citric acid와의 병행처리에서 glycerin

0.5% 로 10분간 처리 후 citric acid 2.0% 을 10분 간 처리한 구가 대조구에 비하여 약 3.46 log CFU/g 가 감소하였으며, glycerin 0.5%/이산화염소수 200 ppm 처리구가 대조구에 비하여 약 2.13 log CFU/g 감소하는 것으로 나타나 병행 처리가 단독 처리에 비하여 우수한 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

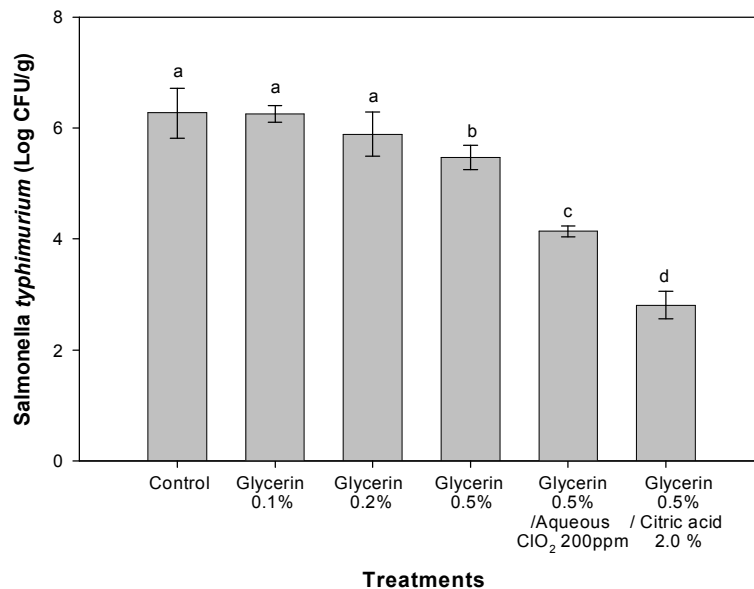


Fig. 12. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated seeds after treatment with glycerin, citric acid and aqueous ClO<sub>2</sub>.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations. Treatments were as follows: glycerin (10min); citric acid (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (10 min). Values not preceded by the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(5) 이산화염소수와 citric acid의 병행처리

이산화염소수와 citric acid의 병행처리에 의한 *S. typhimurium* 균수의 감소효과를 측정된 결과는 Fig. 13 에 나타내었다. 병행처리 조건으로 이산화염소수는 200 ppm 을 사용하였으며, citric acid는 1.0% 와 2.0% 로 처리하였다. 이산화염소수와 citric acid의 병행처리 조건에서 *S. typhimurium* 균수는 약 1.35~2.12 log CFU/g 의 감소를 나타내었다. 그 중 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm 처리 시 약 3.82 log CFU/g 으로 가장 우수한 효과를 나타내어, 이산화염소수 단독처리보다 약 1 log cycle 이상 감소효과를 보였으나 citric acid 단독처리와 유사하거나 낮은 효과를 나타내었다.

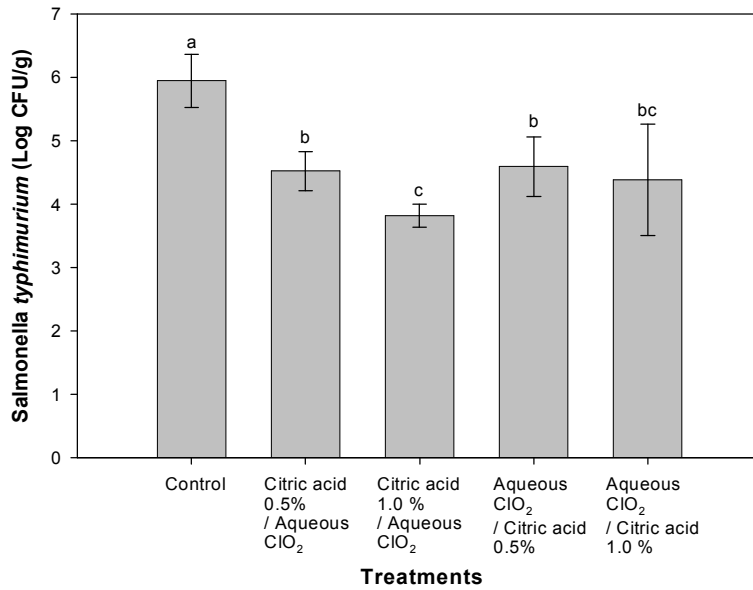


Fig. 13. Reduction of *Salmonella typhimurium* recovered from inoculated seeds after treatment with citric acid and aqueous ClO<sub>2</sub>.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations. Treatments were as follows: citric acid (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (200 ppm for 10 min). Values not preceded by the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

(6) 이산화염소수, citric acid 및 glycerin 관수처리

이산화염소수, citric acid 및 glycerin 관수처리가 새싹채소의 *Salmonella typhimurium* 의 감소에 미치는 영향을 알아보았다. *Salmonella typhimurium* 을 인위적으로 오염시킨 종자를 종자세척 및 관수로서 이산화염소수, citric acid 및 glycerin을 관수로 재배한 새싹채소의 *S. typhimurium* 균수를 처리구에 따라 비교하였다 (Table 6). 새싹을 다양한 살균수를 종자소독 및 관수로서 이용하여 재배한 조건에서 *S. typhimurium* 균수가 약 7.50~8.18 log CFU/g 로 나타났다. 새싹을 증류수로 재배한 경우 *S. typhimurium* 균수가 약 8.18 log CFU/g 로 나타났 으며, 가장 효과가 우수한 구인 이산화염소로 종자세척 후 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm 을 관수로 재배한 경우가 대조구에 비하여 약 1 log cycle 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 새싹의 *S. typhimurium* 균수는 종자소독에 사용된 처리수보다 관수로 사용된 처리수에 더 큰 영향을 받는 것으로 나타나, 관수로서 증류수를 사용한 구와 관수로서 citric acid 2.0%/이산화염소수 200 ppm을 처리한 구와의 유의적인 차이를 나타내었다.

Table 6. Detection of *Salmonella typhimurium* in association with sprouts grown from seeds with different sanitizer

Washing treatment <sup>1)2)</sup>	Irrigation treatment <sup>3)</sup>	Population on sprouts <sup>4)5)</sup>
Distilled water	Distilled water	8.18 <sup>a6)</sup> ± 0.08
	Citric acid 2%/Aqueous ClO <sub>2</sub> 200 ppm	7.34 <sup>b</sup> ± 0.15
Aqueous ClO <sub>2</sub> 200 ppm	Distilled water	8.33 <sup>a</sup> ± 0.05
	Citric acid 2%/Aqueous ClO <sub>2</sub> 200 ppm	7.50 <sup>b</sup> ± 0.09
Glycerin 0.5%/ Citric acid 2%	Distilled water	8.67 <sup>a</sup> ± 0.08
	Citric acid 2%/Aqueous ClO <sub>2</sub> 200 ppm	7.92 <sup>b</sup> ± 0.18

<sup>1)</sup>Washing treatment: inoculated seeds were treated with different sanitizer and treated with distilled water.

<sup>2)</sup>Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).

<sup>3)</sup>Irrigation treatment: were treated with different sanitizer and treated with distilled water during sprout growth.

<sup>4)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>5)</sup>Values expressed as log CFU/g.

<sup>6)</sup>Values not preceded by the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## 2. 메밀싹기름채소의 기능성 증진을 위한 적정 elicitor 처리 효과

### 가. 기능수 처리에 따른 메밀싹채소의 기능성 증진 효과

#### (1) 시료 처리

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 기능수 (이산화염소수 200 ppm, citric acid 2.0% 및 glycerin 0.5%) 를 사용하여 재배하였다. 처리구는 Control: Distilled water 처리구, A: Distilled water → Citric acid 2.0% / 이산화염소수 200 ppm, B: 이산화염소수 200 ppm → Citric acid 2.0% / 이산화염소수 200 ppm, C: glycerin 0.5% / citric acid 2.0% → Citric acid 2% / 이산화염소수 200 ppm 처리구로 구분하였다.

(2)  $\alpha$ -Amylase 저해활성

$\alpha$ -Amylase 저해제는 소장에서 전분의 소화를 저해하여 포도당의 흡수를 지연시킴으로써 혈당 조절 목적으로 이용된다.  $\alpha$ -Amylase 저해활성은 식물의 폴리페놀 성분 중 특히 탄닌과 proanthocyanidins 에 더 민감하다고 보고되었다. 따라서 본 연구에서는 기능수를 관수로서 작용하였을 때 나타날 수 있는  $\alpha$ -amylase 저해활성의 변화를 평가하고 이를 이용하기 위하여 관찰한 결과 **Fig. 14** 에서와 같이 대조구 (Control) 에 비하여 저해활성이 모두 증가하는 것으로 나타났으며, 그 중 B 처리구가 최대 100% 이상의 활성증가를 나타내었다.

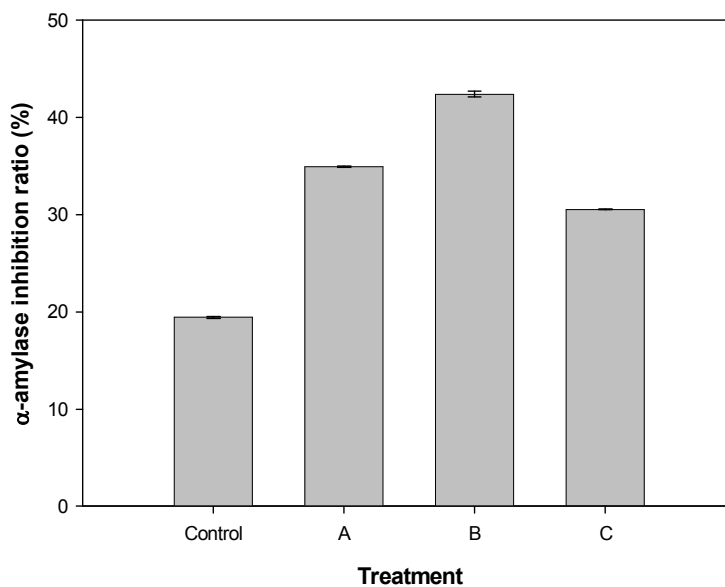


Fig. 14. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from functional water treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Washing treatment: Control: distilled water, A: distilled water, B: aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, C: glycernin 0.5%/citric acid 2.0%. Irrigation treatment: Control: distilled water, A: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, B: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, C: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm. Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous  $\text{ClO}_2$  (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).



### (3) $\alpha$ -Glucosidase 저해활성

$\alpha$ -Glucosidase 저해활성을 측정된 결과는 **Fig. 15** 와 같이 시료구간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 이는 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하여 탄수화물의 소화와 흡수에 영향을 주는 것으로 기능수의 처리에 의해서 전분 중 작용하는 효소의 특성에 따라 다른 영향을 주는 것으로 나타났다.

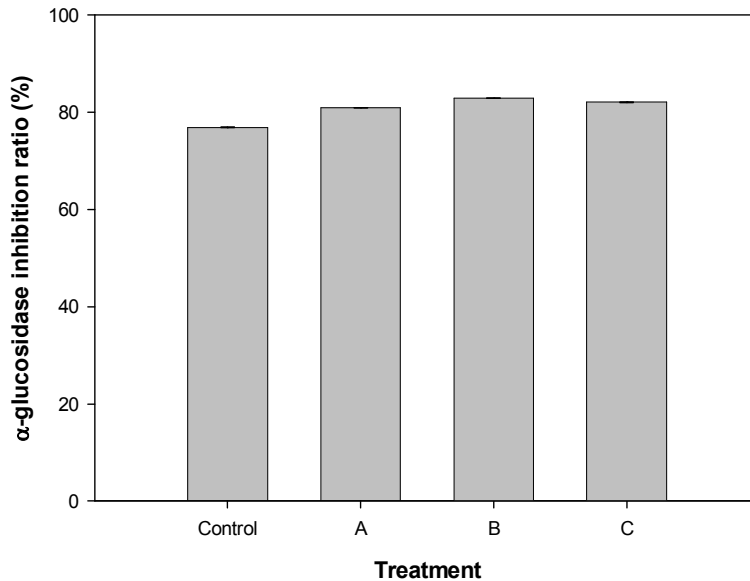


Fig. 15. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from functional water treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Washing treatment: Control: distilled water, A: distilled water, B: aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, C: glycerin 0.5%/citric acid 2.0%. Irrigation treatment: Control: distilled water, A: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, B: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm, C: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous  $\text{ClO}_2$  200 ppm. Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous  $\text{ClO}_2$  (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).

#### (4) ACE 저해활성

ACE 저해 효과는 Fig. 16 에 나타난 것과 같이 대조구와 유사한 경향을 나타낸 A 처리구와 B 처리구와 달리 C 처리구에서는 매우 감소하는 경향을 나타내었다. ACE 저해 활성은 신장혈관을 확장시켜 sodium 의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 주는 항고혈압 효과를 살펴보는 것으로서 페놀성 화합물과 큰 상관성이 있는 것으로 알려지고 있다.

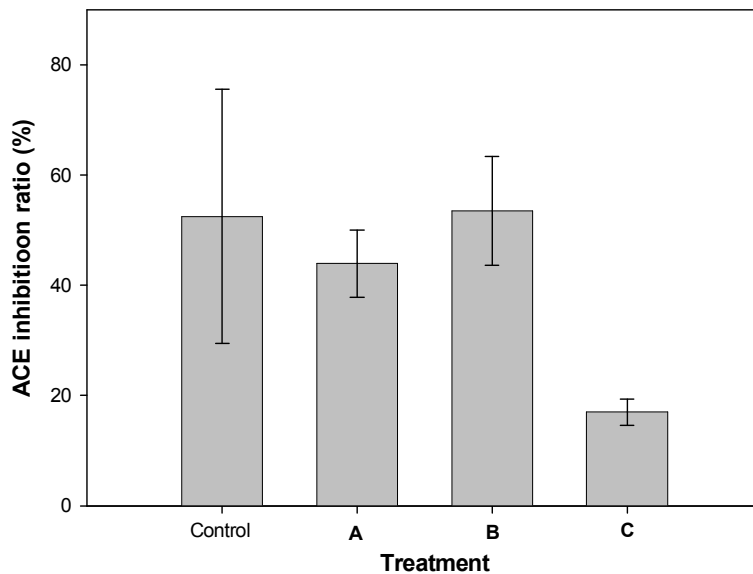


Fig. 16. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from functional water treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Washing treatment: Control: distilled water, A: distilled water, B: aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: glycerin 0.5%/citric acid 2.0%. Irrigation treatment: Control: distilled water, A: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, B: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm. Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).

(라) 총 페놀 함량

총 페놀 함량도 Fig. 17 에서와 같이 ACE 저해 활성과 같은 경향을 나타내어 B 처리구가 23.17 mg/g 로 높게 나타났으며, A와 C 처리구는 대조구에 비하여 낮은 값을 나타내었다. 결론적으로 4 가지 실험을 통한 생리활성적인 기능 특성을 볼 때 B 처리구가 가장 좋은 결과를 가지고 오는 것으로 보여지고 있으나 그 차이는 미미한 것으로 보여진다.

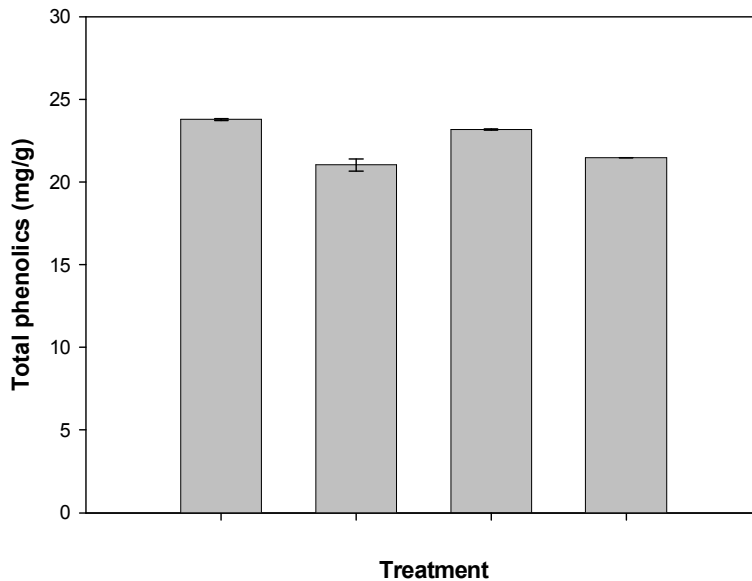


Fig. 17. Changes of total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from functional water treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Washing treatment: Control: distilled water, A: distilled water, B: aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: glycerin 0.5%/citric acid 2.0%. Irrigation treatment: Control: distilled water, A: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, B: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: Citric acid 2.0%  $\rightarrow$  aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm. Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).

Table. 7. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from functional water treated buckwheat sprouts.

Samples <sup>2)</sup>	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content (µg/g dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	178614 ± 162.63	97565 ± 195.86	19902 ± 437.69	641 ± 10.58	2410.2 ± 17.14
A	152540 ± 685.89	83162 ± 162.63	18118 ± 481.53	590.1 ± 9.67	2176.9 ± 1.46
B	174705 ± 304.76	95684 ± 422.84	20412 ± 436.28	655.0 ± 7.02	2390.7 ± 16.67
C	159923 ± 45.96	87261 ± 318.19	19530 ± 425.67	613.6 ± 2.99	2273.0 ± 12.24

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Washing treatment: Control: distilled water, A: distilled water, B: aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: glycerin 0.5%/citric acid 2.0%.

Irrigation treatment: Control: distilled water, A: Citric acid 2.0% → aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, B: Citric acid 2.0% → aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm, C: Citric acid 2.0% → aqueous ClO<sub>2</sub> 200 ppm.

Treatments were as follows: distilled water (10 min); aqueous ClO<sub>2</sub> (200 ppm for 10 min); citric acid (2% solution for 10 min); Glycerin (0.5% solution for 10 min).

#### 나. MSM 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능 특성 변화

##### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MSM 을 0.05, 0.1, 0.2 및 0.4% 의 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

##### (2) 생리활성적 특성

MSM 처리에 의한 메밀싹기름채소의 생리활성적 특성 변화를 살펴본 결과는 Fig. 18~21 과 같다. α-Amylase 저해활성의 경우 처리 농도의 증가에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며, 400 mg% 처리농도에서는 대조구에 비하여 약 40% 이하로 감소하는 것으로 나타났다. 반면, α-glucosidase 저해활성의 경우 처리구가 대조구에 비하여 상대적으로 증가하는 경향을 나타내었으며 처리농도 50 mg% 에서 가장 높은 저해활성을 나타내었다. 총 페놀 함량에서도 50 mg% 처리농도는 증가하였으며, 그 이후의 농도에서는 감소하는 경향을 나타내어 400 mg% 처리구에서는 대조구에 비하여 약 20% 이상 감소하였다.

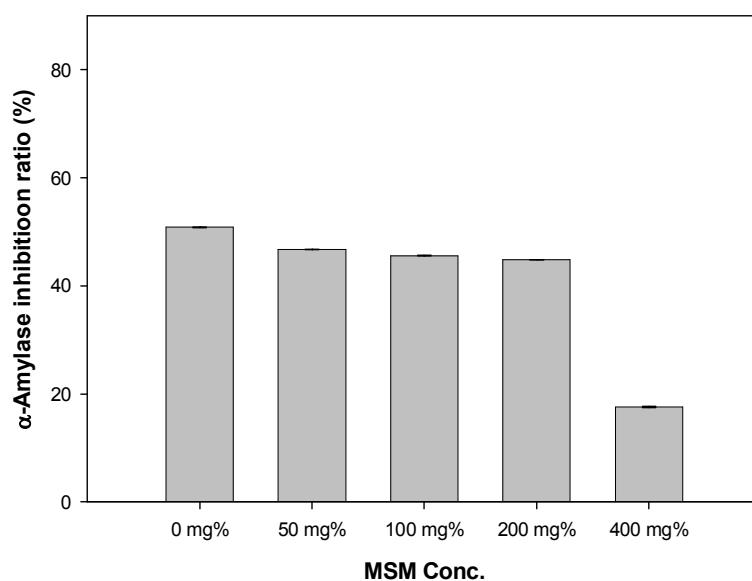


Fig. 18. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from MSM treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

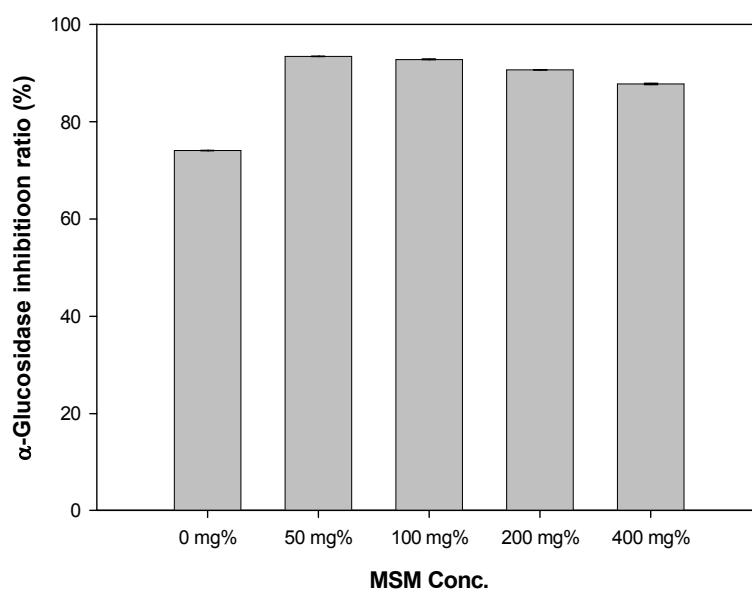


Fig. 19. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from MSM treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

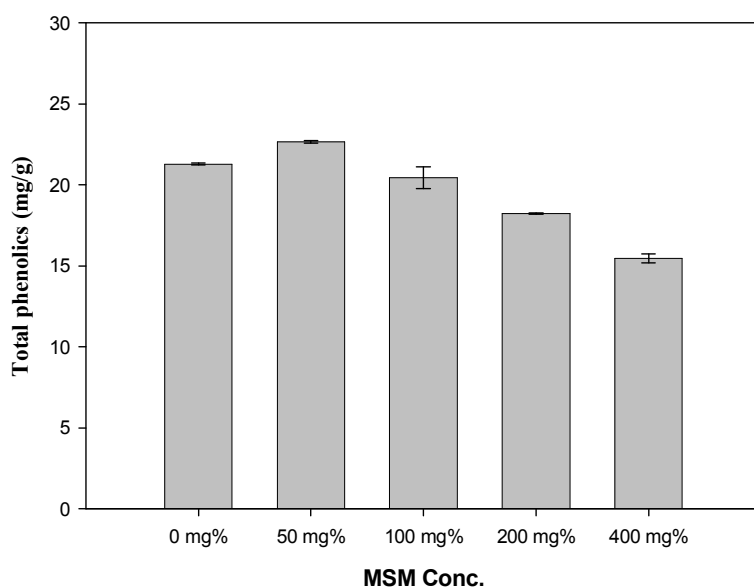


Fig. 20. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from MSM treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

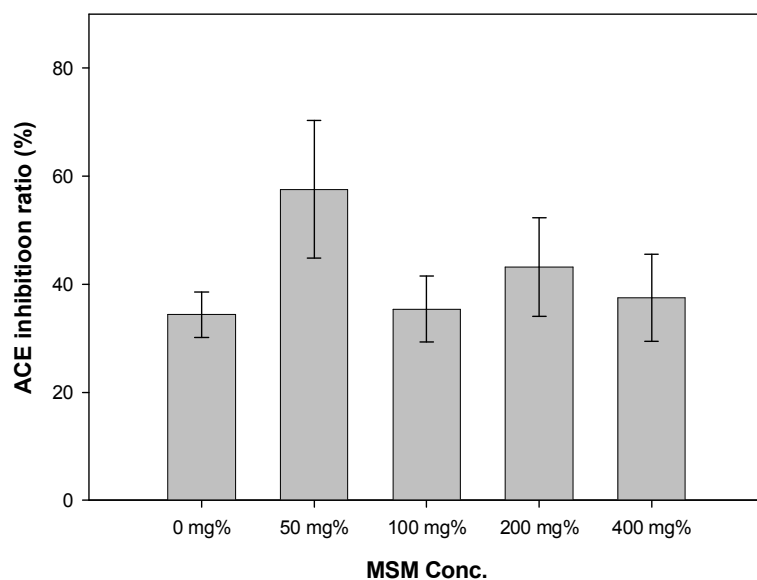


Fig. 21. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from MSM treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

### (3) Individual phenolic compound

MSM 처리에 의한 메밀싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 8** 에서 보듯이 4개의 주요 물질 (homoorientin, orientin, rutin, vitexin/isovitexin) 이 분리 동정되었으며 MSM 처리에 의해 individual phenolic compound profile 의 변화가 관찰되었다. 특히, 4개의 동정된 물질들 중 다양한 기능성을 갖고 있는 것으로 알려진 루틴의 함량이 MSM 를 처리하지 않은 control에 비해 MeJA 처리 시 꾸준히 증가하는 것으로 나타났으며, 다른 compound에서는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다.

Table 8. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from MSM treated buckwheat sprouts.

MSM Conc.	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content (µg/g dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	166421 ± 1157.5	90922 ± 374.05	17577 ± 210.01	566.1 ± 0.95	2303.7 ± 0.19
50 mg%	186578 ± 1008.3	102117 ± 223.44	20594 ± 609.52	640.0 ± 2.09	2462.6 ± 3.77
100 mg%	176286 ± 1911.3	96621 ± 692.96	19634 ± 472.34	626.6 ± 5.40	2338.6 ± 5.02
200 mg%	166142 ± 1749.3	91429 ± 569.22	17665 ± 259.50	600.0 ± 1.18	2144.6 ± 10.18
400 mg%	157830 ± 1335.0	87008 ± 356.38	15756 ± 431.33	579.3 ± 1.78	1863.5 ± 6.22

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

## 다. 키토산 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능성 특성 변화 I

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 대조구는 lactic acid 0.1% 키토산 처리구는 30 cps 0.1%, 30 cps 0.2%, 64 cps 0.1%, 64 cps 0.2% 의 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

(2) 생리활성적 특성

키토산을 농도별, 종류별로 처리한 메밀싹기름채소의 생리활성적인 특성변화는 Fig. 22~25 에 나타내었다. 대조구로서 lactic acid 100 mg% 농도의 관수를 살수하였고 키토산은 lactic acid 100 mg% 의 용매에 녹여 관수로 처리하였다.  $\alpha$ -Amylase 저해활성에 있어서 키토산의 영향은 거의 없는 것으로 나타났으며, 30 cps 와 60 cps 사이에서도 30 cps 키토산의 저해활성이 다소 높게 나타나고 있으나 유의적인 수준의 차이는 나타나지 않았다. 반면,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성에 있어서 30 cps 키토산 처리구와 60 cps 키토산 100 mg% 농도에서 대조구에 비하여 높은 값을 나타내었으며, 30 cps 키토산 처리구가 60 cps 처리구에 비하여 높은 저해 활성을 나타내었다. 또한, 총 페놀 함량에서도 30 cps 키토산 100 mg% 처리구가 가장 높은 25.09 mg/g 의 함량을 나타내었으며, 60 cps 키토산 처리구에 비하여 상대적으로 높은 값을 나타내었다.

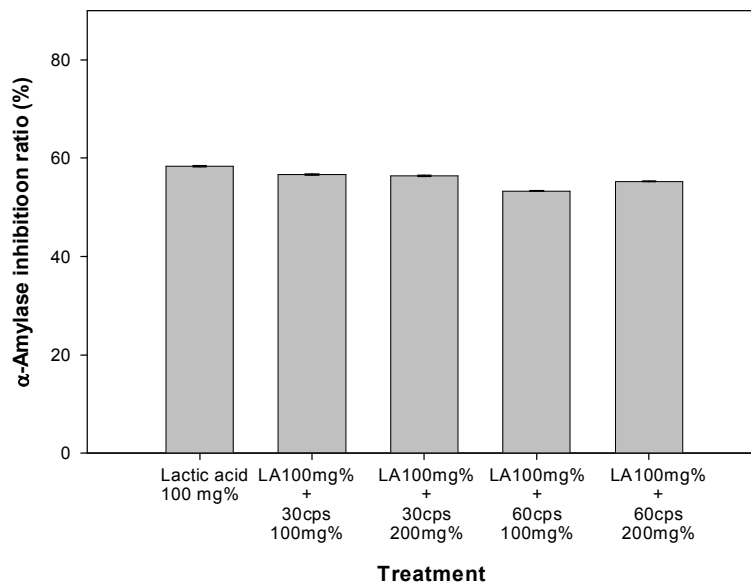


Fig. 22. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.



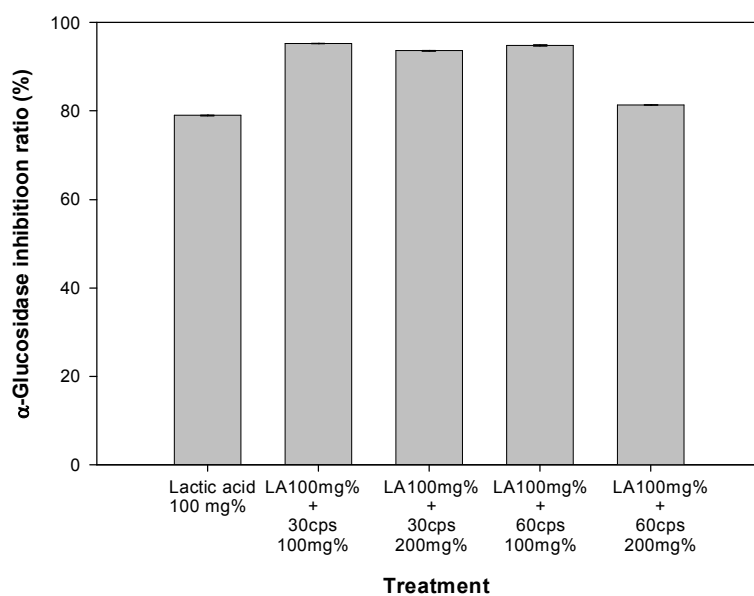


Fig. 23. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

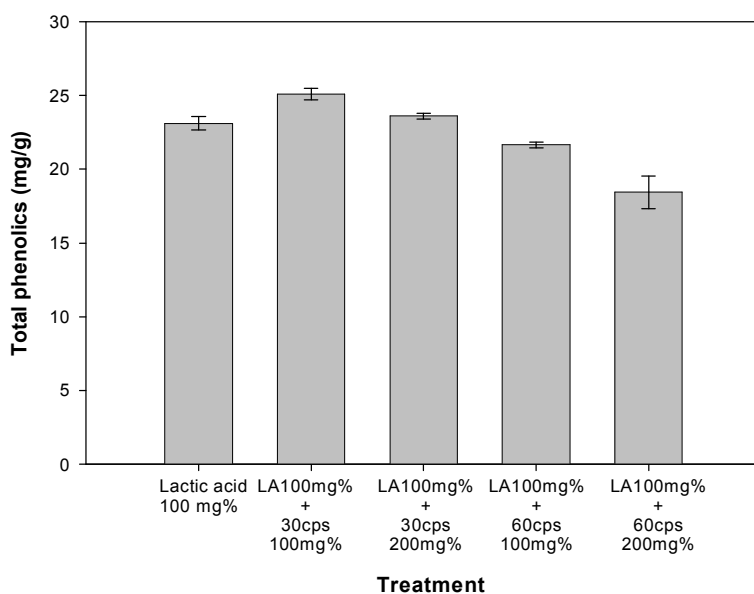


Fig. 24. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

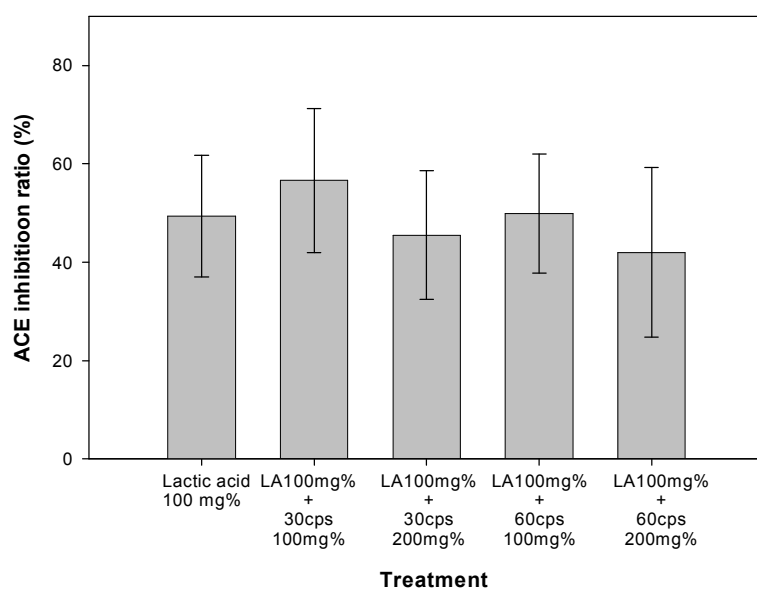


Fig. 25. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

Table 9. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from chitosan buckwheat sprouts.

	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content ( $\mu\text{g/g}$ dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
LA 100 mg% <sup>2)</sup>	175644 $\pm$ 2131.2	96095 $\pm$ 760.13	19025 $\pm$ 454.66	599.0 $\pm$ 2.89	2311.0 $\pm$ 20.31
30 cps 100 mg% <sup>3)</sup>	205260 $\pm$ 1793.2	112997 $\pm$ 636.39	21200 $\pm$ 529.62	796.0 $\pm$ 0.22	2614.8 $\pm$ 15.29
30 cps 200 mg% <sup>3)</sup>	192735 $\pm$ 1547.1	106006 $\pm$ 504.16	19370 $\pm$ 355.67	773.3 $\pm$ 0.04	2460.5 $\pm$ 10.25
60 cps 100 mg% <sup>3)</sup>	176541 $\pm$ 669.6	96851 $\pm$ 668.21	18636 $\pm$ 521.84	638.7 $\pm$ 3.44	2302.2 $\pm$ 10.11
60 cps 200 mg% <sup>3)</sup>	163909 $\pm$ 886.71	90287 $\pm$ 418.60	16949 $\pm$ 357.79	627.5 $\pm$ 0.46	2093.8 $\pm$ 7.30

<sup>1)</sup>Values are means  $\pm$  SD (n=3).

<sup>2)</sup>Lactic acid 100 mg%.

<sup>3)</sup>Chitosan concentration.

### (3) Individual phenolic compound

키토산 처리에 의한 메밀싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 9** 에서 individual phenolic compound profile의 변화가 관찰되었다. 특히, 4개의 동정된 물질들 중 루틴의 변화가 가장 크게 나타나고 있었으며, homoorientin 과 orientin 의 변화도 관찰되었다. 30 cps 키토산 처리구가 60 cps 키토산 처리구에 비하여 다양한 증가를 나타내는 것으로 나타났다.

## 라. 키토산 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능성 특성 변화 II

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 키토산 처리구는 lactic acid 0.05%, 30 cps 0.05%, 30 cps 0.1%, 30 cps 0.2% 의 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

### (2) 생리활성적 특성

30 cps 키토산을 처리한 메밀싹기름채소의 생리활성적 특성에 대한 결과는 **Fig. 26~29** 에 나타난 것과 같이  $\alpha$ -amylase 저해활성의 경우 대조구에 비하여 lactic acid 처리구와 lactic acid 및 키토산 처리구에서 모두 증가하는 것으로 나타났다. 특히, lactic acid 단독 처리구에서 가장 높은 저해활성을 나타내었으며, 키토산 함량이 증가할수록 낮아지는 경향을 나타내었다. 반면,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 경우 lactic acid 단독 처리구에서 가장 낮은 저해활성을 나타내었으며, 키토산의 함량이 증가할수록 저해활성이 높아지는 경향을 나타내어, 키토산 200 mg% 처리구는 대조구에 비하여 약 8% 이상 증가하는 것으로 나타났다. 총 페놀 함량의 경우 키토산 200 mg% 처리구를 제외한 모든 처리구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 키토산 200 mg% 농도 처리구에서는 총 페놀 함량이 약 20% 이상 증가하는 것으로 나타났다.

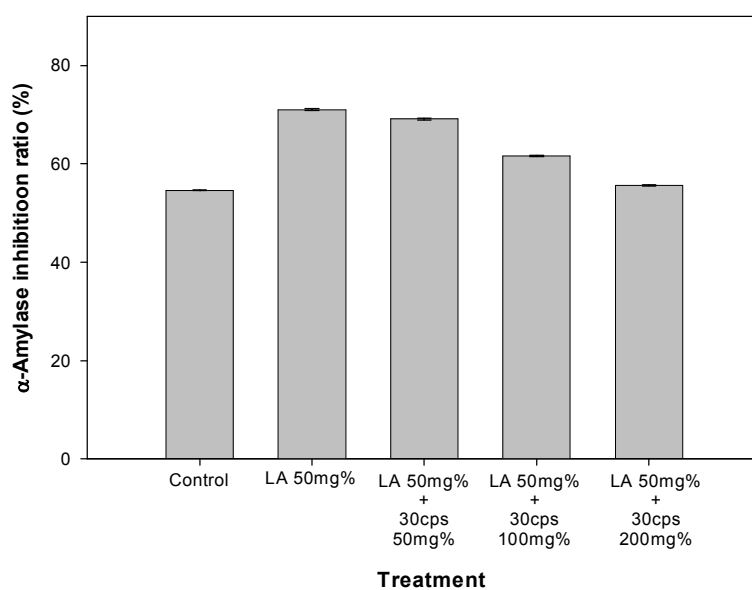


Fig. 26. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

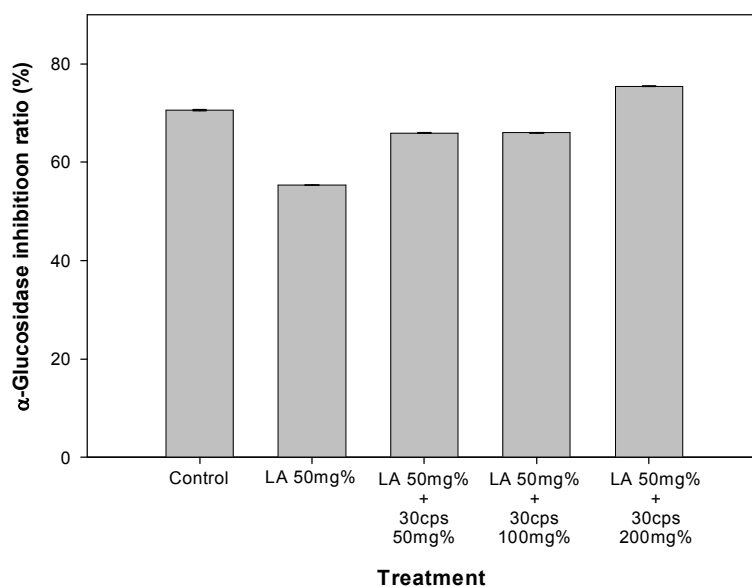


Fig. 27. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

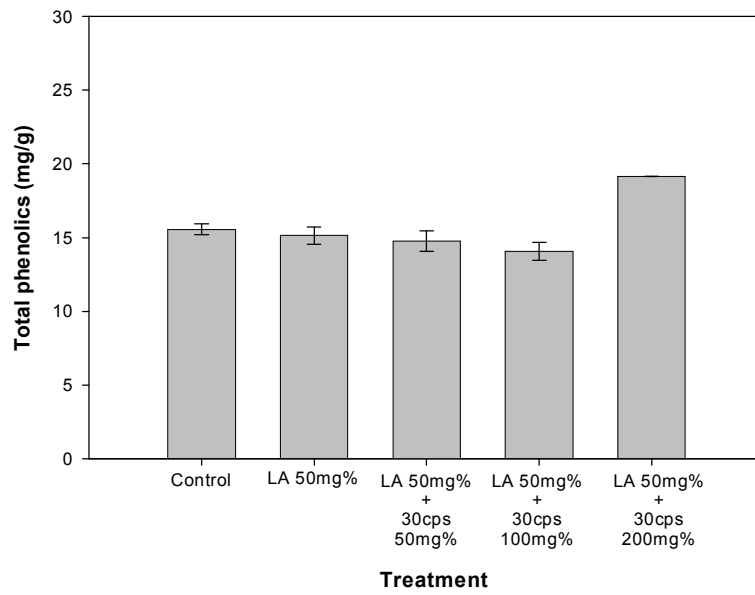


Fig. 28. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

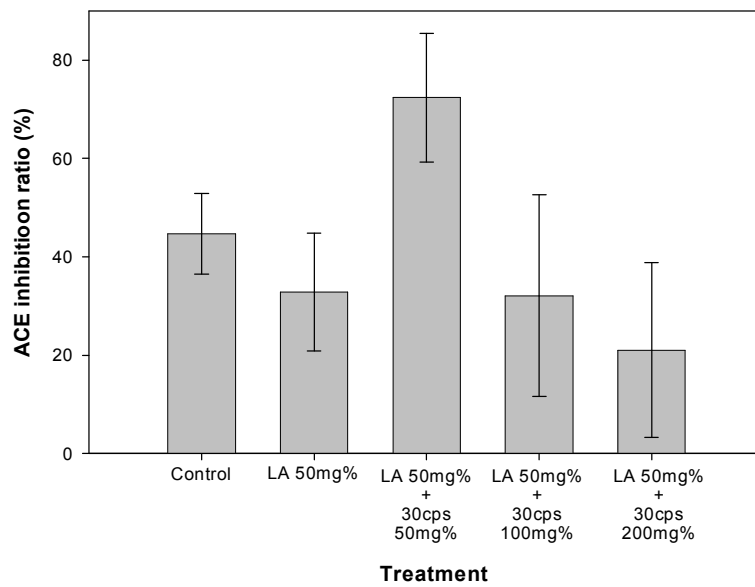


Fig. 29. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(3) Individual phenolic compound

키토산 처리에 의한 메밀싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 10** 에 나타내었으며, 그 중 루틴의 함량이 처리농도의 증가에 따라 증가하는 것으로 나타났다. 이를 제외한 individual phenolic compound profile 의 변화는 관찰되지 않았다.

Table 10. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from chitosan buckwheat sprouts.

	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content (µg/g dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	153177 ± 1435.4	83195 ± 511.23	17730 ± 316.07	578.9 ± 0.04	2310.3 ± 9.83
LA 50 mg% <sup>2)</sup>	140074 ± 1177.3	75969 ± 371.93	16756 ± 514.77	534.8 ± 2.33	2140.6 ± 7.94
30 cps 50 mg% <sup>3)</sup>	143070 ± 989.9	77473 ± 284.96	18183 ± 293.44	580.0 ± 4.84	2299.7 ± 15.79
30 cps 100 mg% <sup>3)</sup>	151001 ± 875.3	82365 ± 266.57	17224 ± 397.39	549.7 ± 1.84	2188.1 ± 7.75
30 cps 200 mg% <sup>3)</sup>	153478 ± 672.4	83532 ± 203.64	18991 ± 356.38	611.2 ± 5.68	2357.8 ± 13.41

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Lactic acid 50 mg%.

<sup>3)</sup>Chitosan concentration.

(4) 성장 특성 및 기능성분 함량

Oligo-chitosan 처리에 의한 메밀싹기름채소의 성장 특성과 기능성분 함량의 변화를 살펴본 결과는 **Fig. 30** 과 같이 메밀싹기름채소의 생장이 oligo-chitosan 처리에 따라서 생장의 정도가 감소하는 것으로 나타났다. 처리 농도 0.05% 까지는 대조구와 유사한 경향을 나타내었으나, 0.1% 이상의 농도에서는 유의적인 차이가 나타났다. 기능성 성분 및 phenolic compound 함량에 영향을 대한 자료로서 총 페놀 함량을 조사한 결과는 **Fig. 31** 과 같이 대조구에 비하여 oligo-chitosan 처리에 의한 영향은 나타나는 것으로 판단되었다. 처리 농도의 증가에 의한 경향을 나타내기보다, 0.5% 이상의 농도에서 총 페놀 함량의 증가가 두드러지게 나타났다. 0.1% 이하의 농도에서는 대조구와 유사한 경향을 나타내었으나, 0.5% 이상의 처리농도에서는 대조구에 비하여 약 30% 이상의 증가를 나타내는 것으로 나타났다. 다만, 0.5% 이상의 처리 농도에서는 메밀싹기름채소 생장이 뚜렷하게 감소되는 특징이 동시에 나타나 생체 활용의 측면에서는 제고되어야 될 것으로 판단되었다.

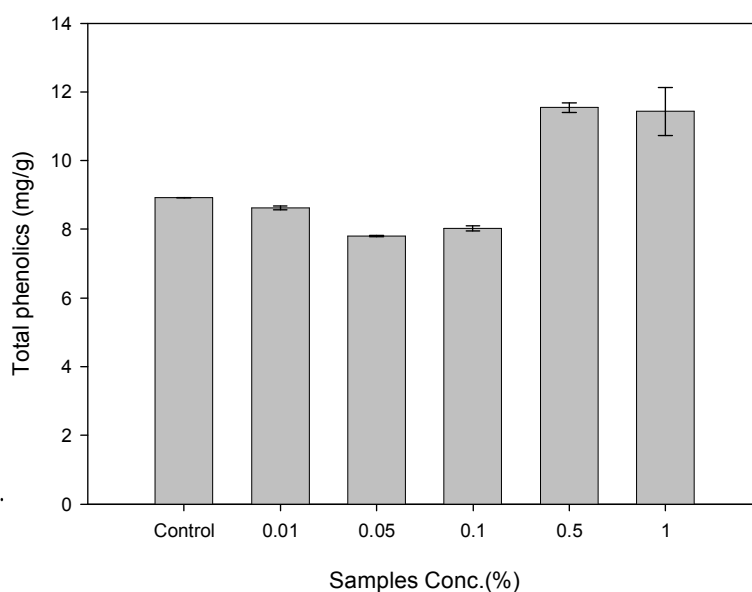


Fig. 30. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from oligo-chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

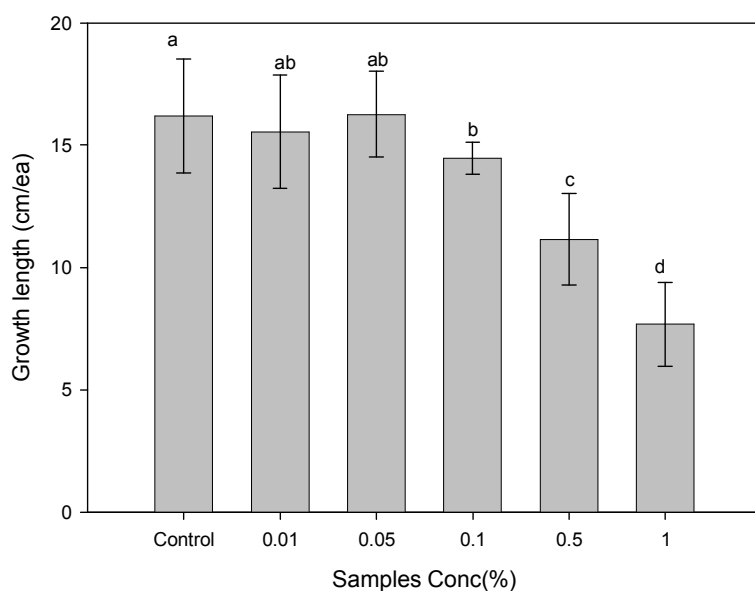


Fig. 31. Effect of inhibition on growth length (cm/ea) by oligo-chitosan treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

## 마. CO<sub>2</sub> 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능성 특성 변화

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 stress 처리로서 CO<sub>2</sub> gas 처리를 4, 8, 16 및 24시간 처리한 후 재배하였다.

### (2) 생리활성적 특성

CO<sub>2</sub> 처리에 의한 메밀싹기름채소의 생리활성적 특성변화에 대한 결과는 **Fig. 32~35** 에 나타내었다. CO<sub>2</sub> 처리에 의한  $\alpha$ -amylase 저해활성은 처리 시간이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었으며,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 또한 처리시간의 증가에 따른 활성 증가를 나타내지 않았다. 반면, 총 페놀 함량의 경우 4시간까지 감소하였다가 8시간 이 후 다시 증가하는 경향을 보여 24시간 처리 후 대조구에 비하여 약 20% 이상 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 경향은 페놀 함량과 amylase 및 glucosidase 저해활성과의 상관성이 없는 것으로 보이나 ACE 저해활성 효과와 비교하여 볼 때 유의적인 상관성을 나타내고 있는 것으로 판단되었다.

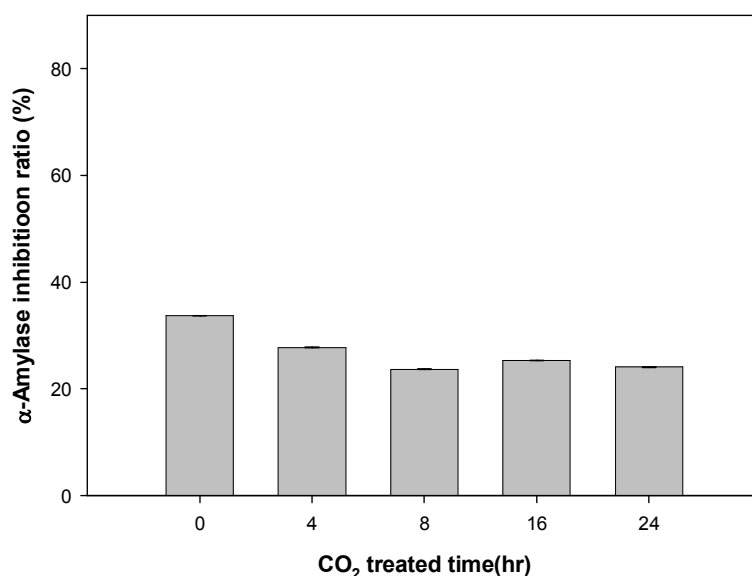


Fig. 32. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from CO<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.



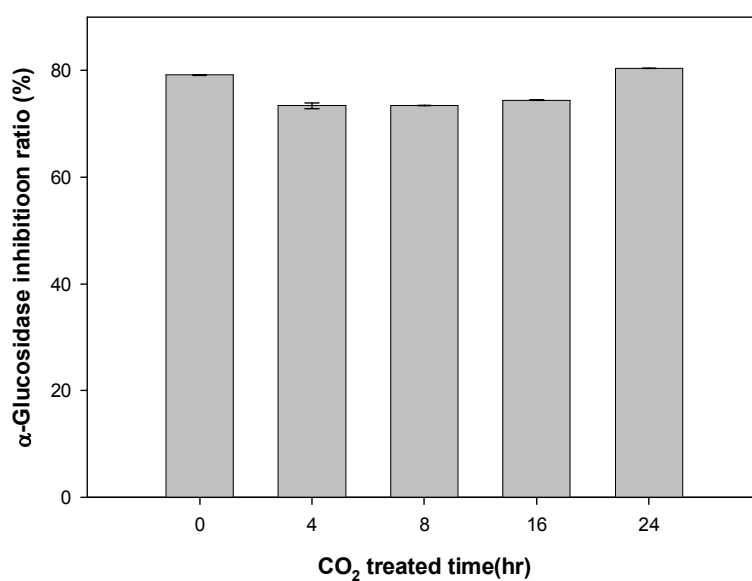


Fig. 33. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from CO<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

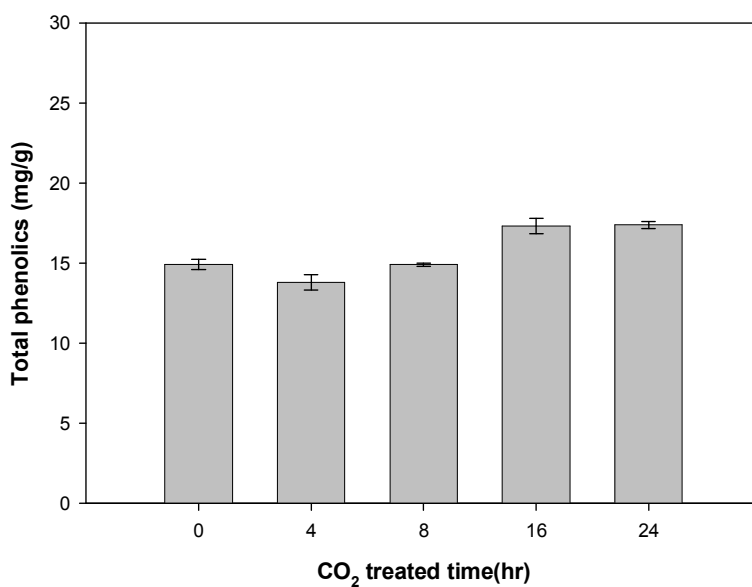


Fig. 34. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from CO<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

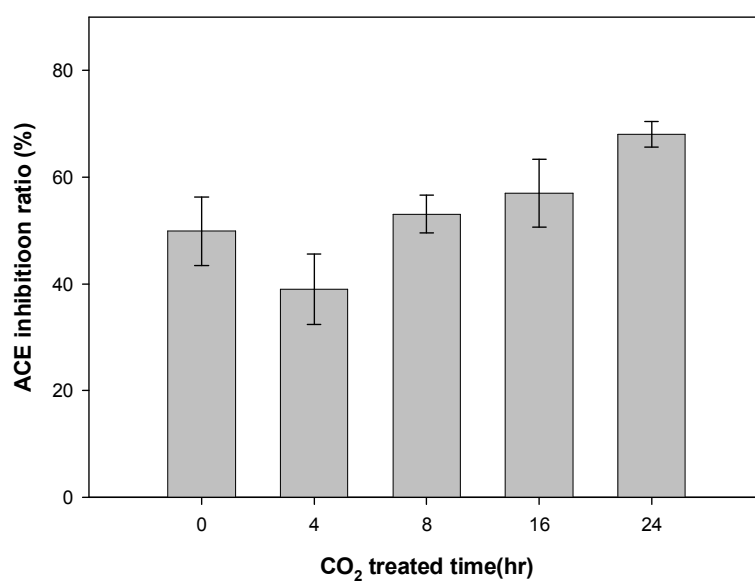


Fig. 35. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from carbon dioxide treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

Table 11. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from CO<sub>2</sub> treated buckwheat sprouts.

CO <sub>2</sub> treated time	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content ( $\mu\text{g/g}$ dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	96090 $\pm$ 564.9	53297 $\pm$ 60.81	14929 $\pm$ 280.72	345.5 $\pm$ 3.96	1552.0 $\pm$ 0.22
4 hr	89820 $\pm$ 166.8	50323 $\pm$ 7.07	13250 $\pm$ 252.43	293.1 $\pm$ 0.84	1461.9 $\pm$ 4.81
8 hr	129280 $\pm$ 109.6	71162 $\pm$ 150.61	18551 $\pm$ 536.69	527.2 $\pm$ 0.43	2391.4 $\pm$ 9.87
16 hr	148887 $\pm$ 538.1	80512 $\pm$ 66.46	20444 $\pm$ 263.75	589.2 $\pm$ 0.31	2582.5 $\pm$ 4.31
24 hr	155534 $\pm$ 185.2	84182 $\pm$ 114.55	20924 $\pm$ 206.47	592.9 $\pm$ 0.87	2833.4 $\pm$ 8.43

<sup>1)</sup>Values are means  $\pm$  SD (n=3).

### (3) Individual phenolic compound

CO<sub>2</sub> 처리에 의한 메밀씨의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 11** 에 나타내었다. 4개의 동정된 물질들 중 루틴의 함량의 변화가 관찰 되었고 4시간 처리구에서 다소 낮아졌으나 이후 다시 증가하는 경향을 나타내었다. Vitexin/iso 에서도 루틴과 같은 경향을 나타내었으며, 전반적인 individual phenolic compound 에서 유사한 경향을 나타내었다.

## 바. N<sub>2</sub> 처리에 따른 메밀씨기름채소의 기능성 특성 변화

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 stress 처리로서 N<sub>2</sub> gas 처리를 4, 8, 16 및 24시간 처리한 후 재배하였다.

### (2) 생리활성적 특성

N<sub>2</sub> 처리에 따른 메밀씨채소의 생리활성적 특성변화에 대한 결과는 **Fig. 36~39** 에 나타내었다. α-Amylase 저해활성의 경우 처리시간의 증가에 따라 저해 활성이 감소하는 경향을 나타내었으며, α-glucosidase 저해활성은 4시간 처리에서는 저해활성이 감소하였다가 처리시간이 증가에 의해서 저해활성이 다소 증가하였고, 24시간 처리 시 81.79% 로서 대조구에 비하여 높은 값을 나타내었다. 총 페놀 함량은 처리 4시간에서 다소 감소하였고 처리시간 24시간에서 증가하는 경향을 보여 α-glucosidase 저해활성과 유사한 경향을 나타내었다. ACE 저해활성과 비교하여볼 때 α-glucosidase와 총 페놀 함량의 변화가 상관성이 있는 것으로 판단되었다.

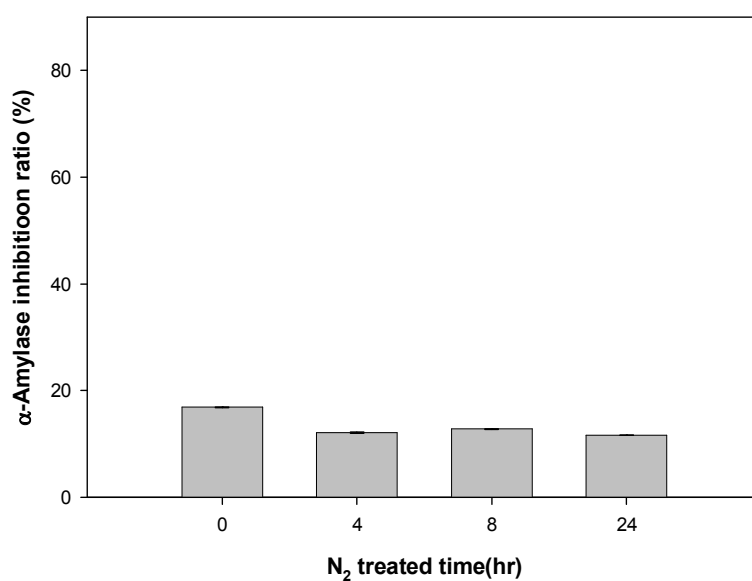


Fig. 36. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from N<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

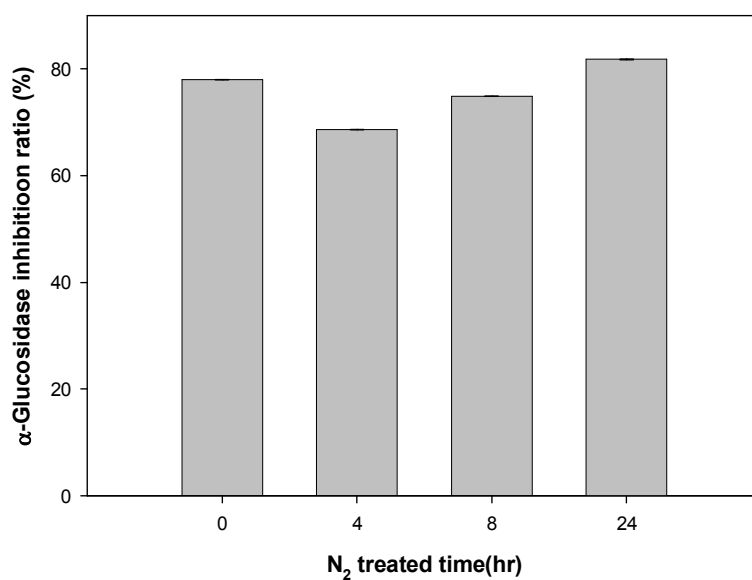


Fig. 37. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from N<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

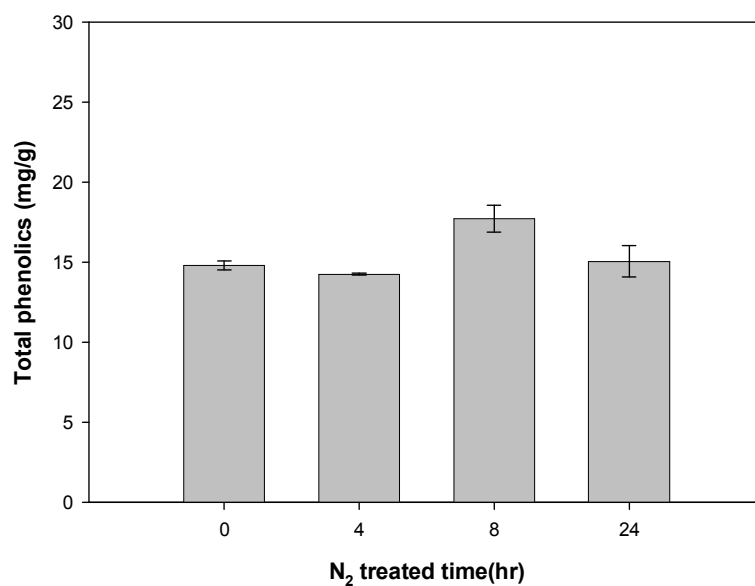


Fig. 38. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from N<sub>2</sub> gas treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations.

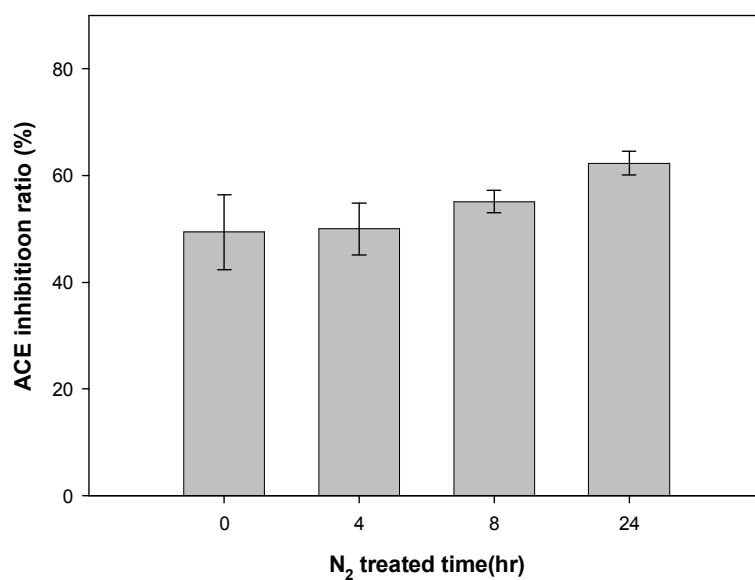


Fig. 39. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from nitrogen treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations.

(3) Individual phenolic compound

N<sub>2</sub> 처리에 의한 메밀싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 12** 에 나타내었다. 동정된 물질 중 vitexin/iso 의 함량이 처리 4시간에 서 다소 감소하였다가 이 후 증가하는 경향을 나타내어 24시간 처리구에서는 대조구에 비하여 약 6% 증가하는 것으로 나타났으며 이 외의 individual phenolic compound 의 변화는 관찰되 지 않았다.

Table 12. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from N<sub>2</sub> treated buckwheat sprouts.

N <sub>2</sub> treated time	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content (µg/g dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	164316 ± 372.6	90926 ± 0.70	24428 ± 827.31	659.5 ± 15.99	2862.3 ± 8.83
4 hr	144193 ± 353.5	79956 ± 206.4	19387 ± 769.33	536.0 ± 2.07	2525.6 ± 13.39
8 hr	177795 ± 9343.7	94934 ± 56.56	23342 ± 691.55	634.8 ± 2.64	2957.4 ± 6.31
24 hr	185457 ± 9709.2	99126 ± 201.52	24208 ± 681.65	616.4 ± 1.26	3031.8 ± 8.75

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

사. UV 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능성 특성 변화

(1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 stress 처리로서 종자가 발아 후 4일간 1일 10분씩 UV 를 처리 종류에 따라 A형, B형, C형으로 구분하여 조사하였으며, 7일 후 수확하여 메밀싹기름채소의 기능적 특성을 조사하였다.

(2) 생리활성적 특성

UV 처리에 따른 메밀싹기름채소의 생리활성 변화에 대한 결과는 Fig. 40~43 에 나타내었다.  $\alpha$ -Amylase 저해활성의 경우 UV-B 처리구에서 가장 높은 저해활성을 나타내었다. UV-B 처리구는 대조구에 비하여 약 60% 이상 증가하는 것으로 나타났으며 그 다음으로 UV-A 처리구가 높게 나타났다. 반면, UV-C 처리구는 대조구에 비하여 감소하는 것으로 나타났다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성의 경우 UV-B 와 UV-C 처리구에서 다소 증가하는 것으로 나타났으며, UV-A 처리구는 감소하는 것으로 나타나고 있으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 총 페놀 함량의 경우 UV-B 처리구가 가장 낮은 값을 나타내었고, 대조구에 비하여 약 30% 이상 감소하였다. 전반적으로 UV 처리에 의해서 총 페놀 함량이 감소하는 것으로 나타났는데 이에 대한 더 신중한 검토가 필요할 것으로 판단된다.

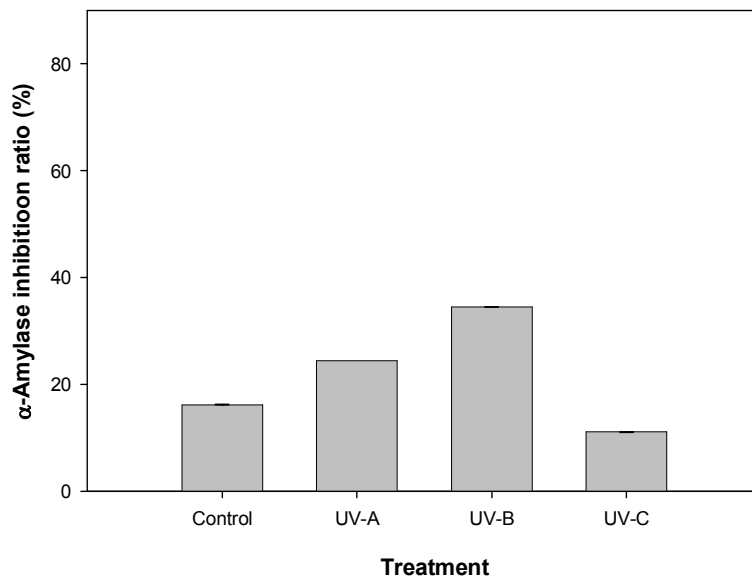


Fig. 40. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from UV treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

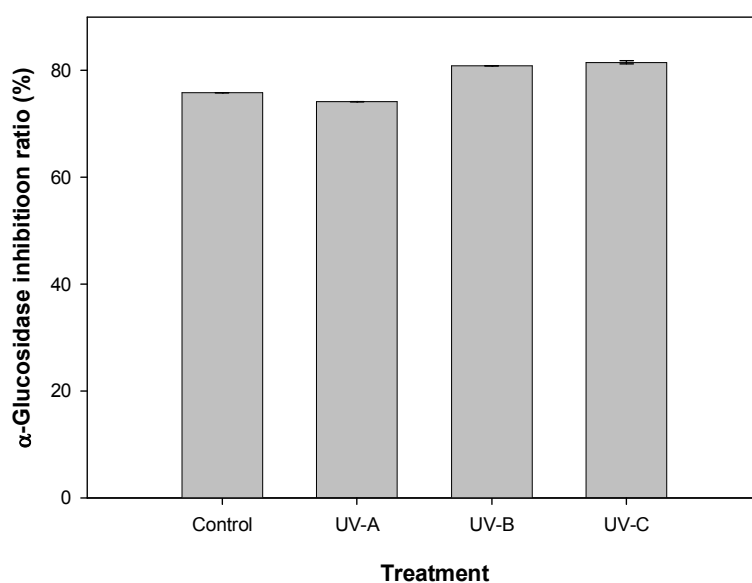


Fig. 41. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from UV treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

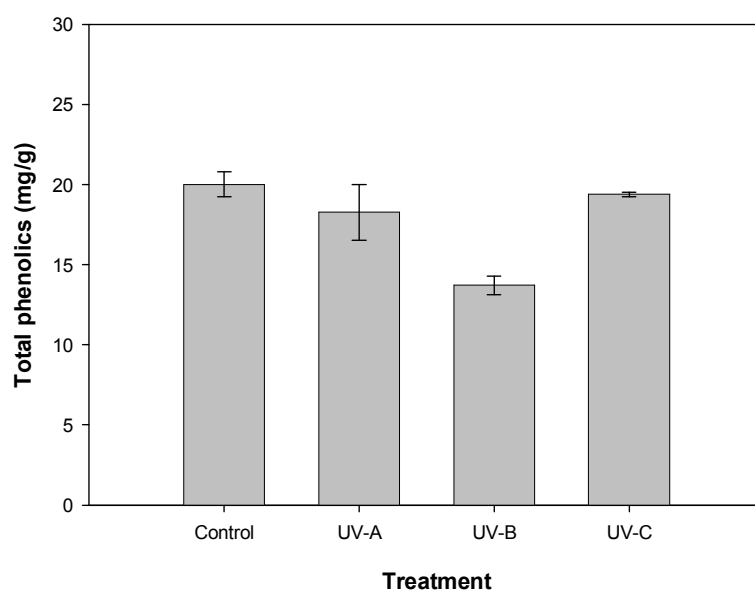


Fig. 42. Effect of inhibition on total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from UV treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.



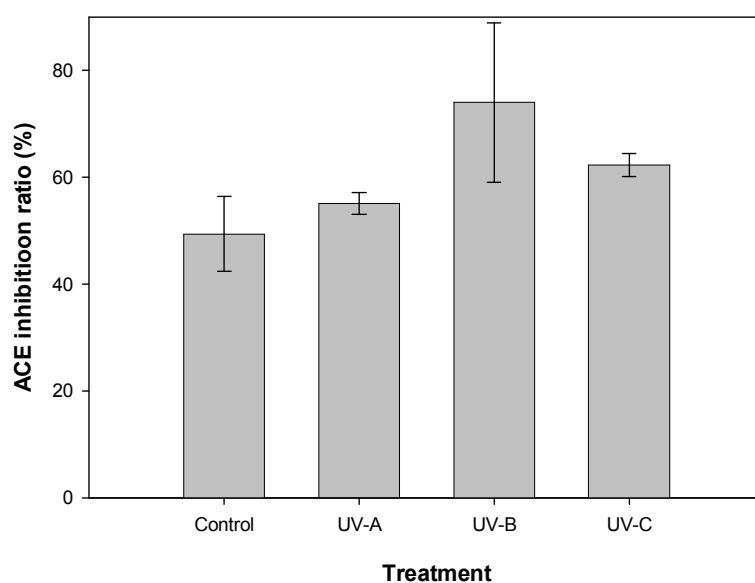


Fig. 43. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from UV treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

Table 13. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from UV treated buckwheat sprouts.

Samples	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content ( $\mu\text{g/g}$ dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	185410 $\pm$ 189.5	101490 $\pm$ 270.1	19747 $\pm$ 528.91	652.8 $\pm$ 4.06	2583.9 $\pm$ 5.15
UV-A	182946 $\pm$ 145.6	99821 $\pm$ 202.9	20280 $\pm$ 808.93	650.9 $\pm$ 2.21	2542.2 $\pm$ 10.77
UV-B	175915 $\pm$ 1048.6	96312 $\pm$ 780.6	20068 $\pm$ 528.91	616.5 $\pm$ 0.35	2441.0 $\pm$ 20.51
UV-C	194571 $\pm$ 506.9	106744 $\pm$ 74.95	21691 $\pm$ 714.17	681.1 $\pm$ 2.85	2671.4 $\pm$ 6.31

<sup>1)</sup>Values are means  $\pm$  SD (n=3).

## 아. Methyl Jasmonate 처리에 따른 메밀싹기름채소의 기능성 특성 변화

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15 분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MeJA 를 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 mM 의 농도로 1 일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다. 메밀싹기름채소는 뿌리부분을 제외한 줄기이상의 부분을 절단한 후  $-70^{\circ}\text{C}$  의 온도에서 동결한 후 동결건조기를 이용하여 건조하고 blender(KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh ( $850\ \mu\text{m}^2$ ) 표준망에 통과시켜 추출 시료로 사용하였다.

### (2) 생리활성적 특성

Methyl Jasmonate 처리에 의한 메밀싹기름채소의 생리활성 특성을 조사한 결과는 Fig. 44~47 과 같다.  $\alpha$ -Amylase 저해활성의 경우 대조구에 비하여 처리농도가 증가할수록 낮아지는 경향을 나타내어 2.0 mM 농도에서 처리 시 1/2로 감소하였다. 반면,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 처리 농도의 증가에 의해서 저해활성능력이 증가하는 것으로 나타나,  $\alpha$ -amylase 저해활성과 상반된 결과를 나타내었다. 총 페놀 함량의 경우 처리농도가 증가할수록 그 함량이 30% 이상 증가한 경향을 나타내었다. 총 페놀 함량과  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과는 양의 상관성이 나타나고 있으며,  $\alpha$ -amylase 저해활성과는 음의 상관성을 나타내는 것으로 나타났다.

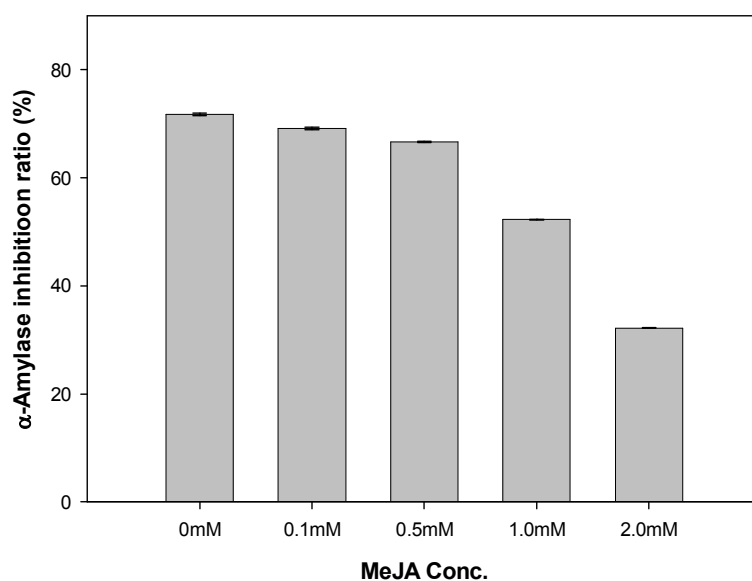


Fig. 44. Effect of inhibition on  $\alpha$ -amylase (%) by ethanol extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

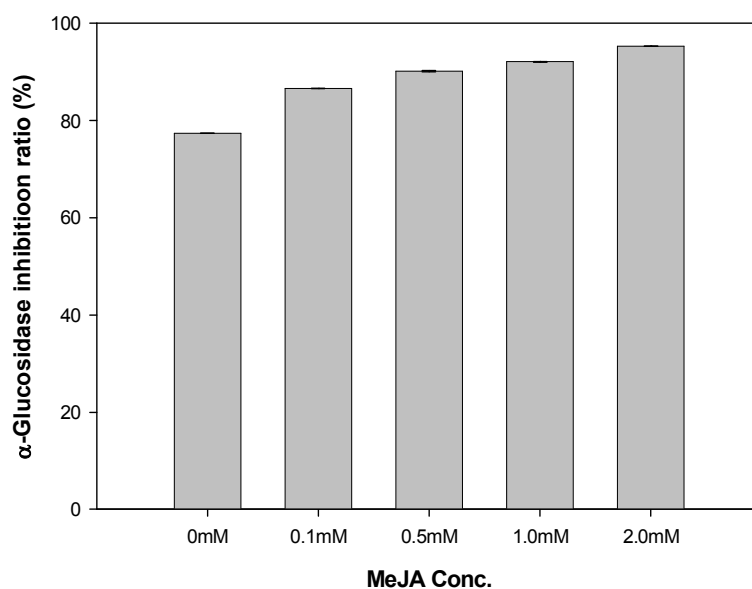


Fig. 45. Effect of inhibition on  $\alpha$ -glucosidase (%) by ethanol extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

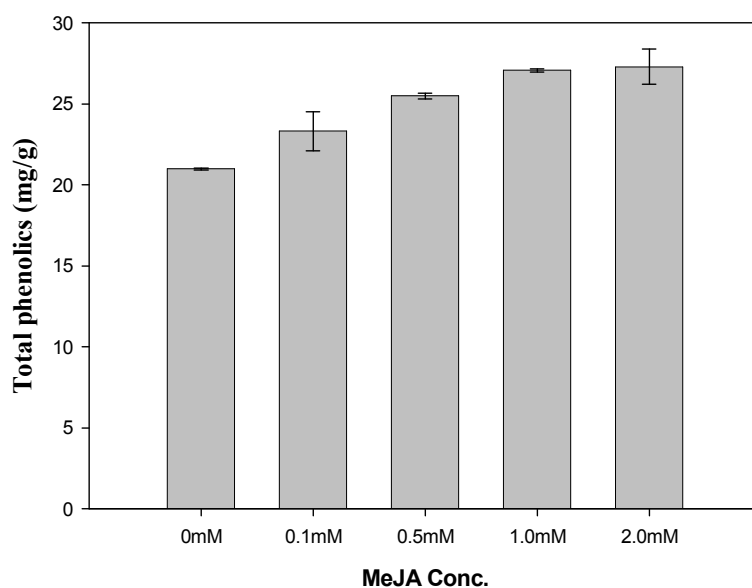


Fig. 46. Effect of total phenolics contents (mg/g) by ethanol extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

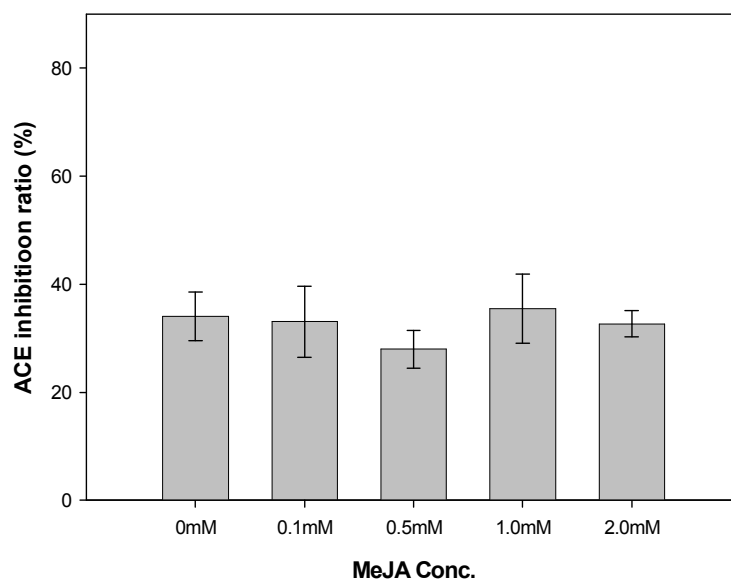


Fig. 47. Effect of inhibition on ACE (%) by ethanol extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(3) Individual phenolic compound

MeJA 처리에 의한 메밀싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Table 14** 에서 보듯이 4개의 주요 물질 (homoorientin, orientin, rutin, vitexin/isovitexin) 이 분리 동정되었으며 MeJA 처리에 의해 individual phenolic compound profile 의 변화가 관찰되었다. 특히, 4개의 동정된 물질들 중 다양한 기능성을 갖고 있는 것으로 알려진 루틴의 함량이 MeJA 를 처리하지 않은 대조구 (Control) 에 비해 MeJA 처리 시 꾸준히 증가하여 2 mM MeJA 처리구에서는 약 52% 증가한 반면 나머지 phenolic compound 에서는 큰 변화가 관찰되지 않았다.

Table 14. Changes of phenolic compounds composition by ethanol extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

MeJA Conc.	Content (Area %) <sup>1)</sup>			Content (µg/g dried compounds) <sup>1)</sup>	
	Homoorientin	Orientin	Unknown	Rutin	Vitexin/Iso
Control	150017 ± 27.57	82515 ± 486.48	18432 ± 598.91	590.6 ± 10.09	2167.5 ± 0.92
0.1 mM	174746 ± 377.59	96013 ± 570.63	23088 ± 665.38	823.4 ± 11.42	2399.3 ± 1.12
0.5 mM	154309 ± 899.43	85003 ± 224.85	19727 ± 473.05	757.9 ± 1.52	2084.1 ± 2.63
1.0 mM	164399 ± 15169	90319 ± 7293.80	21415 ± 2860.2	809.2 ± 71.00	2208.2 ± 172.88
2.0 mM	168524 ± 1597	92506 ± 179.60	22854 ± 675.28	895.7 ± 4.65	2302.3 ± 4.49

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

### 3. 단독 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름체소의 품질 특성 변화

#### 가. Methyl Jasmonate 처리에 따른 메밀싹기름체소의 품질 특성 변화

##### (1) Methyl Jasmonate 농도별 처리에 따른 품질 특성 변화

###### (가) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MeJA 을 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 mM 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

(나) fresh weight와 수분 함량

메밀 새싹의 MeJA 처리에 의한 fresh weight 와 수분 함량의 변화는 Fig. 48 에 나타내었다. Fresh weight 의 변화는 대조구에 대한 처리구의 무게비를 백분율로 나타내었다. Fresh weight는 처리 농도 0.1 mM 에서 대조구에 비하여 약 4.15% 증가하여 유의적으로 가장 높은 값을 나타내었으며, 그 이상의 농도에서는 fresh weight 가 감소하여, 2.0 mM 농도에서는 대조구에 비하여 약 5.98% 감소하였다. 수분함량의 경우, 처리구가 대조구에 비하여 모두 감소하는 경향을 나타내었으며, 처리농도 0.5 mM 이상에서는 약 81% 로 대조구에 비하여 약 7% 감소하는 것으로 나타내었다. Fan 등 (Fan D 2005) 의 연구에서도 jamsonweed seed 의 생장에 저농도의 MeJA 처리는 fresh weight 를 증가시켰으나, 고농도의 처리에서는 fresh weight 가 감소하는 것으로 나타난 것으로 보고하고 있어, 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

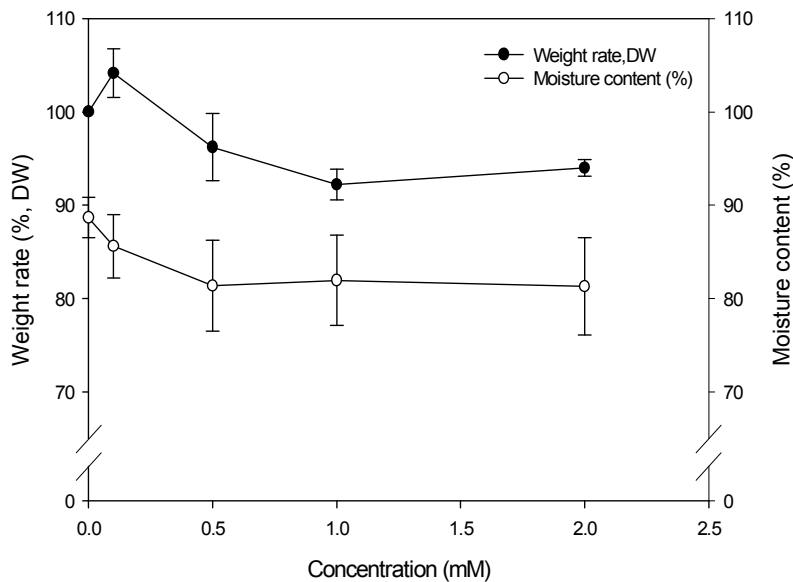


Fig. 48. Fresh weight rate (%) and moisture content (%) of buckwheat sprouts treated with various Methyl Jasmonate concentrations.

Mean  $\pm$  standard deviation of 3 batches. Total weight percent was calculated based on the control (0.0 mM treatment). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

#### (다) 총 페놀 함량

메밀 새싹의 총 페놀 함량의 변화는 **Fig. 49 (B)** 에 나타내었다. 총 페놀 함량은 MeJA 처리 농도가 증가할수록 그 값도 유의적인 증가를 나타내었다. 처리 농도가 0.1 mM 에서 2.0 mM 로 증가하면서 총 페놀 함량은 대조구에 비하여 약 48.55% 에서 약 113.84% 로 증가하였다. 또한, 메밀 새싹의 성장 중 0.5 mM 농도까지의 MeJA 처리는 총 페놀 함량을 급격히 증가시켰으며, 그 이상의 농도에서는 총 페놀 함량 증가율이 다소 감소되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 저온에서의 MeJA 처리가 'Fuji' 사과의 총 페놀 함량을 증가시킨다는 선행 연구 (Rudell, 2002) 그리고, red and black raspberries에 MeJA의 저농도 처리 (0.01 mM 및 0.1 mM) 에서 총 페놀 함량을 유의적으로 증가시킨 연구 (Wang 2005) 와 유사한 결과를 나타내어, 본 실험 결과 보다 낮은 농도의 MeJA 처리에서도 페놀 함량의 증가를 가져올 수 있다는 것으로 보여준다. 따라서 이러한 연구들은 MeJA 에 의해서 메밀싹기름채소에 있어서 phenolic compounds 가 생성될 수 있다는 것을 확인시켜주는 것으로 볼 수 있다.

#### (라) Individual phenolic compound

MeJA 처리에 의한 메밀새싹의 individual phenolic compound 변화를 조사하기 위하여 UPLC 로 분석한 결과 **Fig. 49 (A)** 에서 보듯이 4개의 주요 물질 (homoorientin, orientin, rutin, vitexin/isovitexin) 이 분리되었으며 MeJA 처리에 의해 individual phenolic compound profile 의 변화가 관찰되었다. 이에 대한 선행연구로서, Watanabe and Ito (2002) 는 다 자란 일반 메밀에서 orientin, isoorientin, vitexin 및 isovitexin 은 존재한다고 보고하였으며, 그 중 루틴은 잎, 줄기, 꽃, 떡잎을 포함한 buckwheat organs 에 존재하는 일반적인 flavonoid 물질로서 다양한 기능성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다 (Kreft, Knapp, & Kreft, 1999, Margna, Margna, & Paluteder, 1990). MeJA 처리에 의한 메밀 새싹의 rutin, homoorientin, orientin 및 vitexin 의 개별 phenolic compound 의 변화는 다양한 기능성을 갖고 있는 것으로 알려진 루틴의 함량이 MeJA 를 처리하지 않은 대조구 (Control) 에 비해 MeJA 처리 시 꾸준히 증가하여 0.1 mM MeJA 처리구에서 823.4  $\mu\text{g/g}$  으로 약 39.42%, 2.0 mM MeJA 처리구에서는 895.7  $\mu\text{g/g}$  으로 약 51.66% 증가하였다 (**Fig. 49 (B)**). 루틴 함량의 변화도 총 페놀 함량의 변화와 같이 초기 농도에서 급격히 증가하는 것으로 나타났으나, 0.5 mM 농도 이상에서는 완만한 증가를 나타내었다. 반면 나머지 phenolic compound 에서는 큰 변화가 관찰되지 않았다 (**Fig. 49 (B)**). 이에 대한 선행연구로서, jimsonweed 에 MeJA 처리에 의하여 페놀성 물질의 함량이 증가하는 것을 보고하고 있으며, 이는 MeJA 처리가 phenol metabolism 에 영향을 주기 때문인 것으로 보고하고 있다 (Zabetakis 1999).

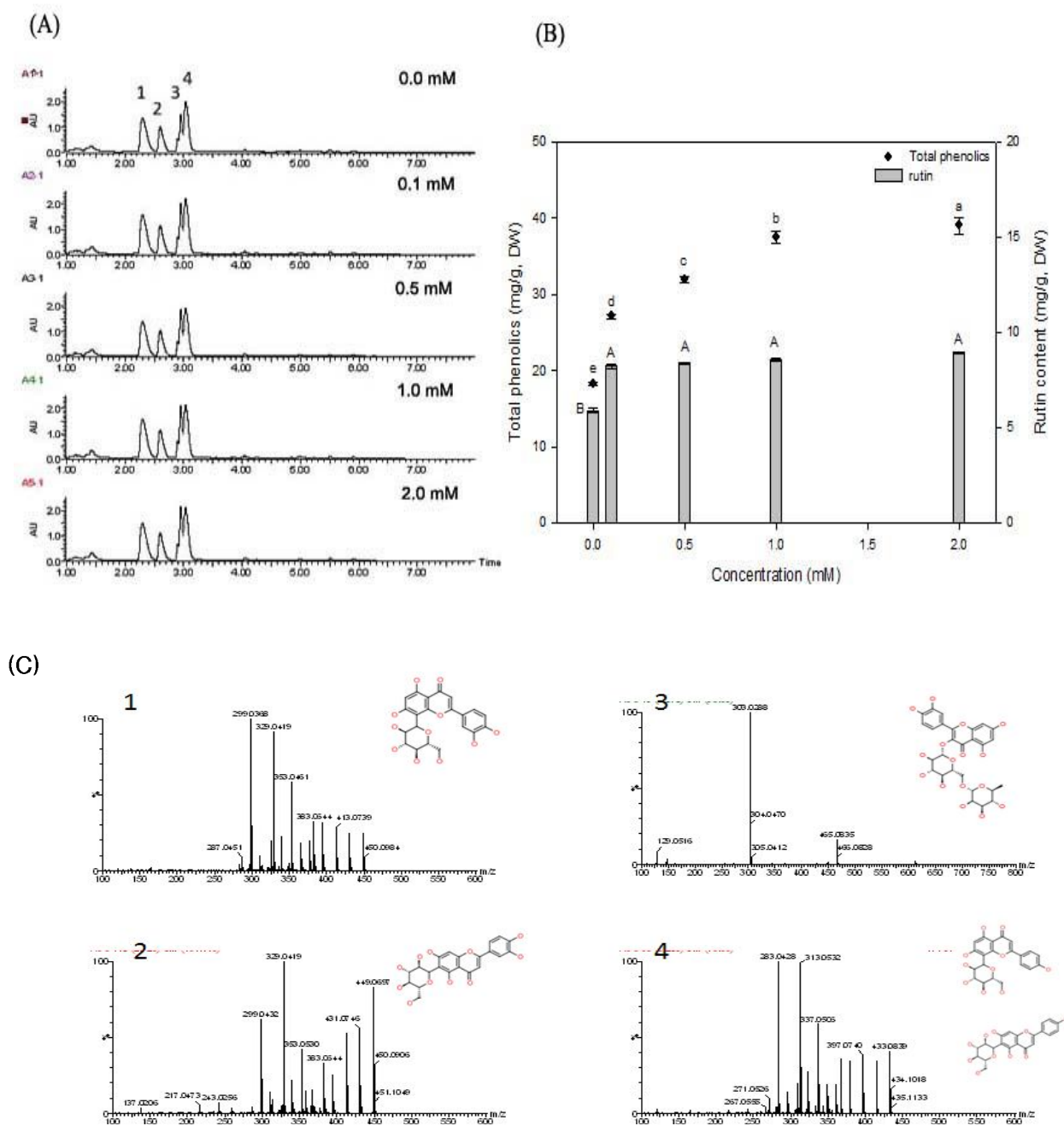


Fig. 49. UPLC chromatogram profiles (A) and Mass spectrum (C) (1) isorientin; (2) orientin; (3) rutin; (4) vitexin, and total phenolics contents (mg/g) and rutin contents (mg/g) (B) of ethanolic extracts of buckwheat sprouts treated with various Methyl Jasmonate concentrations.

Mean  $\pm$  standard deviation of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .



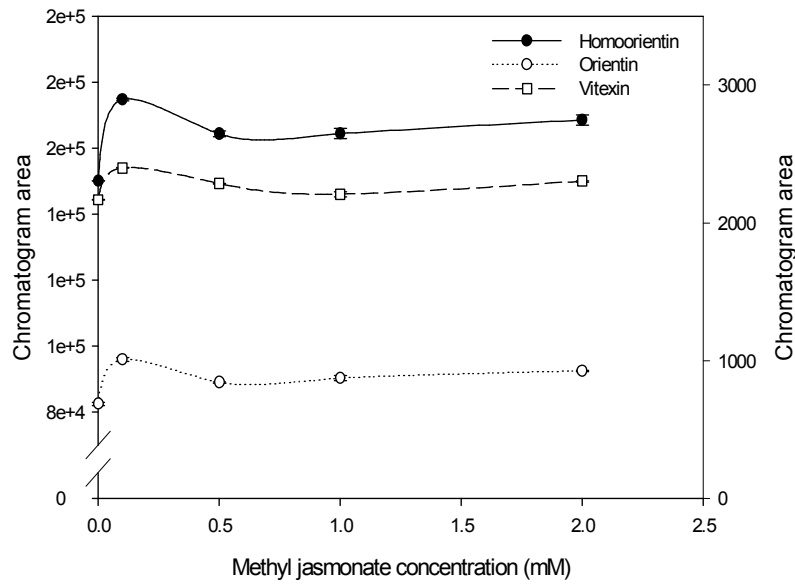


Fig. 50. Chromatogram area of homoorientin, orientin, and vitexin of buckwheat sprouts treated with various Methyl Jasmonate concentrations.

Average of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

(마) DPPH 라디칼 소거능

MeJA 처리에 의한 메밀 새싹의 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 대한 결과는 Fig. 51 에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능에 있어서 MeJA 처리구는 대조구에 비하여 유의적으로 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). DPPH 라디칼 소거능은 대조구와 비교하여 0.1 mM MeJA 처리구에서 약 27.64%, 1.0 mM MeJA 처리구에서 약 40.88% 로 MeJA 처리에 의하여 급격히 증가하였으며, 처리 농도에서는 1.0 mM 처리구에서 가장 높게 나타났다가 2.0 mM 처리구는 다소 감소하였다.

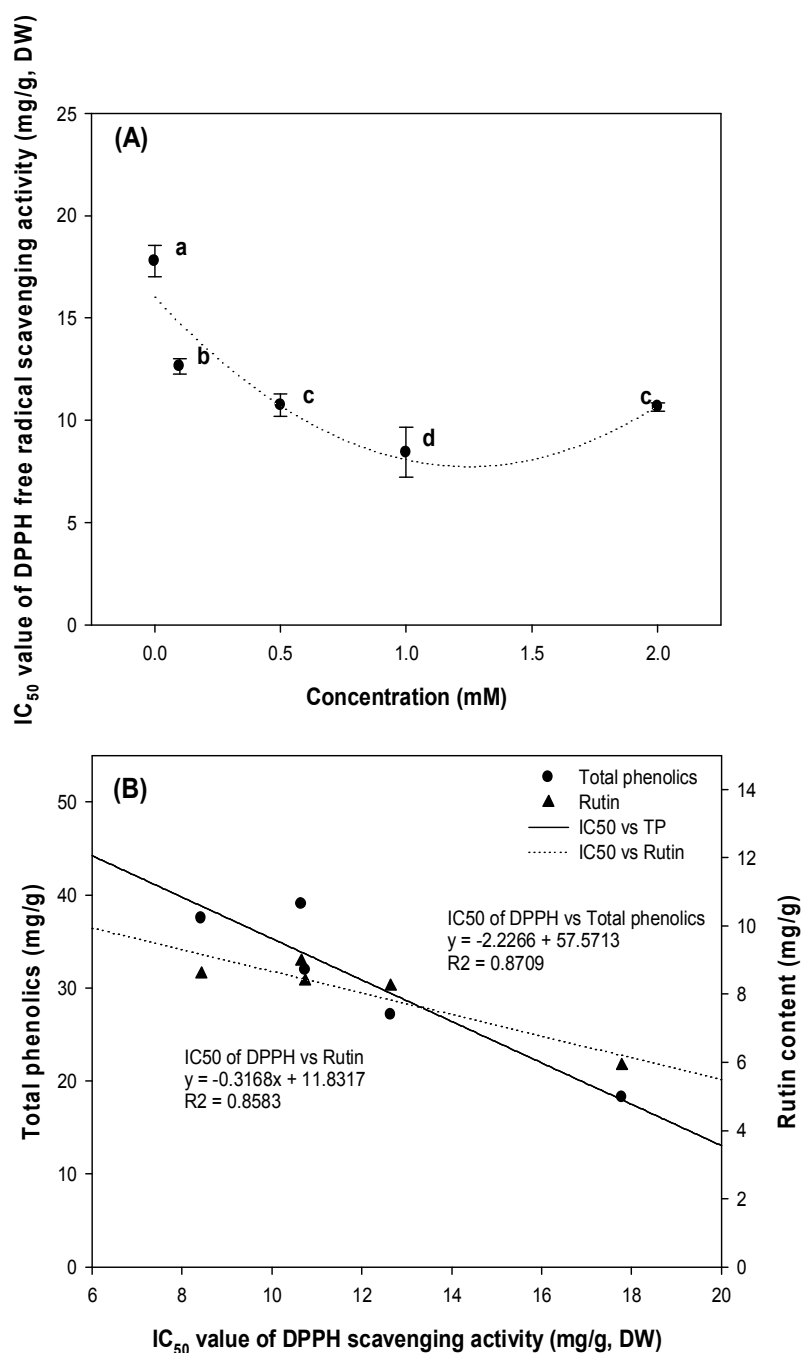


Fig. 51. IC<sub>50</sub> value of the DPPH radical scavenging activity (mg/g, A) and correlations (B) between IC<sub>50</sub> value of the DPPH radical scavenging activity and total phenolic contents (left y axis) and rutin contents (right y axis) for buckwheat sprouts treated with various Methyl Jasmonate concentrations.

Average of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

(바) Phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity assay

Phenolic compound 의 metabolism 은 다양한 효소의 활성화에 의해서 조절된다. 많은 식물에 있어서 phenylpropanoid skeleton 의 대사를 위해서 필요한 첫 번째 단계는 trans-cinnamic acid 와 ammonium 이 생성되는 L-phenylalanine 의 탈아미노화이다. 이러한 반응은 PAL 효소에 의해서 촉진되며, 일반적으로 phenolic compounds 의 biosynthesis 에 있어서 기본적인 효소로 알려지고 있다 (Dixon, 1995). PAL 활성화에 대한 조사는 MeJA 처리에 의한 메밀싹기름 채소의 phenolic metabolism 을 이해하는데 더 많은 도움을 줄 것이다. Fig. 52 에 나타난 것과 같이, 메밀 새싹에 있어서 PAL 활성화는 MeJA 처리에 의해 유의적인 ( $p < 0.05$ ) 증가를 나타내어 MeJA 처리에 의해서 영향을 받는 것으로 나타났다. 가장 높은 PAL 활성화는 2.0 mM MeJA 처리구로서 대조구의 활성화 보다 30% 이상 높게 나타내었으며, 1.0 mM 과 0.1 mM 처리구는 대조구에 비하여 약 22% 와 3% 증가를 나타내었다. 또한, 단백질의 함량에 있어서도 MeJA 처리가 약 54~93% 의 증가를 가져오는 것으로 나타나, 외부에 의한 stress가 단백질 함량과 PAL activity 를 동시에 증가시키는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 MeJA 처리가 PAL 의 활성을 통하여 romaine lettuce 에서 caffeic acid derivative 와 같은 phenolic compounds 의 축적을 야기시키며 (Kim 2007), 또한 elicitors 는 식물에 stress 를 주어 phenylpropanoid pathway 를 통하여 secondary metabolites 를 야기시키기 때문이라는 보고가 그 증거가 될 만하다 (Vander 1998).

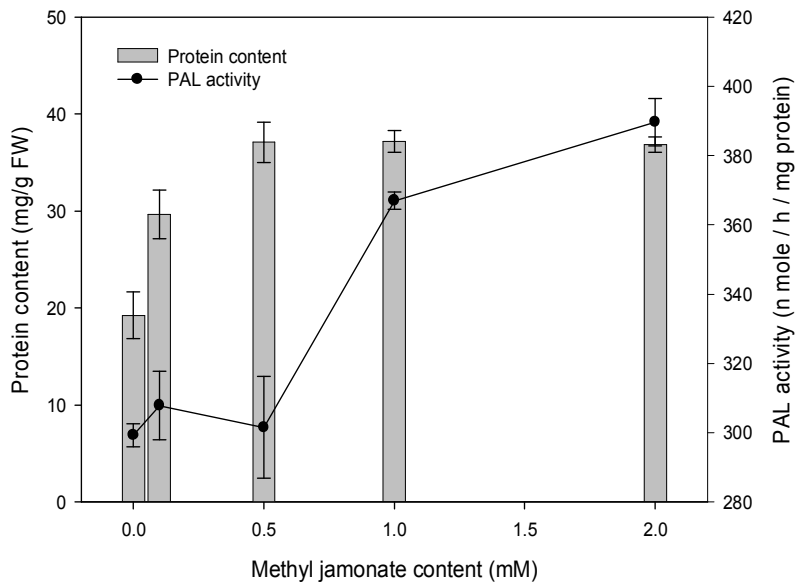


Fig. 52. PAL activity (n mole/h/mg protein) and protein content (mg/g FW) of buckwheat sprouts treated with various Methyl Jasmonate concentrations.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(사) 상관관계

DPPH 라디칼 소거능과 총 페놀 함량 및 phenolic compounds 와의 상관관계를 조사한 결과는 **Table 15** 와 같다. 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능의 상관성 ( $R^2$ ) 이 0.9358, 루틴 함량과의 상관성 ( $R^2$ )은 0.9230로 나타나 antioxidant activity 와 총 페놀 함량 및 루틴 함량과의 상관성이 매우 높음을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서 MeJA 처리한 메밀싹기름채소의 높은 DPPH 라디칼 소거능은 총 페놀 함량의 높은 수준과 관련이 되어 있으며, MeJA 처리에 의해서 야기된 phenolic compounds 의 증가에 의한 것으로 보여진다. 총 페놀 함량과 antioxidant activity 의 증가 사이의 상관성에 대한 유사한 결과는 wounding stress 한 감자에 대한 연구 (Reyes 2003) 와 pseudocereals seeds 연구에서도 페놀함량의 증가가 antioxidant activity 를 증가시키는 것으로 나타나고 있다 (Gorinstein 2007). 또한, MeJA 는 raspberries, strawberries and blackberries 와 같은 berry 과일에 antioxidant activity 를 풍부하게 하는 효과가 입증된바 있다 (Chanjirakul 2006, Chanjirakul 2007, Wang 2005, Ayala-Zavala 2005). 본 실험에서, MeJA 처리구는 대조구에 비하여 DPPH 라디칼 소거능이 유의적으로 높게 증가하였다. 이러한 결과는 MeJA 처리가 antioxidant activity 를 풍부하게 해줌으로서 메밀 새싹의 health benefit를 향상시켜 줄 수 있으며, 또한 새싹 채소에 다양한 응용성을 가져다 줄 수 있을 것이다.

Table 15. Correlation coefficients ( $R^2$ ) between assays

	Total phenolics contents	Rutin contents	DPPH radical scavenging activity
Total phenolics contents	1.0000	-	-
Rutin contents	0.9230 <sup>1)</sup>	1.0000	-
DPPH radical scavenging activity	0.9358*	0.9694**	1.0000

<sup>1)</sup>\*: significant at  $p < 0.05$ , \*\*: significant at  $p < 0.001$ .

(아) 결론 및 요약

이 연구에서 stress signal transduction 의 주요 구성 물질로 잘 알려진 MeJA 를 7일 동안 메밀싹기름채소에 처리한 후, 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능에서 유의적인 증가를 나타내었다. 더하여, phenolic compound 의 생성에 있어서 phenylpropanoid metabolism 의 주요한 열쇠인 PAL 의 활성 또한 MeJA 의 처리에 의하여 증가하였다. 그러나 고농도의 처리에

서 무게중량 및 수분함량이 감소하는 결과도 나타났다. MeJA 처리에 의한 메밀싹기름채소의 다양한 2차적인 대사과정에 대한 추가적인 연구는 필요할 것으로 판단된다. 그러나 본 연구에서 MeJA 처리가 메밀싹기름채소의 영양적 가치에 유의적인 효과를 줄 수 있고 메밀 새싹의 섭취를 통하여 health benefit 를 향상시켜 줄 수 있으며, 또한, 새싹 채소의 섭취를 위한 다양한 응용성을 가져다 줄 수 있을 것이다.

## (2) Methyl Jasmonate 처리에 따른 수확일별 및 처리 주기에 따른 품질 특성 변화

### (가) 재료

○ 본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하였다.

○ 수확일별 품질 특성 변화를 조사하기 위하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 9일간 일정온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MeJA 을 0.1 mM 농도로 발아 후부터 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였으며, 2일 간격으로 샘플을 채취하여 실험에 사용하였다.

○ 처리 주기에 따른 품질 특성 변화를 조사하기 위하여 MeJA 을 0.1 mM 농도로 발아 직후 1회 (G1D), 수확 직 전 일 1회 (G4D), 발아 후 1, 3, 5일 (G135D) 및 1일 1회 (GAD)로 구분하여 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

### (나) 수확일별 품질특성 변화

MeJA 메밀싹기름채소의 생장 기간 중 기능성 성분의 증가에 대하여 알아본 결과는 Fig. 53, 54 와 같다. MeJA 처리는 발아 후 총 페놀 함량이 약 2.06 mg/g 에서 발아 5일 후 약 23.41 mg/g 로 매우 급격히 증가하였고, 5일 이후에는 그 값이 유사하여 발아 7일 후 약 23.48 mg/g 를 나타내었다. 이에 반하여 대조구는 발아 3일까지 총 페놀 함량이 급격히 증가한 후 7일 (약 15.17 mg/g) 까지 큰 변화를 나타내지 않았다. 총 페놀 함량에 있어서 적정 수확 시기는 발아 후 5일경으로 판단되었다. MeJA 처리한 메밀싹기름채소의 IC<sub>50</sub> 값은 발아 후 약 7.47 mg/g 에서 발아 5일 후 약 0.65 mg/g 로 약 11배 이상 증가한 반면, 대조구는 발아 후 약 7.71 mg/g 에서 발아 5일 후 약 1.59 mg/g 로 약 4.8배 증가하는 것으로 나타났다. 실험결과 MeJA 처리구가 대조구에 비하여 약 2.4배 이상 항산화 활성이 높은 것으로 나타났는데, 이는 총 페놀 함량과도 유사한 결과를 나타내었다.

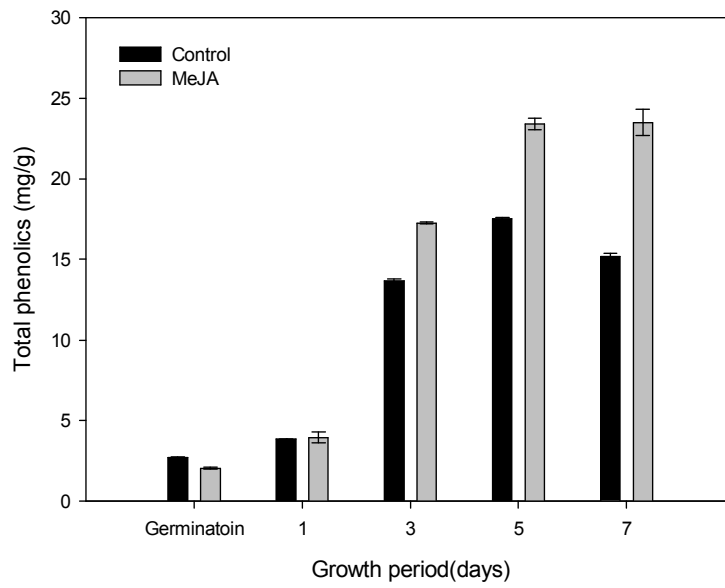


Fig. 53. Total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with 0.1 mM Methyl Jasmonate during growth period.

Average of triplicate determination, on a dry basis.

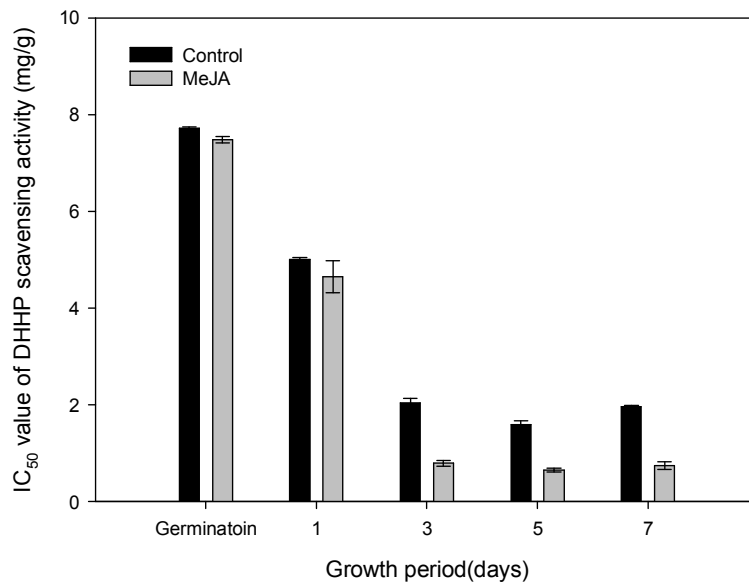


Fig. 54.  $IC_{50}$  value of DPPH radical scavenging activity (mg/g) of buckwheat sprouts treated with 0.1 mM Methyl Jasmonate during growth period.

Average of triplicate determination, on a dry basis.

(다) 처리 주기에 따른 품질특성 변화

메밀 새싹의 MeJA 처리에 의한 기능성 성분의 증가에 대하여 알아본 결과는 Fig. 55~57 과 같다. 총 페놀 함량의 변화는 수확 기간 중 1회 처리구에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 3회 이상 처리 시 대조구와 유의적인 차이를 나타내었다. 처리구 중 G135D 와 GAD 는 대조구에 비하여 각각 약 37% 와 42% 의 총 페놀 함량 증가를 나타내었다. 또한, DPPH 라디칼 소거능도 총 페놀 함량과 유사한 경향을 나타내어 수확 중 1회 처리한구는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. G135D 와 GAD 의 경우 대조구에 비하여 약 1.7~2배 정도 증가하는 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 메밀기름새싹 재배 시 자기방어 작용의 회복 능력을 보여주는 것으로서 새싹 재배 시 MeJA 의 최소 처리 횟수 설정을 위한 중요한 정보로 판단할 수 있다. 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능의 상관관계를 비교한 결과는  $R^2 = 0.9627$  ( $p < 0.05$ ) 로서 매우 높은 상관성이 있는 것으로 나타났다 (Table 16).

Table 16. Correlation coefficients ( $R^2$ ) between total phenolics contents and  $IC_{50}$  value of DPPH radical scavenging activity

	Treatment		Total
	Control	MeJA	
Correlation	0.9431	0.9392	0.9333
T-test	0.067	0.050	0.004

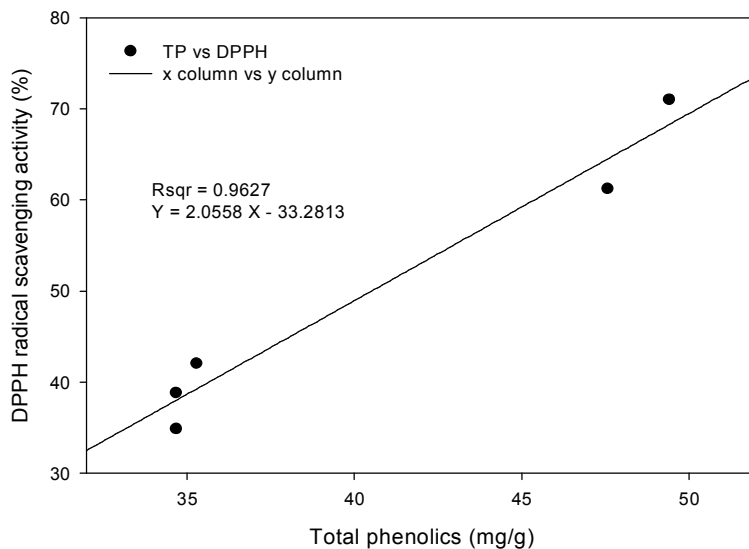


Fig. 55. Correlations between DPPH radical scavenging activity and total phenolics contents for buckwheat sprouts under different Methyl Jasmonate treatments.

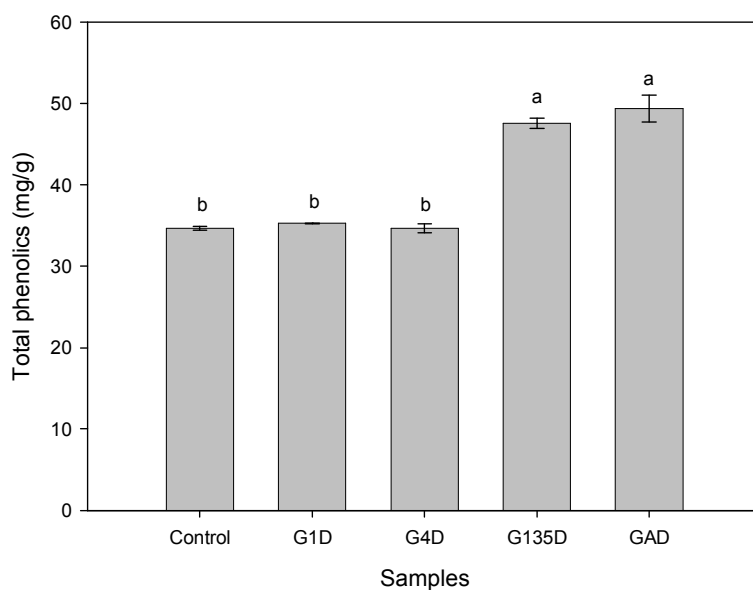


Fig. 56. Total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with Methyl Jasmonate.

Average of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ . Treatment: Control. G1D: After germination 1 day, G4D: After germination 4 day, G135D: After germination 1, 3 and 5 days, GAD: After germination all days.

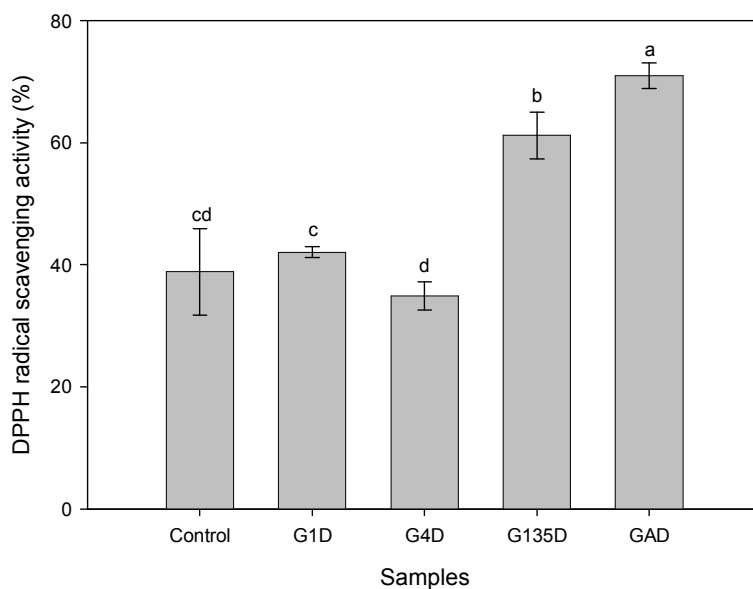


Fig. 57. DPPH radical scavenging activity (%) of buckwheat sprouts treated with Methyl Jasmonate.

Average of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ . Treatment: Control. G1D: After germination 1 day, G4D: After germination 4 day, G135D: After germination 1, 3 and 5 days, GAD: After germination all days.



## 나. 염화물 처리에 따른 메밀싹기름채소의 품질 특성 변화

### (1) 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7 일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 염화물을 10, 50, 100 및 200 mM 의 농도로 1 일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다.

### (2) 발아율

메밀싹기름채소의 발아는 10 mM 의 NaCl 농도에서 유의적인 증가를 나타낸 반면, 그 이상의 NaCl 농도에서는 발아가 저해되는 것으로 나타났다. 메밀싹기름채소의 발아는 10 mM 과 50 mM 처리에 의해서 약 22% 와 12% 가 증가하였으며, 100 mM 과 200 mM 의 처리농도에서는 각각 약 7% 와 38% 의 감소를 나타내었다 (Fig. 58). 유사하게, Scialabba 등 (Scialanna 등. 1990) 은 radish seeds 의 germination 에 0.5% 농도의 NaCl 처리가 유의적인 감소를 가져온다고 하였으며, pepper, tomato, broccoli, lettuce 및 beetroot 을 포함한 다양한 vegetable 의 종류에도 동일한 결과를 나타내고 있다 (Zapata, Serrano, Pretel, Amoros & Botella, 2004).

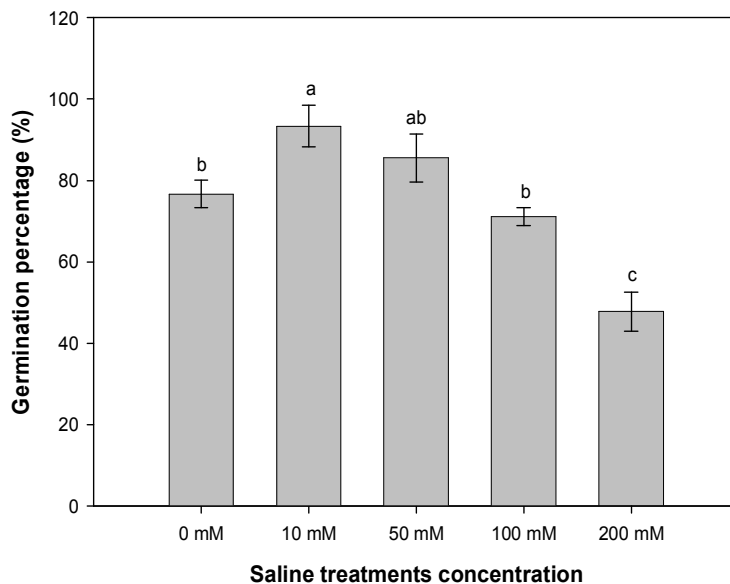


Fig. 58. Germination percentage of buckwheat seeds under different saline treatments (0, 10, 50 and 100 mM of NaCl).

Data are the mean of 3 trays containing 100 seeds each (mean  $\pm$  standard error). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

### (3) Fresh weight

Fig. 59 는 모든 buckwheat sprouts 의 fresh weight 는 생장기간 동안 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 발아 후 3 일까지는 처리구간 fresh weight 의 유의적인 차이를 식별할 수 없었으나, 발아 5 일 이 후부터는 fresh weight 는 NaCl 10 mM 처리구가 대조구에 비하여 증가하는 것으로 나타내었고, NaCl 50 mM 이상 처리구에서는 fresh weight 가 대조구에 비하여 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. NaCl 10 mM 을 처리한 메밀싹의 5 일과 7 일째 fresh weight 는 각각 약 6% 와 3% 증가하는 것으로 나타난 반면, NaCl 100 mM 의 농도에서는 각각 약 14% 와 18% 가 감소하는 것으로 나타났다. 이는 0.1% NaCl 농도 처리가 radish sprouts 의 fresh weight 에 긍정적인 영향을 나타낸다고 (Scialabba 1990) 한 반면, Yanhai 등 (2008) 은 NaCl 100 mM 의 처리 농도에서 성장이 감소하는 경향을 나타내었으며, Zahar & Muhammad (2009) 는 NaCl 120 mM 처리가 다양한 품종의 완두콩에서 약 50~70% 의 fresh weight 감소를 나타낸 것으로 보고하고 있다. NaCl 처리가 fresh weight 에 부정적인 영향을 주는 것은 삼투작용의 스트레스에 의한 성장저해에 의한 것으로 보여진다. 또한, 이러한 염에 의한 생장의 저해는 특별한 ion toxicity에 의해서 생성될 수도 있다 (Huang and Redmann, 1995).

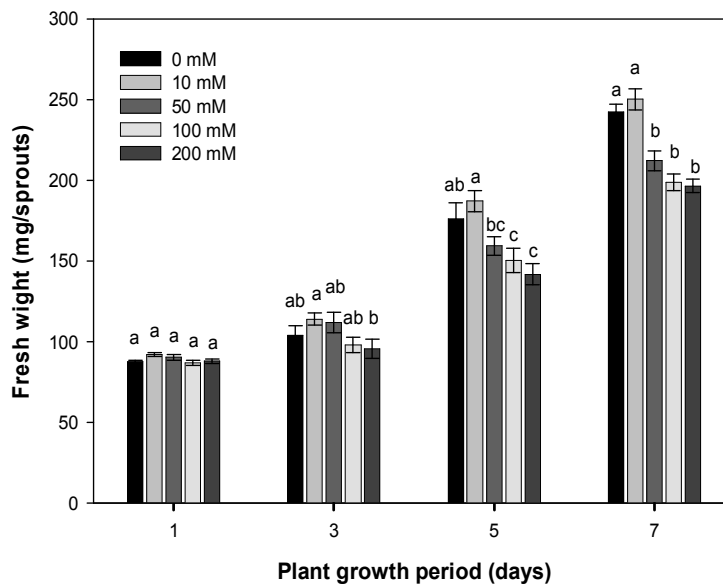


Fig. 59. Fresh weight per buckwheat sprouts under different saline treatments (0, 10, 50, 100 and 200 mM of NaCl).

Each data is the mean of three replicates of 40 sprouts per treatment and time point (mean  $\pm$  standard error). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

(4) 총 페놀 함량

다양한 농도의 NaCl 처리에 의한 총 페놀 함량 변화는 Fig. 60 에 나타내었다. NaCl 처리구는 성장기간 동안 대조구에 비하여 그 값이 모두 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 특히, 100 mM NaCl 처리는 총 페놀 함량의 증가가 가장 높게 나타났으며, 3-day-old sprouts 와 7-day-old sprouts 에서 각각 약 217.38 mg/g 와 341.95 mg/g 로 대조구에 비하여 약 30% 와 112% 의 증가를 나타내었다. 일반적으로 식물의 phenolic compounds 는 phenylpropanoid pathway 를 통해서 생성되고, 그들은 환경적인 stresses 와 elicitor 에 의해서 야기된다 (Giorgi 등, 2009; Kim 등, 2006). 식물의 phenolic compounds 는 salt stress 에 의해서 변화될 수 있으며, 식물의 salt sensitivity 에 의존성을 가지고 있다 (kim 등, 2008). 또한, 다양한 secondary metabolites 는 식물의 구조보다 stress tolerance 에 더 큰 영향을 받는다 (Ruiz and Romero, 2001). 본 실험에서 NaCl 처리에 의해 buckwheat sprouts 의 페놀 함량이 유의적으로 증가한 것과 관련하여, ksouri 등 (2007) 도 *Cakile maritima* 에 NaCl 의 처리에 의한 총 페놀 함량이 증가하였다고 하였으며, Navarro 등 (2006) 도 red pepper의 페놀 함량을 증가시키기 위하여 염의 처리가 유용하다고 한 결과를 보고하고 있다.

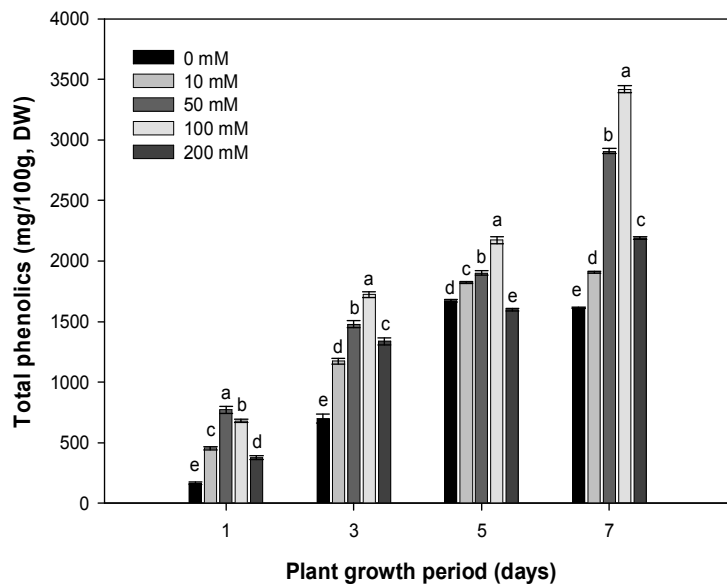


Fig. 60. Total phenolics contents (mg/100g, DW) of buckwheat sprouts under different saline treatments (0, 10, 50, 100 and 200 mM of NaCl).

Each data is the mean of three replicates per treatment and time point (mean ± standard error). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

(5) DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화활성을 측정된 결과는 Fig. 61 에서와 같이 총 페놀 함량의 변화와도 유사한 경향을 나타내었다. 메밀싹기름채소의 성장 기간 동안 항산화활성은 증가하는 것으로 나타났으며, 대조구의 경우 발아 5일 이 후에는 동일한 효과를 나타낸 반면, 처리구에서는 다소 증가하는 것으로 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 생육기간 중 처리구가 대조구에 비하여 약 20~30% 이상 높게 나타났다.

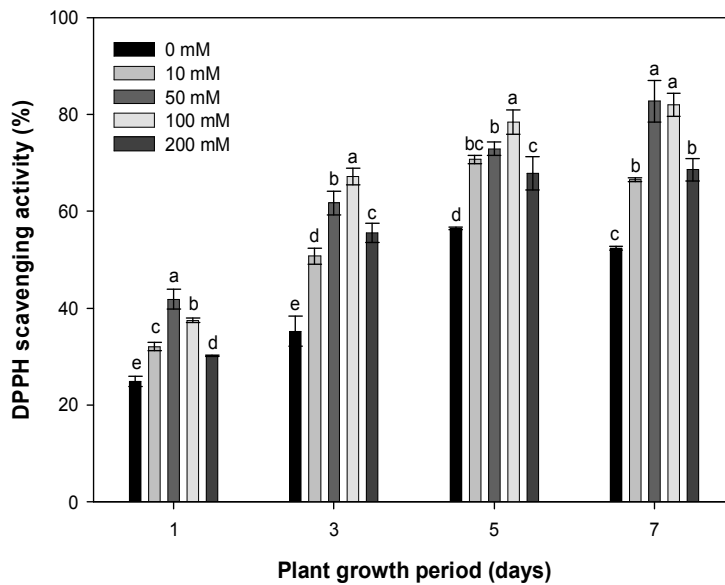


Fig. 61. DPPH radical scavenging activity (%) of buckwheat sprouts under different saline treatments (0, 10, 50, 100 and 200 mM of NaCl).

Each data is the mean of three replicates per treatment and time point (mean ± standard error). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

(6) 루틴 함량

루틴 함량의 경우 Fig. 62 에서와 같이 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능과 동일한 경향을 나타내고 있으며, 함량의 차이는 더욱 크게 나타났다. 생육기간 중 5일 이후에는 대조구의 루틴 함량이 증가하지 않고 있으나, 처리구에서는 크게 증가하는 것으로 나타났다. 처리 농도 100 mM 농도까지는 지속적인 증가를 나타내는 것으로 보이며, 생육 정도와 비교할 때도 대조구에 비하여 생육정도는 다소 낮으나 100 mM 농도까지의 처리구는 상품적인 측면에서도 우수한 것으로 판단되었다.

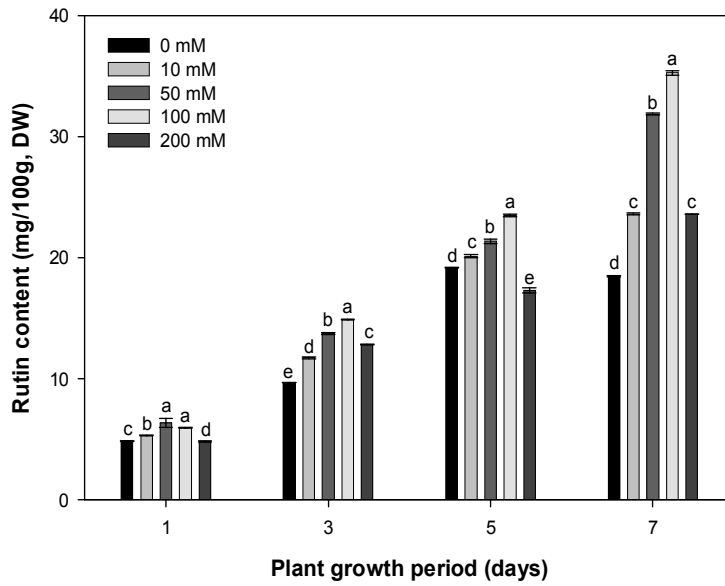


Fig. 62. Rutin contents (mg/g, DW) of buckwheat sprouts under different saline treatments (0, 10, 50, 100 and 200 mM of NaCl).

Each data is the mean of three replicates per treatment and time point (mean  $\pm$  standard error). Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .

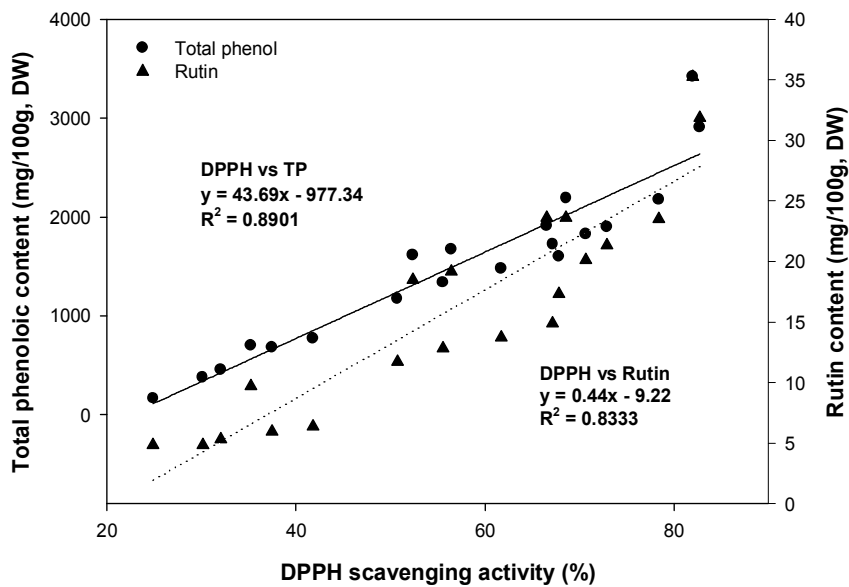


Fig. 63. Correlations between DPPH radical scavenging activity and total phenolics contents (left y axis) and rutin contents (right y axis) for buckwheat sprouts under different saline treatments (0, 10, 50, 100 and 200 mM of NaCl).

Samples used correspond on the 1, 3, 5 and 7 day after sprouts.

(7) 상관분석

루틴 함량, 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능의 상관관계를 조사한 결과 (Fig. 63), DPPH 라디칼 소거능과 총 페놀 함량과의 상관관계는  $y = 43.69x - 977.34$ ,  $R^2 = 0.8901$  로, DPPH 라디칼 소거능과 루틴 함량과는  $y = 0.44x - 9.22$ ,  $R^2 = 0.8333$  으로 높은 상관관계를 나타내었으며, 그 중 총 페놀 함량과 더욱 높은 상관관계를 나타냈다.

#### 4. 병행 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름체소의 품질 특성 변화

##### 가. MeJA에 대한 UV-B 및 light 병행 처리 조건 설정

###### (1) UV-B 처리 조건 설정

본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7 일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 UV-B 처리는 처리시간별 (0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 및 120 min) 로 발아 후부터 수확 일까지 1일 1회 첨가적으로 처리하였다. 처리한 결과 총 페놀 함량은 처리시간 45분까지 다소 증가하는 것으로 나타났으나, 60분 이후에서는 감소하였다. 관능적인 측면에서도 처리기간 30분까지는 대조구와 유사한 생육을 나타낸 반면, 45분 이상의 처리에서는 관능적인 품의가 감소하여 처리 조건에서 30분이 가장 우수한 것으로 선별할 수 있었다.

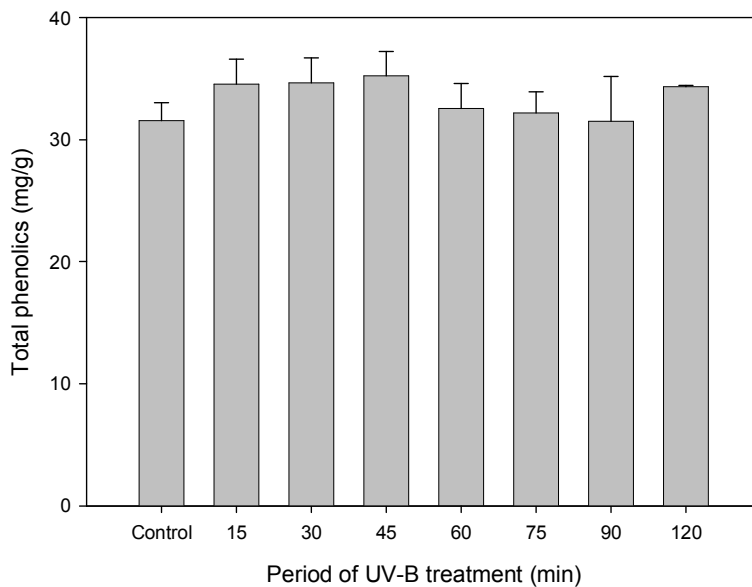


Fig. 64. Total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with UV-B. Average of triplicate determination, on a dry basis.

## (2) Light 처리 조건 설정

Light 병행처리는 UV-B 처리구의 생육 상태와 총 페놀 함량을 비교하여 얻은 처리 한계 시간인 30분을 기준으로 하여 light 처리기간에 따른 증가효과를 조사하였다. 처리 조건은 새싹 재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7 일간 일정온도에서 성장시켰으며, 성장 중 UV-B 처리는 30분, light 처리는 처리시간별 (1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7 hr) 로 발아 후부터 수확 일까지 1일 1회 첨가적으로 처리하였다. 처리한 결과 light 처리에 따른 총 페놀 함량의 증가는 이루어지고 있으며 처리시간 4시간 이후에는 큰 차이를 나타내지 않았다. UV-B 30분 처리구는 대조구에 비하여 9%의 기능성분이 증가하는 것으로 나타난 반면, light 처리 4 hr 과의 병행 처리 시 24% 이상의 증가효과를 나타내었다. 관능적인 측면에서도 light 처리는 메밀싹기름채소의 색을 유색화 시키는 것으로 나타났으며, 처리시간 4 hr 초과에서는 유색화의 정도가 크게 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 UV-B 와 light 처리의 병행 처리 효과는 UV-B 처리 30분과 light 처리 4 hr 이 적절한 것으로 판단되었다.

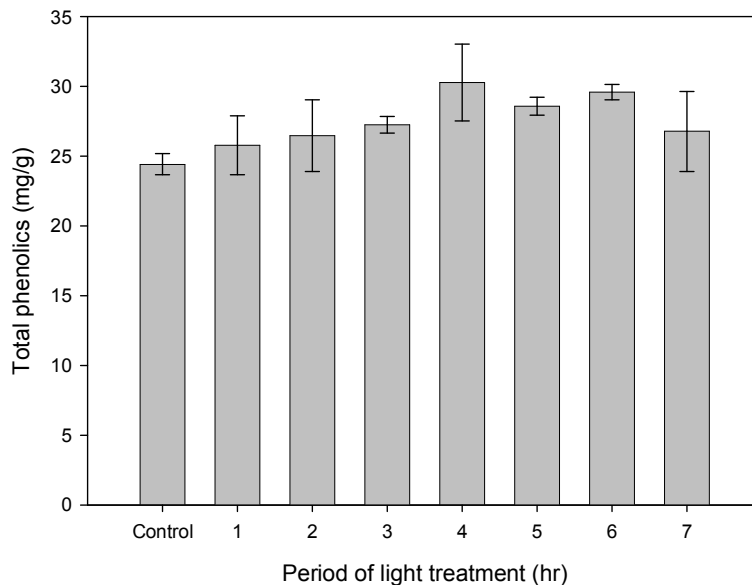


Fig. 65. Total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with UV-B and light.

Average of triplicate determination, on a dry basis.

(3) 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능 및 루틴 함량

MeJA 0.1 mM 처리와 UV-B 및 light 처리구의 생육 상태와 총 페놀 함량을 비교하여 얻은 처리 조건인 UV-B (30min), light (4 hr) 를 병행하여 총 페놀 함량을 비교하였다 (Fig. 66). MeJA 0.1 mM 처리는 본 연구에서 대조구에 비하여 약 80% 정도의 증가효과를 나타내는 것으로 조사되었다. 같은 조건에서 UV-B 병행 처리구는 대조구에 비하여 약 85% 이상 증가하여 MeJA 단독 처리구와 유사한 것으로 나타난 반면, light 를 병행 처리한 구는 대조구에 비하여 약 117% 이상 증가하여, MeJA 처리구에 비하여도 약 35% 이상 증가되는 것으로 조사되었다. MeJA, light 및 UV-B 를 병행 처리한 구는 MeJA 단독 처리구에 비하여 약 20% 이상 증가되는 것으로 조사되었으나, MeJA+light 처리구에 비하여는 감소하는 것으로 나타났다. 또한 DPPH 라디칼 소거능 (%) 에서도 대조구에 비하여 처리구가 약 15% 이상 증가하는 것으로 나타났으며 (Fig. 67), 그 중 MJ+light 처리구는 약 30% 이상 증가하였으며, 루틴 함량에 있어서도 대조구에 비하여 처리구가 약 30% 이상 증가하는 것으로 나타났으며 (Fig. 68), 그 경향은 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능의 경향과 유사하게 나타나고 있으며, 그 중 MJ+light 처리구가 약 80% 이상 증가하여 가장 높은 처리 효과를 나타내었다.

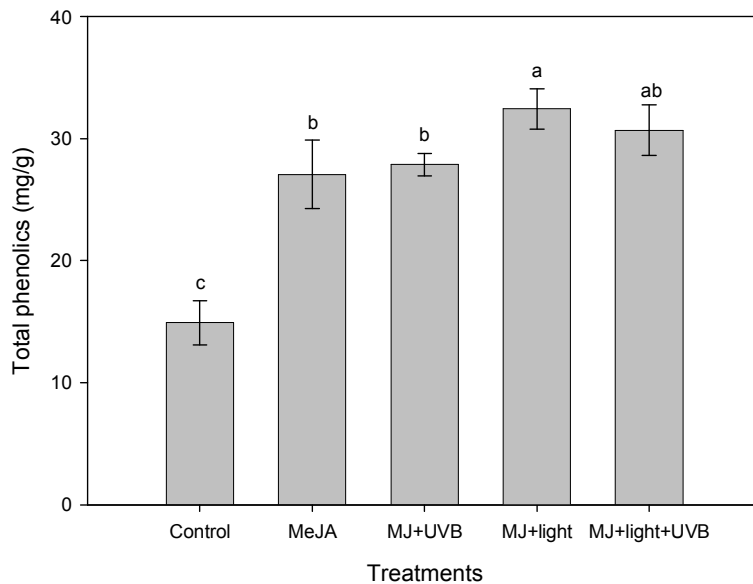


Fig. 66. Total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with different treatment.

Average of triplicate determination, on a dry basis. Values not sharing a common letter are significantly different at  $p < 0.05$ .



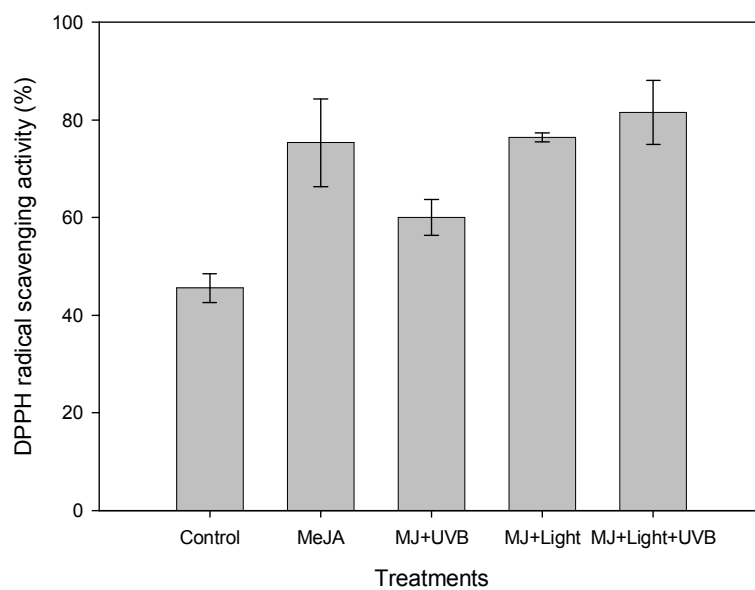


Fig. 67. DPPH radical scavenging activity (%) of buckwheat sprouts treated with different treatment.

Average of triplicate determination, on a dry basis.

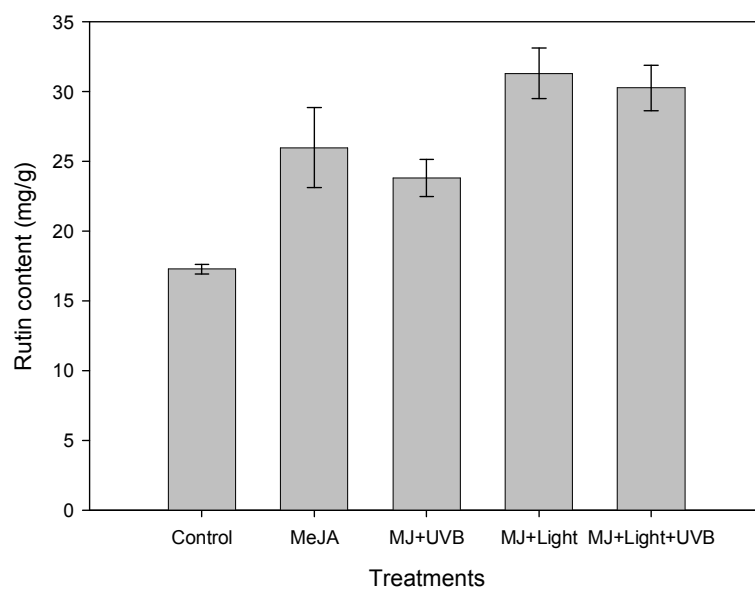


Fig. 68. Rutin contents (mg/g) of buckwheat sprouts treated with different treatment.

Average of triplicate determination, on a dry basis.

## 나. MeJA에 대한 염화물 병행 처리 조건 설정

### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자 200 g 를 세척 후 1,000 mL 의 물에 침지 후 25°C 의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 5 개의 실험군으로 균등하게 분할하여 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7 일간 18°C 의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀싹이 발아하기 시작하면 각 실험군에 10 mM 또는 50 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 5시간의 간격을 두고 스프레이로 분주하여 처리하였으며, 발아가 시작되는 발아 1일 경과 후부터 3일 그리고 5일 경과 후 각각 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시 -70°C 의 온도에서 동결하였으며, 동결된 메밀싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea)로 분쇄한 후 60 mesh (850  $\mu\text{m}^2$ ) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

### (2) 길이 변화

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 길이의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 69 에 나타내었다. 대조구를 포함한 모든 군에서 생육기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 길이는 약 3.13~4.55 cm 에서 약 11.06~12.98 cm 로 약 167.91~314.70% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소 길이를 측정된 결과 대조구와 비교하여 10 mM 및 50 mM NaCl 와 0.1 mM MeJA 의 처리에 따른 큰 차이는 보이지 않는 것으로 나타났다. 따라서 NaCl 및 MeJA의 처리가 메밀싹기름채소의 길이 변화 즉, 생육 및 성장에 있어서는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

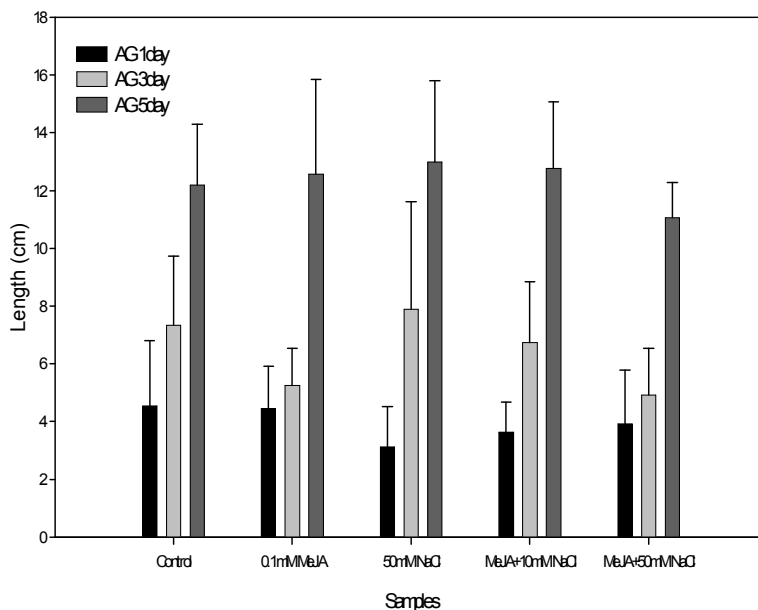


Fig. 69. Changes of length (cm) with combined treatment of NaCl and MeJA during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

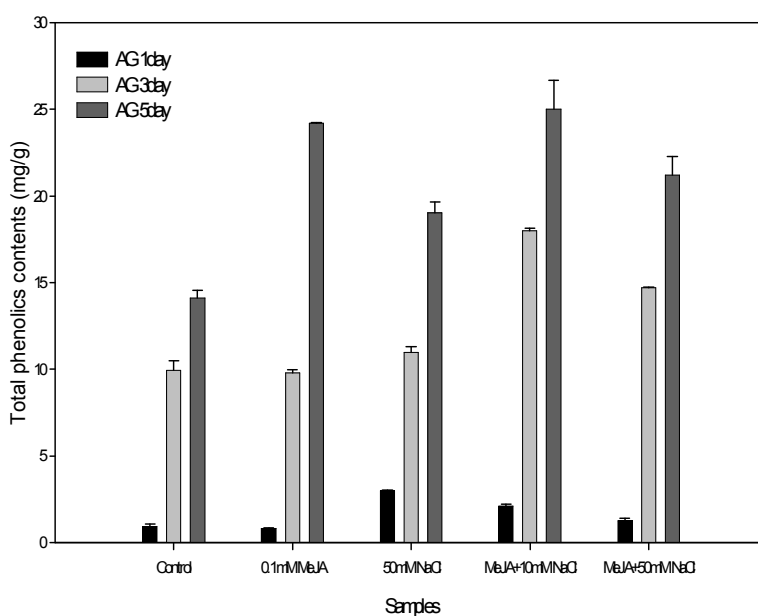


Fig. 70. Changes of total phenolics contents (mg/g) with combined treatment of NaCl and MeJA during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

### (3) 총 페놀 함량

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 70** 에 나타내었다. 생육기간이 경과함에 따라 총 페놀 함량은 대조구를 포함한 모든 군에서 증가하였으며, 특히, 10 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 경우 발아 1일 경과 후 약 2.10 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 17.97 및 24.99 mg/g 로 증가하였으며, 이는 대조구에 비하여 각각 약 131.63, 80.71 및 77.12% 높게 나타나 총 페놀 함량이 가장 높을 뿐만 아니라 생육기간 경과에 따른 총 페놀 함량의 증가율도 가장 큰 것으로 나타났다. 50 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 총 페놀 함량도 대조구에 비해 각각 약 39.07, 47.76 및 50.15% 높은 것으로 나타났다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육 기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 증가에 유용한 영향을 미치는 것으로 사료된다.

### (4) DPPH 라디칼 소거능

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 71** 에 나타내었다. 100 mg% 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 생육기간이 경과함에 따라 약 11.40~16.49% 에서 약 94.62~95.29% 로 대조구를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능은 대조구를 포함한 모든 군에서 큰 차이를 보이지 않는 것으로 나타났으나 발아 3일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 10 mM NaCl 및 50 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 경우 대조구에 비해 각각 약 68.71 및 39.75% 높은 것으로 나타나 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 특히, 발아 후 3일 동안 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능과 연관성을 가지며 항산화 활성에 유용한 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

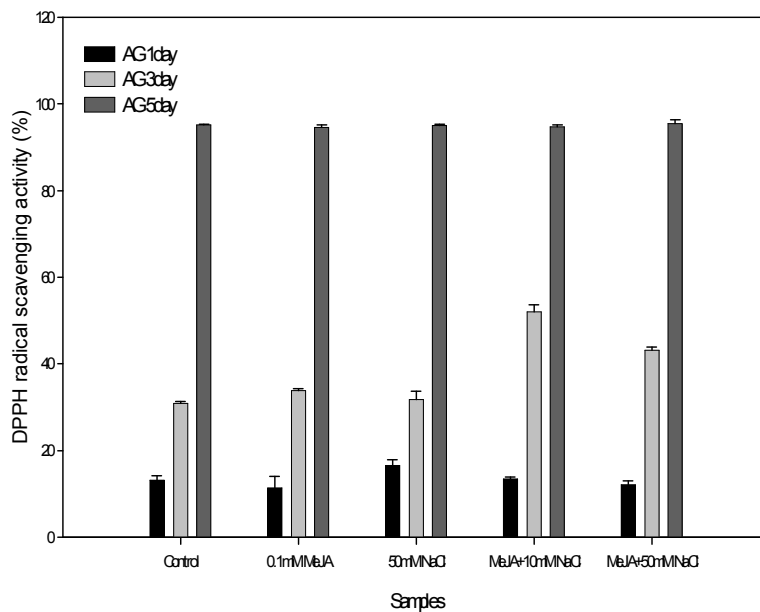


Fig. 71. Changes of DPPH radical scavenging activity (%) in 100 mg% concentration with combined treatment of NaCl and MeJA during germination time of buckwheat sprouts. All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

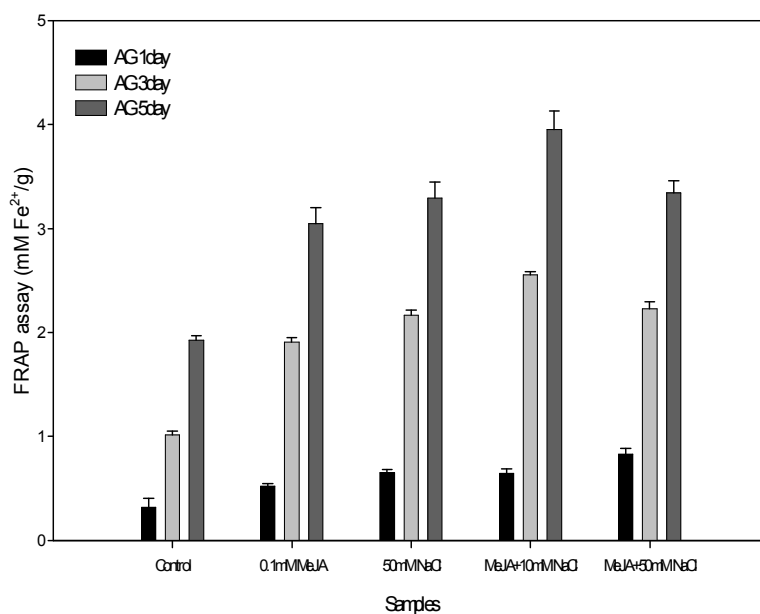


Fig. 72. Changes of frap assay (mM Fe<sup>2+</sup>/g) with combined treatment of NaCl and MeJA during germination time of buckwheat sprouts. All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

#### (5) Frap assay

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 frap assay 에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 72** 와 같다. 생육기간이 경과함에 따라 대조구를 포함한 모든 군에서 frap assay 가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 10 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.10 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 4.74 및 7.28 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 증가하였으며, 이는 대조구에 비해 각각 약 6.01, 79.20 및 86.13% 높은 값으로 모든 군을 통틀어 frap assay 값이 가장 높은 것으로 나타났다. 50 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 frap assay 측정결과 또한 대조구에 비해 약 55.28~54.34% 높은 것으로 나타나 MeJA 와 NaCl 병행처리가 메밀싹기름채소의 frap assay 에 유용한 영향을 미친다는 것을 확인하였다.

#### (6) 루틴 함량

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 루틴함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 73** 에 나타내었다. 생육기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 루틴 함량은 약 1.79~2.74 mg/g 에서 약 15.96~24.81 mg/g 로 대조구를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, 10 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 루틴 함량은 발아 1일 경과 후 약 2.20 mg/g 로 대조구의 루틴 함량인 약 2.27 mg/g 와 비슷한 것으로 나타났으나, 발아 3일 및 5일 경과 후에는 각각 약 14.77 및 24.81 mg/g 로 증가하여 대조구에 비해 각각 약 69.01 및 55.44% 높은 것으로 나타났다. 50 mM NaCl 과 0.1 mM MeJA 을 병행 처리한 실험구의 루틴 함량 역시 발아 1일 경과 후에는 대조구와 비슷하게 나타났으나, 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 12.09 및 21.84 mg/g 로 대조구에 비해 각각 약 38.37 및 36.84% 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 루틴 함량에 영향을 미친다는 것을 나타내며, 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와 유사한 경향을 나타내고 있다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행처리는 총 페놀 함량에 유용한 영향을 미치며 연관성이 있는 루틴 함량에도 영향을 미쳐 항산화활성을 증가시키는 것으로 사료된다.

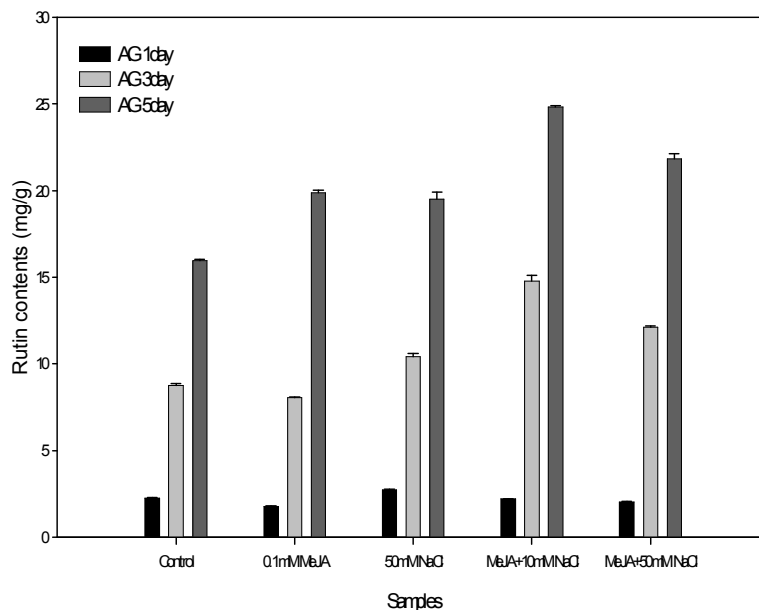


Fig. 73. Changes of rutin contents (mg/g) with combined treatment of NaCl and MeJA during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

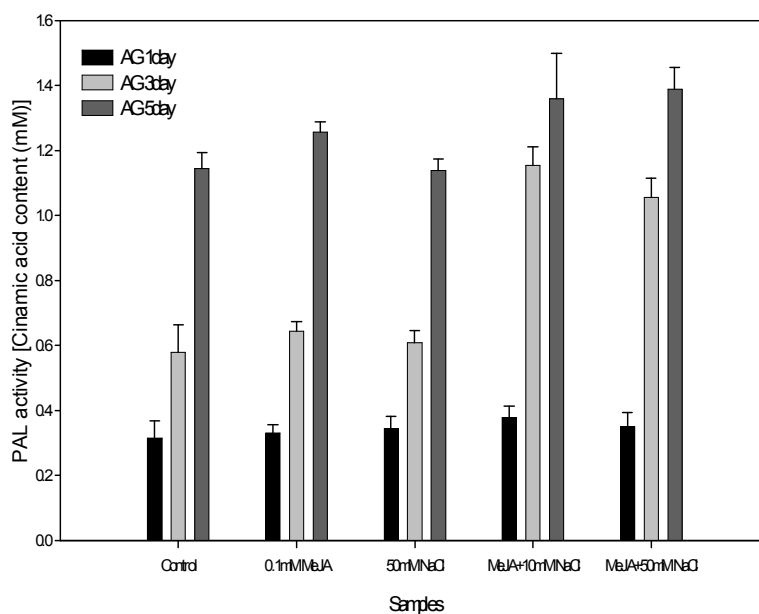


Fig. 74. PAL activity (cinamic acid content (mM)) of buckwheat sprouts under different treatments.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

(7) 상관분석

메밀싹기름채소의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량의 관련성을 알아보기 위하여 상관분석을 실시한 결과는 **Table 17** 에 나타내었다. 메밀 새싹의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량 모두 양의 상관관계를 나타내어 총 페놀 함량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능과 frap assay 및 루틴 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 즉, 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량은 모두 높은 상관성을 지니고 있는 것으로 확인되었으며, 이러한 상관분석의 결과는 99.9%의 신뢰수준( $p \leq 0.001$ )을 나타내었다.

Table 17. The correlation analysis of total phenolics contents, DPPH radical scavenging activity, frap assay and rutin contents of buckwheat sprouts

	Total phenolics contents	DPPH radical scavenging activity	Frap assay	Rutin contents
Total phenolics contents	1.0000	0.9120 <sup>**1)</sup>	0.9946 <sup>**</sup>	0.9804 <sup>**</sup>
DPPH radical scavenging activity	-	1.0000	0.9119 <sup>**</sup>	0.9559 <sup>**</sup>
Frap assay	-	-	1.0000	0.9833 <sup>**</sup>
Rutin contents	-	-	-	1.0000

<sup>1)\*\*</sup>: significant at  $p < 0.001$ .

(8) 결론 및 요약

MeJA 처리구와 엽화물의 병행처리에 대한 효과를 검토하였다. 본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 대조구, MeJA 처리구, 엽화물 처리구 (50 mM), MeJA+엽화물 10 mM, MeJA+엽화물 50 mM 로 구분하여 처리하였다. 생육기간 중 메밀싹기름채소의 길이의 변화를 측정하여 생육특성을 조사하였으며, 수확시기에 각각의 길이는 약 11~12 cm 범위로서 시료간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 고농도의 엽화물 처리에서는 다소 감소하는 경향을 보였다. 총 페놀 함량의 경우 대조구에 비하여 처리구는 모두 증가하였으며, MeJA 처리구는 약 50% 내외의 증가율을 보인 반면, 엽화물 혼합 처리구는 약 100% 이상의 증가를 나타내어 혼합처리의 효과가 있음을 알 수 있었다. DPPH 라디칼 소거능에 있어서도 총 페놀 함량과 유사한 경향을 나타내었으나, 그 차이는 크게 나타나지 않았고, 루틴 함량에 있어서 엽화물과



MeJA 혼합처리구가 약 50% 이상의 증가를 나타내어 MeJA 처리구의 약 24% 증가에 비하여 2배의 상승효과를 가져오는 것으로 나타났다. MeJA와 염화물의 혼합처리는 총 페놀 함량, 루틴 함량 및 DPPH 라디칼 소거능에서 MeJA+염화물 10 mM > MeJA+염화물 50 mM > MeJA 처리구 ≥ 염화물 처리구 (50 mM) > 대조구 순으로 나타나, 염화물과의 병행처리에 의한 상승효과를 나타내었다.

#### 다. MeJA에 대한 염화물과 light 병행 처리 조건 설정

##### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자 200 g 를 세척 후 1,000 mL 의 물에 담귀 25 ± 2°C 의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 5 개의 실험군으로 균등하게 분할하여 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7일간 18 ± 2°C 의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀싹이 발아하기 시작하면 대조구를 포함한 모든 실험군에 light 를 4시간 처리한 후 10 mM 또는 50 mM NaCl 및 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 5 시간의 간격을 두고 스프레이로 분주하여 처리하였으며, 발아가 시작되는 발아 후 1일 경과 후부터 5일 그리고 7일 경과 후 각각 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시 -70 ± 5°C 의 온도에서 동결하였으며, 동결된 메밀싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 μm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

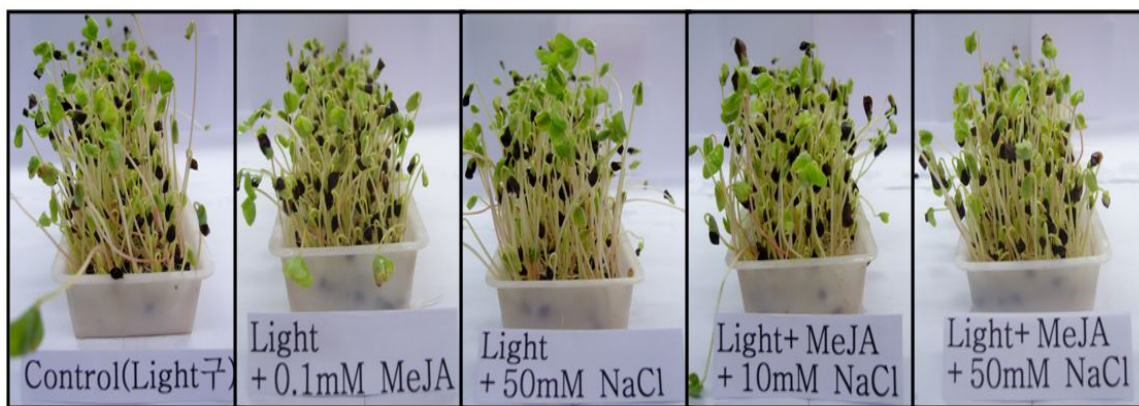


Fig. 75. Changes of appearance with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

## (2) 외관 변화

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 외관의 변화를 알아보기 위하여 발아 5일 경과 후 비교 촬영한 사진을 **Fig. 75** 에 나타내었다. 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 실험군의 잎은 녹색 빛을 강하게 띄고 있으며 줄기 부분은 붉은 빛을 약간 띄는 것으로 나타났으며, 이것은 light 처리에 의한 영향으로 판단되어지나 메밀싹기름채소의 길이 및 생육 정도는 외관상으로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 큰 차이를 보이지 않는 것으로 확인되었다. 즉 light 처리한 메밀싹채소에 MeJA 및 NaCl을 처리하여도 메밀싹기름채소의 생육에 있어서는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어진다.

## (3) 길이 변화

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 길이의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 76** 에 나타내었다. 생육기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 길이는 약 2.31~3.15 cm 에서 약 8.54~11.40 cm 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 실험구에서 약 189.52~362.66% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 길이를 측정된 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 처리한 실험구 (L-50N) 의 길이가 가장 긴 것으로 나타났다. 생육기간이 경과함에 따른 메밀싹기름채소의 길이 증가율은 대조구 (L-Co) 가 가장 높은 것으로 나타났으나 발아 후 3일 경과 후까지의 길이 증가율은 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 에서 가장 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 처리한 실험구 (L-50N) 의 길이 증가율 또한 대조구 (L-Co) 의 길이 증가율보다 높은 것으로 나타났다. 즉 light 처리한 메밀싹기름채소에 NaCl을 처리할 경우 생육기간 동안 메밀싹기름채소의 길이성장에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었으며, 생육기간을 어느 정도 조절한다면 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 와 NaCl 을 병행 처리할 경우에도 메밀싹기름채소의 길이성장에 긍정적인 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

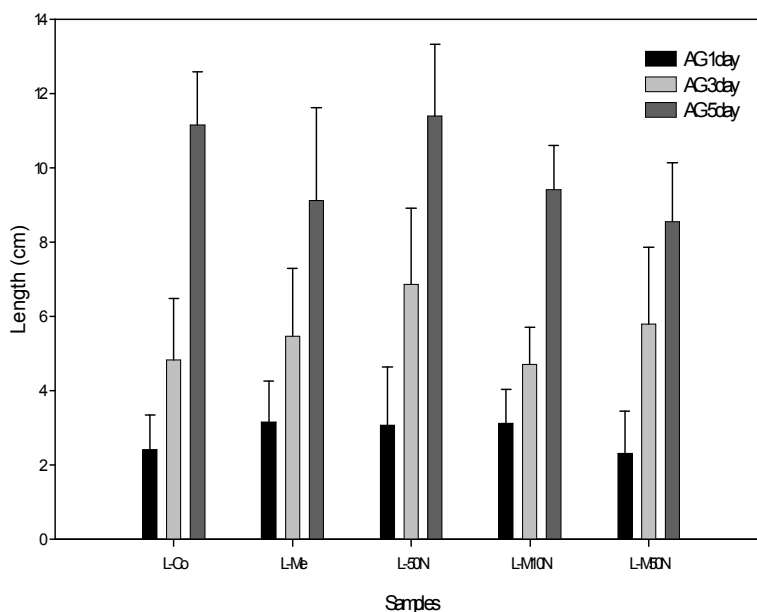


Fig. 76. Changes of length (cm) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

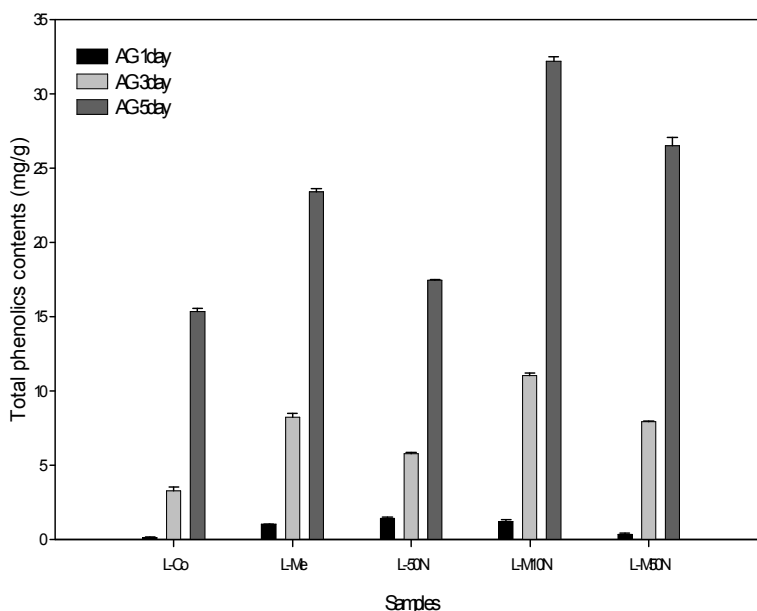


Fig. 77. Changes of total phenolics contents (mg/g) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

#### (4) 총 페놀 함량

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 77** 에 나타내었다. 생육기간 동안 총 페놀 함량은 약 0.12~1.40 mg/g 에서 약 15.36~32.21 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 1.18 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 11.05 및 32.21 mg/g 로 증가하였는데 이는 대조구 (L-Co) 에 비하여 각각 약 886.54, 236.86 및 109.70% 높은 값으로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 총 페놀 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.34 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 7.91 및 26.50 mg/g 로 증가하여 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 185.58, 141.07 및 72.55% 높은 값으로 나타났다. 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량을 측정한 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl을 병행 처리한 실험구(L-M10N) 의 총 페놀 함량이 약 32.21 mg/g 로 가장 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N), light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 을 단독 처리한 실험구 (L-Me) 및 light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 총 페놀 함량이 각각 약 26.50, 23.37 및 17.45 mg/g 로 대조구 (L-Co) 의 총 페놀 함량에 비해 높은 것으로 나타났다. 즉, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 대조구 (L-Co) 뿐만 아니라 MeJA 또는 NaCl 를 단독 처리한 실험구 (L-Me 또는 L-50N) 보다도 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타나 MeJA 및 NaCl 이 light 처리한 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량에 유용한 영향을 미칠 뿐만 아니라 특히 MeJA 와 NaCl 을 병행처리 할 경우 그 효과는 더욱 증가하는 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 MeJA 의 처리에 따라 후지 사과와 산딸기의 총 페놀 함량이 증가되었다는 선행연구 뿐만 아니라 MeJA 의 처리가 페놀의 신진대사에 영향을 미쳐 흰 꽃 독말풀의 페놀성 화합물 함량을 증가시켰다는 Zabetakis 등의 보고와도 유사한 경향을 나타낸다. 또한 NaCl 처리가 *cakile maritima* 와 red pepper 의 총 페놀 함량의 증가에 유용한 영향을 미친다는 Ksouri 등과 NaVarro 등의 연구결과도 본 실험의 결과와 유사하게 나타났으며, 따라서 많은 선행 연구에서 총 페놀 함량의 증가에 긍정적인 효과를 미치고 있는 것으로 확인되어지고 있는 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리함으로써 생육 기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 증가에 MeJA 단독 처리로 나타나는 효과 이상의 유용한 영향을 가지고 올 수 있을 것으로 사료된다.

#### (5) DPPH 라디칼 소거능

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 78** 에 나타내었다. 100 mg% 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과, 생육기간 동안 약 5.8~11.93% 에서 약 55.02~94.25% 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 발아 1일 경과 후 DPPH 라디칼 소거능이 약 8.71% 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 41.63 및 94.25% 로 약 981.61% 증가하는 것으로 나타났으며, 이는 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 증가율로 생육기간에 따른 DPPH 라디칼 소거능의 증가율이 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 에서 가장 높은 것으로 확인되었다. 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 대조구 (L-Co) 에 비해 약 71.30% 높은 값으로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 대조구 (L-Co) 에 비해 약 64.98% 높은 것으로 나타났다. 이는 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 를 단독 처리한 실험구 (L-Me) 및 light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 DPPH 라디칼 소거능이 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 44.97 및 5.25% 높게 나타난 것과 비교하여 더 높은 증가율을 보이는 것으로 나타났다. 즉 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 또는 NaCl 를 단독 처리한 실험구 (L-Me or L-50N) 의 DPPH 라디칼 소거능은 대조구 (L-Co) 에 비하여 높은 것으로 나타났으나 MeJA 및 NaCl을 병행 처리한 실험구 (L-M10N 및 L-M50N) 의 DPPH 라디칼 소거능에 비하면 낮은 것으로 나타나 MeJA 또는 NaCl의 단독처리도 light 처리한 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향은 미치지만 특히 MeJA와 NaCl을 병행처리 할 경우 그 효과는 더욱 증가하는 것으로 사료된다. Light 처리한 메밀싹기름채소에의 MeJA 및 NaCl 병행처리가 항산화 물질에 의한 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향을 미친다는 이와 같은 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와도 유사한 경향을 보이며, 이는 wounding-stress potatoes 에서 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능의 항산화력에 영향을 미친다는 Reyes and Cisneros-Zevallos 의 보고와 pseudocereals seeds 에서도 페놀성 화합물의 함량이 항산화 활성에 영향을 미친다는 Gorinstein 등의 보고에서도 입증됨으로 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능과 연관성을 가지며 항산화 활성에 유용한 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

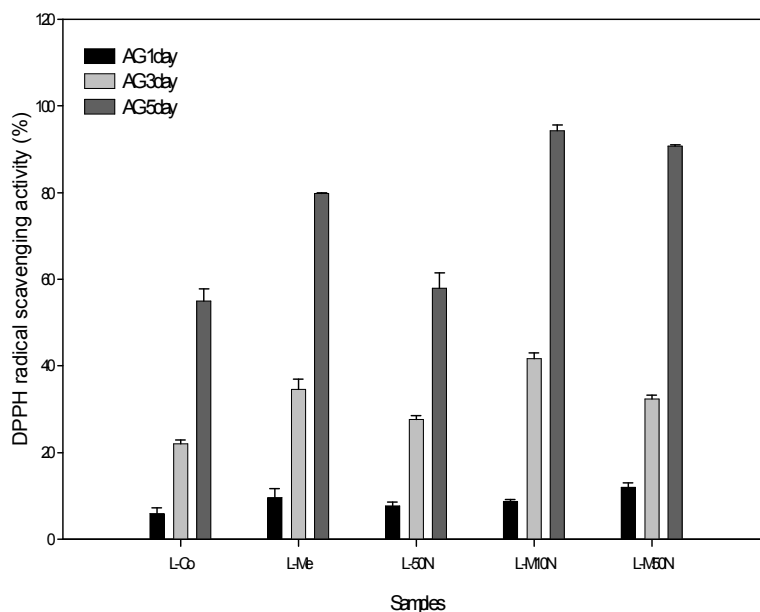


Fig. 78. Changes of DPPH radical scavenging activity (%) in 100 mg% concentration with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

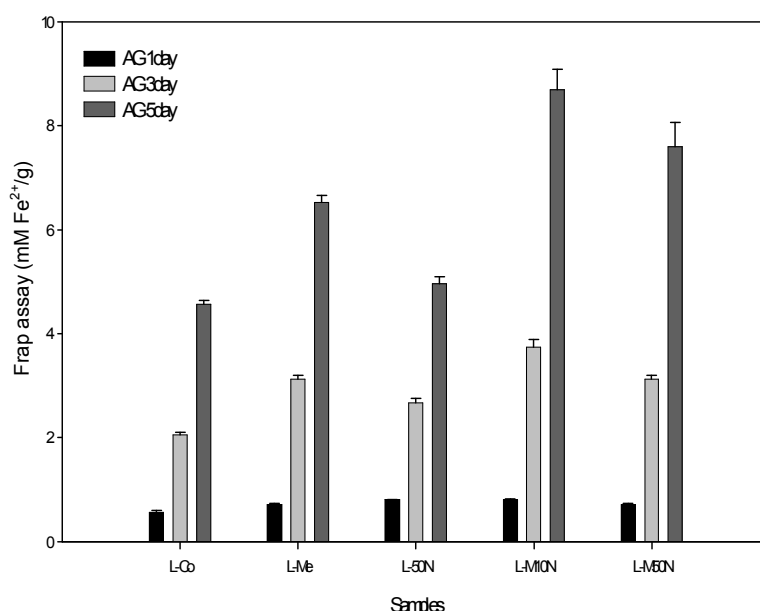


Fig. 79. Changes of frap assay (mM Fe<sup>2+</sup>/g) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

## (6) Frap assay

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 frap assay에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 79** 와 같이 약 0.57~0.82 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 약 4.56~8.69 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 생육기간이 경과함에 따라 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.71 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 3.12 및 7.59 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 24.80, 51.41 및 66.36% 높은 것으로 나타났으며, 생육기간이 경과함에 따른 frap assay 증가율이 약 969.25% 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 것으로 나타났다. Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.82 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 3.75 및 8.69 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 43.36, 81.79 및 90.52% 높은 것으로 나타났으며, 생육기간이 경과함에 따라 약 966.01% 증가하는 것으로 나타났다. 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 frap assay 를 측정된 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 frap assay 값이 8.69 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 90.52% 높은 값으로 나타났으며, 이는 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 값으로 나타났다. 또한 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 frap assay 값이 7.59 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 66.36% 높은 값으로 나타나 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 단독 처리한 실험구 (L-Me) 및 NaCl 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 발아 5일 경과 후 frap assay 값이 각각 약 6.52 및 4.97 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 42.96 및 8.83% 높은 것으로 나타난 것에 비해 높은 frap assay 값을 보여주고 있음을 확인하였다. 즉 MeJA 또는 NaCl 의 처리가 light 처리한 메밀싹기름채소의 frap assay 에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었으며 특히, MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 light 처리한 메밀싹기름채소의 frap assay 에 미치는 유용한 영향은 더욱 증대될 뿐만 아니라 메밀싹기름채소의 생육기간이 경과함에 따른 frap assay 증가율에도 긍정적인 효과를 보이는 것으로 사료된다.

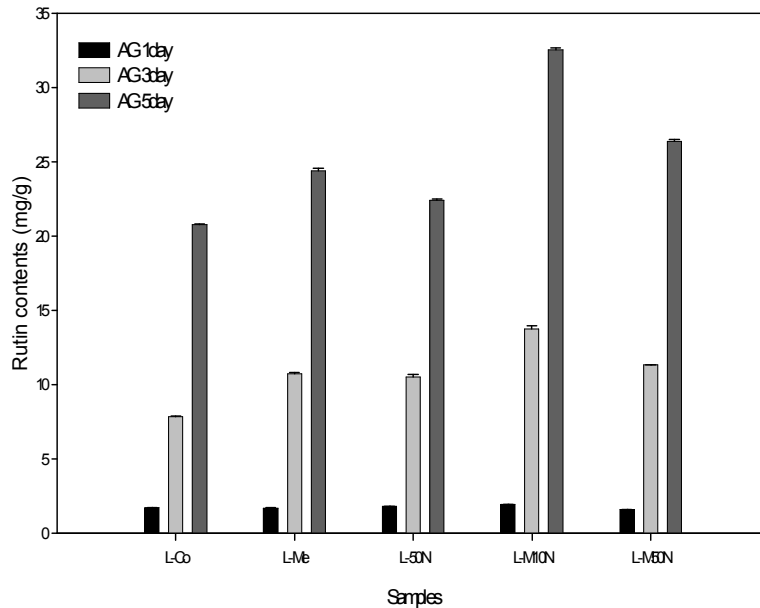


Fig. 80. Changes of rutin contents (mg/g) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

(7) 루틴 함량

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 루틴함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 80** 에 나타내었다. 생육기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 루틴 함량은 약 1.60~1.92 mg/g 에서 약 20.75~32.55 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 루틴 함량을 측정된 결과 발아 1일 경과 후 약 1.92 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 13.75 및 32.55 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 12.41, 75.29 및 56.85% 높은 것으로 나타났으며, 생육기간이 경과함에 따른 루틴 함량의 증가율은 약 1592.85% 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 것으로 나타났다. Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 발아 1일 경과 후 루틴 함량이 약 1.60 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 11.32 및 26.37 mg/g 로 생육기간이 경과함에 따라 약 1547.60% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 3일 및 5일 경과 후의 루틴 함량은 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 44.36 및 27.05% 높은 것으로 나타났다. 발아 5일 경



과 후 수확한 메밀싹기름채소의 루틴 함량을 측정한 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 루틴 함량은 32.55 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 56.85% 높은 것으로 나타났으며, 이는 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 함량으로 나타났다. 또한 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 루틴 함량은 약 26.37 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 27.05% 높은 것으로 나타난 반면 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 단독 처리한 실험구(L-Me) 및 50 mM NaCl 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 발아 5일 경과 후의 루틴 함량이 각각 약 24.41 및 22.42 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 17.61 및 8.04% 높은 것으로 나타나 MeJA 또는 NaCl의 처리가 light 처리한 메밀싹기름채소의 루틴 함량에 유용한 영향을 미칠 뿐만 아니라 MeJA 및 NaCl을 병행 처리할 경우 그 효과는 더욱 증대되는 것으로 확인되었으며, 메밀싹기름채소의 생육기간이 경과함에 따른 루틴 함량의 증가에도 긍정적인 효과를 보이는 것으로 사료된다. 이러한 실험 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와 유사한 경향을 나타내고 있는데, 이는 무순의 페놀성 화합물의 증가가 루틴 항산화활성의 증가에 영향을 미친다는 Barillari 등의 보고에서도 확인되었으며, 따라서 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리는 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량에 유용한 영향을 미치며 페놀 함량과 연관성을 가지고 있는 루틴 함량에도 영향을 미칠 뿐만 아니라 결과적으로 메밀싹기름채소의 항산화활성을 증가시키는데 영향을 미치는 것으로 사료된다.

#### (8) 유리당 함량

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 유리당 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 18** 에 나타내었다. 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 메밀싹기름채소의 maltose 함량은 발아 1일 경과 후 약 58.08~70.45 mg/g 에서 발아 3일 경과 후 약 72.31~82.19 mg/g 로 증가하였다가 발아 5일 경과 후 약 49.88~82.05 mg/g 로 다시 감소하는 것으로 나타났으나 메밀싹기름채소의 fructose 및 glucose 함량이 각각 약 0.00~4.36 mg/g 에서 약 45.89~103.60 mg/g 로, 약 21.67~31.53 mg/g 에서 약 158.26~278.41 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타나 생육기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 총 유리당 함량 역시 약 82.12~103.83 mg/g 에서 약 277.20~432.49 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타났다. 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 유리당 함량 측정 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 총 유리당 함량이 약 432.49 mg/g 로 대조구 (L-Co) 의 총 유리당 함량에 비해 약 7.15% 높은 것으로 나타나 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 것으로 나타났으나

light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 를 단독 처리한 실험구 (L-Me) 와 MeJA 및 10 mM 또는 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N 및 L-M50N) 의 경우 발아 5일 경과 후의 총 유리당 함량이 대조구 (L-Co) 의 총 유리당 함량에 비해 다소 낮은 것으로 나타났다. 발아 3일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 유리당 함량 측정 결과 역시 light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 을 단독 처리한 실험구 (L-50N) 의 총 유리당 함량이 약 242.11 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 14.78% 높은 것으로 나타나 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 균을 통틀어 가장 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 약 224.49 mg/g, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 약 217.76 mg/g로 대조구 (L-Co) 의 총 유리당 함량에 비해 각각 약 6.42 및 3.23% 높은 것으로 나타나 메밀싹기름채소의 생육기간만 조절한다면 light 처리한 메밀 새싹에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리하는 것이 메밀싹기름채소에 함유되어 있는 유리당 함량의 증가에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 기대되어진다.

Table 18. Changes of free sugar contents (mg/g) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light

Samples <sup>1)</sup>	Fructose <sup>2)</sup>	Glucose <sup>2)</sup>	Maltose <sup>2)</sup>	Lactose	Sucrose	Total <sup>2)</sup>	
L-Co	AG 1 day	1.64 ± 0.03	21.67 ± 1.67	60.08 ± 0.24	-	-	83.39 ± 1.46
	AG 3 day	21.03 ± 4.25	111.24 ± 8.06	78.68 ± 1.02	-	-	210.94 ± 4.83
	AG 5 day	95.45 ± 5.66	249.51 ± 27.47	58.66 ± 0.70	-	-	403.62 ± 32.43
L-Me	AG 1 day	3.73 ± 1.79	29.13 ± 3.81	68.84 ± 1.15	-	-	101.69 ± 3.17
	AG 3 day	13.43 ± 2.45	114.75 ± 2.02	72.31 ± 0.75	-	-	200.49 ± 5.23
	AG 5 day	45.89 ± 0.60	177.12 ± 0.14	54.19 ± 1.14	-	-	277.20 ± 0.41
L-50N	AG 1 day	4.36 ± 0.11	29.01 ± 0.45	70.45 ± 0.27	-	-	103.82 ± 0.62
	AG 3 day	25.23 ± 0.81	134.69 ± 0.04	82.19 ± 0.10	-	-	242.11 ± 0.75
	AG 5 day	100.56 ± 2.78	278.41 ± 1.25	53.52 ± 0.17	-	-	432.49 ± 3.86
L-M10N	AG 1 day	3.66 ± 0.00	31.53 ± 1.43	70.03 ± 0.04	-	-	103.39 ± 3.99
	AG 3 day	19.44 ± 0.62	130.33 ± 8.00	74.71 ± 0.10	-	-	224.49 ± 8.71
	AG 5 day	69.66 ± 0.85	237.19 ± 2.69	49.88 ± 0.31	-	-	356.73 ± 3.23
L-M50N	AG 1 day	-	24.04 ± 0.04	58.08 ± 0.71	-	-	82.12 ± 0.75
	AG 3 day	18.37 ± 3.24	126.76 ± 6.81	72.63 ± 0.10	-	-	217.76 ± 10.14
	AG 5 day	103.60 ± 2.82	158.26 ± 4.76	82.05 ± 2.06	-	-	343.91 ± 9.64

<sup>1)</sup>Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

<sup>2)</sup>Values are means ± SD (n=3).

Table 19. Changes of organic acid contents (mg/g) with combined treatment of MeJA and NaCl during germination time of buckwheat sprouts treated light

Samples <sup>1)</sup>	Oxalic Acid <sup>2)</sup>	Malic Acid <sup>2)</sup>	Formic Acid <sup>2)</sup>	Ascorbic Acid <sup>2)</sup>	Lactic Acid	Acetic Acid <sup>2)</sup>	Citric Acid <sup>2)</sup>	Succinic Acid <sup>2)</sup>	Total <sup>2)</sup>
AG 1 day	1.91±0.03	24.54±0.42	110.67±1.13	2005.62±706.58	-	-	1068.07±755.24	21.3951±15.11	2687.47±1448.21
L-Co AG 3 day	4.28±0.46	49.14±1.77	179.63±3.81	10733.80±238.44	-	16.21±11.91	785.74±505.26	-	11768.80±729.13
AG 5 day	6.28±0.02	8.21±0.00	269.63±3.81	38159.75±426.88	-	45.24±0.13	539.16±23.23	-	39028.27±453.81
AG 1 day	2.27±0.11	31.42±0.83	123.30±3.66	3073.83±27.77	-	-	1095.84±23.80	-	4326.66±8.56
L-Me AG 3 day	46.70±0.12	47.15±0.55	184.99±2.69	22262.85±165.11	-	31.72±5.09	847.46±424.00	-	23420.87±581.99
AG 5 day	6.13±0.62	6.03±0.21	252.59±3.80	46179.75±106.42	-	102.94±14.56	559.27±12.14	-	47106.72±99.78
AG 1 day	2.98±0.03	6.83±0.06	139.10±2.74	3826.02±39.63	-	-	1183.58±40.04	-	5158.50±82.50
L-50N AG 3 day	4.45±0.14	48.75±1.69	180.62±4.50	18007.30±402.63	-	13.67±0.84	848.75±439.98	-	19103.54±31.87
AG 5 day	12.34±0.46	61.82±3.93	301.45±9.33	49621.75±544.83	-	51.69±2.50	516.55±12.68	-	50565.59±568.70
AG 1 day	3.58±0.01	31.92±0.62	146.02±3.25	3536.48±196.33	-	-	1175.50±3.73	-	4893.49±196.47
L-M10N AG 3 day	49.12±0.52	46.16±1.82	200.59±1.31	26305.40±363.88	-	40.62±13.03	905.02±382.96	-	27546.92±2.41
AG 5 day	8.04±0.84	60.12±4.61	334.38±10.03	65726.30±717.43	-	111.29±7.42	537.14±22.00	-	66777.27±747.49
AG 1 day	2.38±0.13	4.43±0.17	112.80±2.45	2637.91±547.83	-	-	987.66±163.92	-	3745.18±714.50
L-M50N AG 3 day	4.21±0.12	41.87±0.14	189.41±0.67	22502.75±284.751	-	23.67±0.59	1122.05±40.57	-	23883.96±326.61
AG 5 day	7.79±0.41	54.47±2.80	292.20±8.24	54402.10±1896.32	-	100.94±18.36	548.86±27.02	-	55406.35±1862.39

<sup>1)</sup>Treatment: L-Co: Light 4 hr, L-Me: Light 4 hr+0.1 mM MeJA, L-50N: Light 4 hr+50 mM NaCl, L-M10N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, L-M50N: Light 4 hr+0.1 mM MeJA+50 mM NaCl.

<sup>2)</sup>Values are means ± SD (n=3).

#### (9) 유기산 함량

Light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 생육기간 경과에 따른 메밀싹기름채소 유기산 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 19** 에 나타내었다. 발아 5일 경과 후 메밀싹기름채소의 유기산 함량을 비교한 결과 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 ascorbic acid 함량이 가장 높은 것으로 나타났으며, citric acid, formic acid, acetic acid, malic acid 및 oxalic acid 순으로 함량이 높은 것으로 나타났다. 메밀싹기름채소의 citric acid 함량은 발아 1일 경과 후 약 987.66~1183.58 mg/g 에서 발아 5일 경과 후 약 516.55~559.27 mg/g 로 감소하는 것으로 나타났으나 메밀싹기름채소의 ascorbic acid 함량이 생육기간이 경과함에 따라 약 2005.62~3826.02 mg/g 에서 약 18007.30~65726.30 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하였을 뿐만 아니라 formic acid 및 oxalic acid 함량 또한 생육 기간이 경과함에 따라 증가하는 것으로 나타나 총 유기산 함량 역시 생육기간이 경과함에 따라 약 2687.47~5158.50 mg/g 에서 약 39028.27~66777.27 mg/g 로 대조구 (L-Co) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며 특히 light 처리한 새싹메밀에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 생육기간이 경과함에 따라 총 유기산 함량이 약 1379.40% 증가하는 것으로 나타나 대조구(L-Co) 를 포함한 모든 군을 통틀어 가장 높은 증가율을 보였다. 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 총 유기산 함량 측정 결과 light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 10 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M10N) 의 경우 총 유기산 함량이 약 66777.27 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 71.10% 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA 및 50 mM NaCl 을 병행 처리한 실험구 (L-M50N) 의 경우 총 유기산 함량이 약 55406.35 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 약 41.96% 높은 것으로 나타났으며, light 처리한 메밀싹기름채소에 50 mM NaCl 단독 처리한 실험구(L-50N) 및 MeJA 단독 처리한 실험구 (L-Me) 의 경우 총 유기산 함량이 각각 약 50565.59 및 47106.72 mg/g 로 대조구 (L-Co) 에 비해 각각 약 29.56 및 20.70% 높은 것으로 나타나 MeJA 또는 NaCl 의 처리가 light 처리한 메밀싹기름채소의 총 유기산 함량에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었으며, 특히 MeJA 및 NaCl 을 병행 처리할 경우 그 효과는 더욱 증대될 뿐만 아니라 메밀싹기름채소의 생육기간이 경과함에 따른 총 유기산 함량의 증가에도 또한 유용한 영향을 미치는 것으로 사료된다.

#### (10) 상관분석

메밀싹기름채소의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량의 관련성을 알아보기 위하여 상관분석을 실시한 결과는 **Table 20** 에 나타내었다. 메밀 새싹의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량 모두 양의 상관관계를 나타내어 총

페놀 함량이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능과 frap assay 및 루틴 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 즉, 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay 및 루틴 함량은 모두 높은 상관성을 지니고 있는 것으로 확인되었으며, 이러한 상관분석의 결과는 99.9% 의 신뢰수준 ( $p < 0.001$ ) 을 나타내었다.

Table 20. The correlation analysis of total phenolics contents, DPPH radical scavenging activity, frap assay and rutin contents of buckwheat sprouts treated light

	Total phenolics contents	DPPH radical scavenging activity	Frap assay	Rutin contents
Total phenolics contents	1.0000	0.9928** <sup>1)</sup>	0.9943**	0.9833**
DPPH radical scavenging activity	-	1.0000	0.9953**	0.9840**
Frap assay	-	-	1.0000	0.9878**
Rutin contents	-	-	-	1.0000

<sup>1)</sup>\*\* : significant at  $p < 0.001$ .

#### (11) 결론 및 요약

메밀싹기름채소의 기능성을 증진시키기 위하여 MeJA 병행처리 시 효과적인 것으로 나타난 light 를 엽화물과 함께 병행 처리하여 그에 대한 효과를 검토하였다. 본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정온도에서 성장시켰다. 동일한 조건에서 처리한 메밀싹기름채소에 MeJA, 엽화물 및 light를 처리하여, 대조구, MeJA + light 처리구, 엽화물 + light 처리구, MJ+엽화물 농도 I + light 처리구, MJ+엽화물 농도 II + light 처리구로 설정하였다. 총 페놀 함량의 경우 대조구에 비하여 처리구는 모두 증가하였으며, MeJA 처리구는 약 52% 의 증가를 나타낸 반면, 엽화물 혼합 처리구는 약 109% 이상의 증가를 나타내어 혼합처리의 효과가 있음을 알 수 있었다. DPPH 라디칼 소거능에 있어서도 총 페놀 함량과 유사한 경향을 나타내어, MJ + 엽화물 농도 I + light 처리구가 가장 우수한 효과를 나타내었고, 루틴 함량에서도 혼합처리구가 약 56% 이상 증가한 반면, MeJA 단독 처리구는 약 17% 의 증가를 나타내었다. MeJA 와 엽화물의 혼합처리는 총 페놀 함량, 루틴 함량 및 DPPH 라디칼 소거능에서 MJ + 엽화물 농도 I + light 처리구 > MJ + 엽화물 농도 II + light 처리구 > MeJA + light 처리구 ≥ 엽화물 + light 처리구 > 대조구 순으로 나타나, 엽화물과의 병행처리에 의한 상승효과를 나타내었다.

## 5. 병행 elicitor 처리에 의한 기능성 증진 메밀싹채소의 재배효과 및 실증실험

### 가. 병행 처리에 따른 메밀싹채소의 품질 특성

#### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자 200 g 를 세척 후 1,000 mL 의 물에 담귀  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 5 개의 실험군으로 균등하게 분할하여 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7 일간  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀싹이 발아하기 시작하면 각 실험군에 light 를 4시간 처리한 후 10 mM NaCl 또는 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 5 시간의 간격을 두고 스프레이로 분주하여 처리하였으며, 발아가 시작되는 발아 후 1일 경과 후부터 3 일 그리고 5일 경과 후 각각 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시  $-70 \pm 5^\circ\text{C}$  의 온도에서 동결하였으며, 동결된 메밀싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850  $\text{mm}^2$ ) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

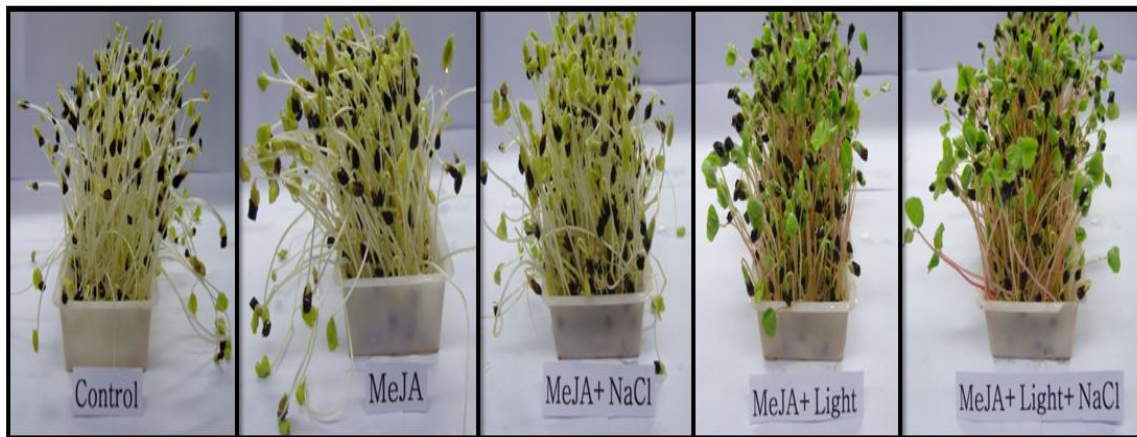


Fig. 81. Changes of appearance with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

### (2) 외관 변화

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 외관의 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 발아 5일 경과 후 비교 촬영한 사진을 **Fig. 81** 에 나타내었다. 대조구 (Control) 와 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 및 MeJA 와 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 잎이 모두 노란빛을 띄며 줄기 또한 흰색을 띄고 있는 것에 비해 MeJA 와 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 및 MeJA 와 NaCl, 그리고 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 잎이 녹색 빛을 강하게 띄고 있으며 줄기는 붉은 빛을 띄는 것으로 나타났으며, 이것은 light 처리에 의한 영향으로 판단되어지나 메밀싹기름채소의 길이 및 생육 정도는 외관상으로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 큰 차이를 보이지 않으므로 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 생육에 있어서 light 처리에 의한 잎과 줄기 부분의 외관상 색의 변화 이외에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어진다.

### (3) 길이 변화

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 길이의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 82** 에 나타내었다. 생육기간에 따라 메밀싹기름채소의 길이는 약 5.44~6.10 cm 에서 약 8.75~12.84 cm 로 약 44.34~136.15% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소 길이를 측정한 결과 대조구 (Control) 에 비해 MeJA와 NaCl 및 light를 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 길이가 짧은 것으로 나타났으나, 발아 1일 또는 3일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소 길이를 측정한 결과 대조구 (Control) 와 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 간의 큰 차이는 보이지 않는 것으로 나타났다. 따라서 MeJA 와 NaCl 및 light 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 길이성장에 있어서는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

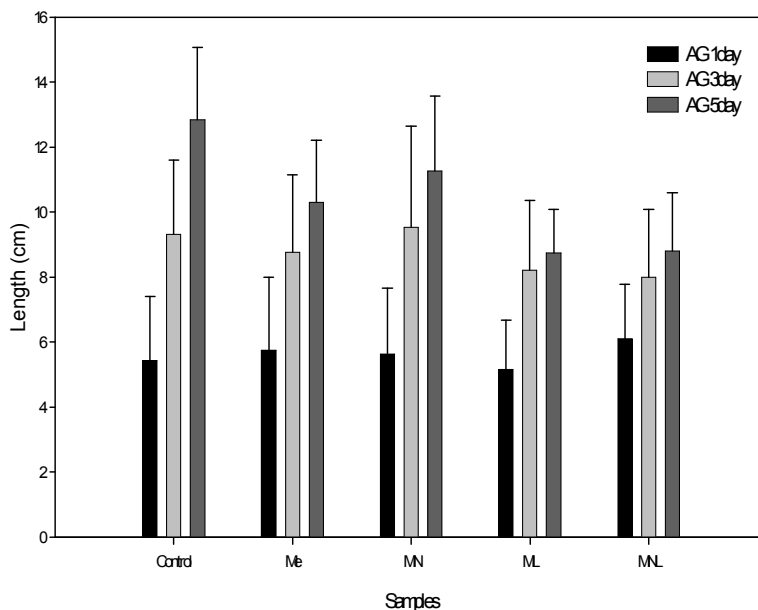


Fig. 82. Changes of length (cm) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

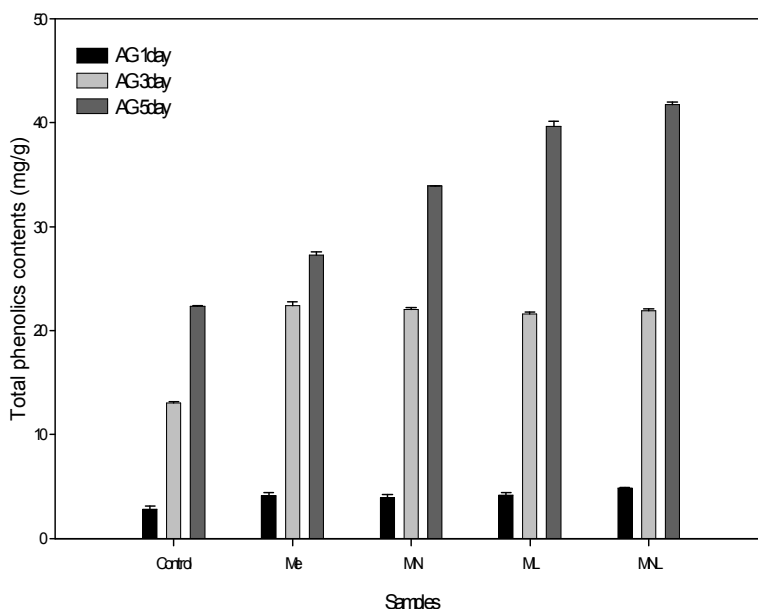


Fig. 83. Changes of total phenolics contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.



#### (4) 총 페놀 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 83** 에 나타내었다. 생육기간 동안 총 페놀 함량은 약 2.80~4.88 mg/g 에서 약 22.32~41.74 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 MeJA, NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 4.88 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 21.93 및 41.74 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비하여 각각 약 74.08, 68.18 및 87.01% 높은 값으로 나타났다. 즉 MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 총 페놀 함량이 가장 높을 뿐만 아니라 생육기간에 따른 페놀 함량의 증가율 또한 가장 큰 것으로 나타났다. MeJA 에 light 을 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 4.20 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 21.60 및 39.68 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비하여 각각 약 49.71, 65.64 및 77.78% 높은 것으로 나타났으며, MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 3.93 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 22.03 및 33.91 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비하여 각각 약 40.28, 68.89 및 51.95% 높은 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리할 경우 대조구 (Control) 뿐만 아니라 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 보다도 생육기간 중 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량 증가율이 높아지는 것으로 확인되었다. 따라서 많은 선행 연구에서 총 페놀 함량의 증가에 긍정적인 효과를 미치고 있는 것으로 확인되어지고 있는 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리함으로써 생육 기간 중 메밀 싹기름채소 총 페놀 함량의 증가에 MeJA 단독 처리로 나타나는 효과 이상의 유용한 영향을 가지고 올 수 있을 것으로 사료된다.

#### (5) DPPH 라디칼 소거능

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 84** 에 나타내었다. 100 mg% 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 생육기간 동안 약 18.85~21.24% 에서 약 57.85~90.57% 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀 싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 DPPH 라디칼 소거능이 대조구 (Control) 에 비해 약 56.55% 증가하며 모든 군을 통틀어 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 NaCl 을 병행 처리한 실험구 (MN) 및 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 발아 5일 경과 후의 DPPH 라디칼 소거능은 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 51.75 및 55.26% 높은 것으로 나타났으며, 이는 MeJA 를 단독 처리한 실험구 (Me) 의 발아 5일 경과 후 DPPH 라디칼

소거능이 대조구 (Control) 에 비해 약 33.62% 높은 것으로 나타난 것과 비교하였을 때 더 높은 것으로 나타났다. 즉 MeJA 와 NaCl 및 light 를 병행 처리할 경우 MeJA 의 단독 처리에 비해 생육기간 중 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능의 증대에 더 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 항산화 물질에 의한 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향을 미친다는 이와 같은 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와도 유사한 경향을 보이며, 이는 wounding-stress potatoes 에서 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼의 항산화력에 영향을 미친다는 Reyes and Cisneros-Zevallos 의 보고와 pseudocereals seeds 에서도 페놀성 화합물의 함량이 항산화 활성에 영향을 미친다는 Gorinstein 등의 보고에서도 입증됨으로 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능과 연관성을 가지며 항산화 활성에 유용한 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

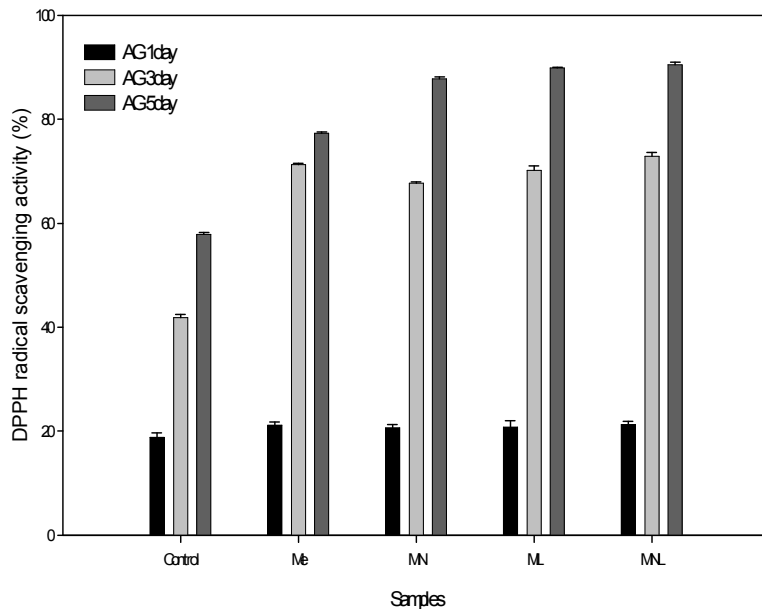


Fig. 84. Changes of DPPH radical scavenging activity (%) in 100 mg% concentration with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (6) Frap assay

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 frap assay 에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 85** 와 같이 약 0.53~0.63 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 약 2.27~4.69 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 생육기간이 경과함에 따라 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발

아 1일 경과 후 약 0.61 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 2.37 및 4.69 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 14.60, 67.12 및 106.72% 높은 것으로 나타나 모든 군을 통틀어 frap assay 값이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.63 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 약 2.42 및 4.60 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 18.03, 70.36 및 102.44% 높은 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 frap assay 값을 비교한 결과 MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 frap assay 값이 대조구 (Control) 에 비해 약 65.88% 높은 것으로 나타나 약 32.13% 증가율을 보인 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 와 비교하여도 큰 증가율을 나타내었다. 이는 MeJA 의 처리가 메밀싹기름채소의 frap assay에 영향을 미칠 뿐만 아니라 특히, MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리할 경우 생육기간 중 메밀싹기름채소의 frap assay 값을 증가시키는 데 더 유용한 영향을 미친다는 것을 확인하였다.

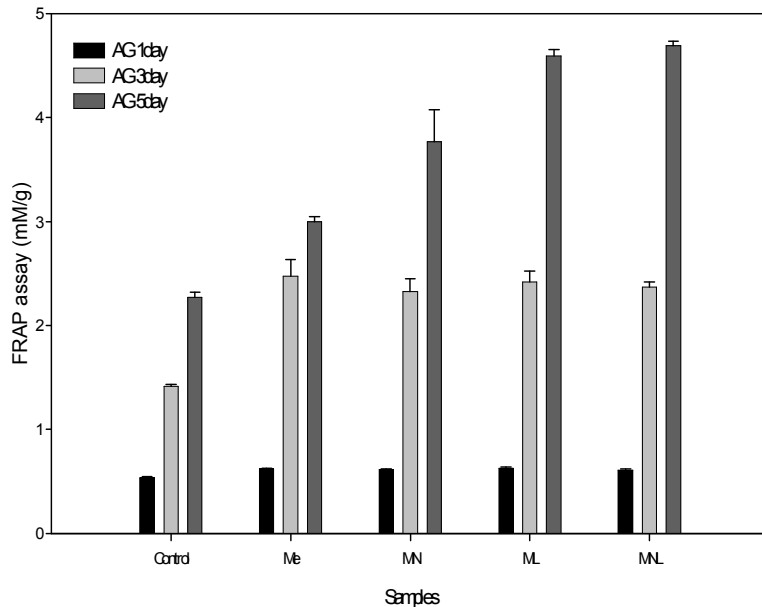


Fig. 85. Changes of frap assay (mM Fe<sup>2+</sup>/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (7) 루틴 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 루틴 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 86** 에 나타내었다. 생육기간 동안 루틴 함량은 약 3.82~4.73 mg/g 에서 약 22.82~42.80 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 루

틴 함량은 발아 1일 경과 후 약 4.73 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 22.64 및 42.80 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 23.72, 71.91 및 87.61% 증가하는 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 루틴 함량은 발아 1일 경과 후 약 4.38 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 21.67 및 40.50 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 14.57, 64.55 및 77.50% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 루틴 함량을 측정된 결과 대조구 (Control) 에 비해 약 30.61% 높은 것으로 나타나 MeJA 를 단독 처리한 실험구 (Me) 의 약 3.85% 증가율과 비교하여 큰 차이를 나타냈다. 즉 MeJA 의 단독 처리에 비해 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리하는 경우 생육기간 중 메밀싹기름채소의 루틴 함량을 증가시키는 데 더 유용한 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 이러한 실험 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와 유사한 경향을 나타내고 있는데, 이는 무순의 페놀성 화합물의 증가가 루틴 항산화활성의 증가에 영향을 미친다는 Barillari 등의 보고에서도 확인되었으며, 따라서 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리는 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량에 유용한 영향을 미치며 페놀 함량과 연관성을 가지고 있는 루틴 함량에도 영향을 미칠 뿐만 아니라 결과적으로 메밀싹기름채소의 항산화활성을 증가시키는데 영향을 미치는 것으로 사료된다.

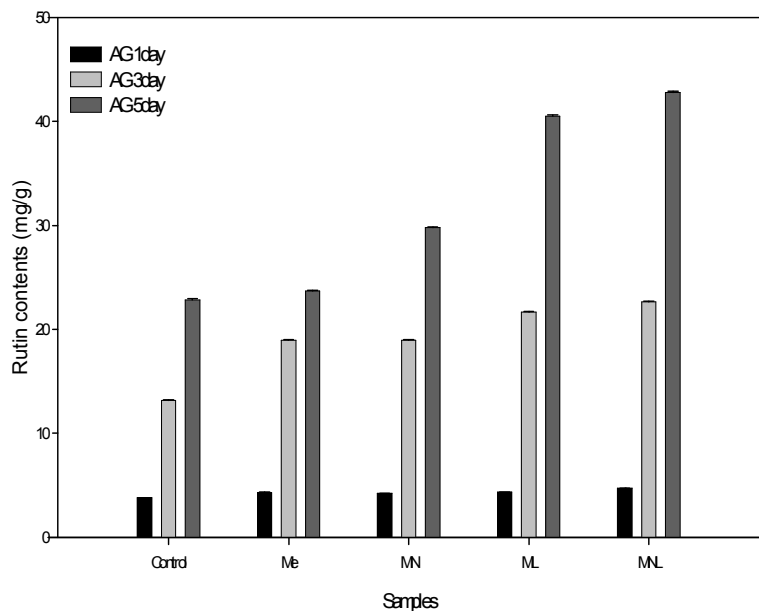


Fig. 86. Changes of rutin contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

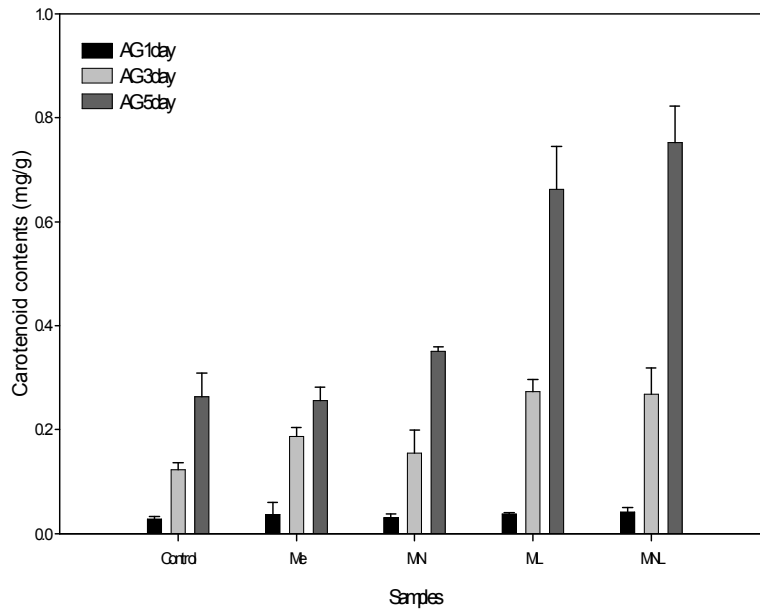


Fig. 87. Changes of carotenoid contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

(8) 카로티노이드 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 카로티노이드 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 87** 에 나타내었다. 생육기간 동안 카로티노이드 함량은 약 0.0282~0.0419 mg/g 에서 약 0.2562~0.7530 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, MeJA에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 카로티노이드 함량은 발아 1일 경과 후 약 0.0419 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 0.2678 및 0.7530 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 48.76, 119.07 및 185.63% 증가하는 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 카로티노이드 함량은 발아 1일 경과 후 약 0.0377 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 0.2728 및 0.6624 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 33.75, 123.18 및 151.26% 증가하는 것으로 나타났으며, MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 경우 카로티노이드 함량은 발아 1일 경과 후 약 0.0305 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 0.1546 및 0.3508 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 8.45, 26.49 및 33.05% 증가하는 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리하는 경우 생육기간 중 메밀싹기름채소의 카로티노이드 함량을 증가시키는 데 유용한 영향을 미친다는 것을 확인하였다.

(9) 유기산 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 유기산 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 21** 에 나타내었다. 발아 5일 경과 후 유기산 함량을 비교한 결과 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 ascorbic acid 함량이 가장 높은 것으로 나타났다. formic acid, oxalic acid, malic acid 및 acetic acid 순으로 함량이 높은 것으로 나타났다. 메밀싹기름채소의 acetic acid 함량은 발아 1일 경과 후 약 28.17~32.83 mg/g 에서 발아 5일 경과 후 약 4.16~7.24 mg/g 로 다소 감소하는 것으로 나타났으나 메밀싹기름채소의 ascorbic acid 함량이 생육기간 경과에 따라 약 1171.32~1465.86 mg/g 에서 약 2527.19~3496.74 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하였을 뿐만 아니라 formic acid, oxalic acid 및 malic acid 함량이 모두 생육 기간이 경과함에 따라 증가하는 것으로 나타나 총 유기산 함량 역시 생육기간이 경과함에 따라 약 1230.50~1494.38 mg/g 에서 약 2604.49~3566.80 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났다. 특히 MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 총 유기산 함량이 생육기간 경과에 따라 약 171.74% 증가하여 대조구 (Control) 의 총 유기산 함량이 생육기간 경과에 따라 약 163.41% 증가한 것과 비교하여 다소 높은 것으로 나타나 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소의 유기산 함량의 증가에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

Table 21. Changes of organic acid contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts

Samples <sup>2)</sup>	Oxalic Acid <sup>1)</sup>	Malic Acid <sup>1)</sup>	Formic Acid <sup>1)</sup>	Ascorbic Acid <sup>1)</sup>	Lactic Acid	Acetic Acid <sup>1)</sup>	Citric Acid	Succinic Acid	Total <sup>1)</sup>	
Control	AG 1 day	7.03 ± 4.19	0.40 ± 0.00	21.84 ± 1.42	1254.37 ± 308.49	-	32.16 ± 45.48	-	-	1315.80 ± 359.58
	AG 3 day	9.58 ± 0.15	7.77 ± 0.37	29.47 ± 1.90	1711.60 ± 105.17	-	11.24 ± 6.76	-	-	1769.66 ± 100.83
	AG 5 day	28.92 ± 0.22	4.34 ± 0.06	61.69 ± 0.60	3365.49 ± 58.69	-	5.47 ± 0.82	-	-	3465.91 ± 58.76
Me	AG 1 day	3.97 ± 0.13	0.49 ± 0.02	22.54 ± 1.58	1233.99 ± 329.06	-	32.13 ± 45.45	-	-	1298.13 ± 376.23
	AG 3 day	10.07 ± 0.10	7.83 ± 0.34	34.26 ± 1.97	1900.25 ± 58.97	-	17.08 ± 0.16	-	-	1999.48 ± 61.22
	AG 5 day	15.51 ± 0.1791	9.19 ± 0.32	47.11 ± 1.27	2527.19 ± 187.59	-	5.50 ± 4.45	-	-	2604.49 ± 198.80
MN	AG 1 day	4.04 ± 0.12	0.51 ± 0.02	22.27 ± 2.42	1242.36 ± 365.61	-	28.17 ± 39.84	-	-	1297.35 ± 408.01
	AG 3 day	12.00 ± 0.08	7.76 ± 0.08	34.68 ± 0.13	2040.48 ± 19.89	-	16.72 ± 0.79	-	-	2111.64 ± 19.40
	AG 5 day	14.21 ± 0.03	10.91 ± 0.36	55.40 ± 3.24	3388.33 ± 48.51	-	4.16 ± 0.63	-	-	3473.02 ± 46.29
ML	AG 1 day	4.34 ± 0.01	0.46 ± 0.00	23.72 ± 1.51	1465.86 ± 246.05	-	-	-	-	1494.38 ± 247.54
	AG 3 day	8.36 ± 0.12	7.89 ± 0.22	30.01 ± 0.44	1800.60 ± 88.14	-	10.88 ± 1.47	-	-	1857.74 ± 87.45
	AG 5 day	10.73 ± 0.11	12.13 ± 0.04	41.60 ± 0.41	3496.74 ± 10.20	-	5.59 ± 0.34	-	-	3566.80 ± 10.41
MNL	AG 1 day	4.18 ± 0.08	0.35 ± 0.01	21.81 ± 0.50	1171.32 ± 170.78	-	32.83 ± 46.43	-	-	1230.50 ± 124.92
	AG 3 day	7.06 ± 0.06	9.65 ± 3.03	26.80 ± 0.33	1591.51 ± 96.29	-	4.02 ± 5.69	-	-	1639.04 ± 99.34
	AG 5 day	13.54 ± 0.15	12.27 ± 0.20	41.88 ± 0.46	3268.88 ± 65.70	-	7.23 ± 0.86	-	-	3343.80 ± 67.36

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (10) 유리당 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 유리당 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 22** 에 나타내었다. 메밀싹기름채소의 maltose 함량은 발

아 1일 경과 후 약 41.50~50.94 mg/g 에서 발아 5일 경과 후 약 26.76~17.90 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 생육기간이 경과함에 따라 다소 감소하는 것으로 나타났으나 메밀싹기름채소의 fructose 및 glucose 함량이 각각 약 9.60~14.69 mg/g 에서 약 60.42~134.59 mg/g 로, 약 25.45~32.99 mg/g 에서 약 61.90~147.35 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타나 생육기간 동안 메밀싹기름채소의 총 유리당 함량 역시 약 76.54~95.85 mg/g 에서 약 140.21~308.70 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타났다. 발아 3일 및 5일 경과 후 MeJA, NaCl 및 light 처리 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유리당 함량은 대조구 (Control) 에 비해 낮은 것으로 나타났으나 발아 1일 경과 후 MeJA, NaCl 및 light 처리 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유리당 함량이 대조구 (Control) 에 비해 약 11.92~25.23% 높은 것으로 나타나 메밀싹기름채소의 생육기간만 조절한다면 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 메밀싹기름채소에 함유되어 있는 유리당 함량의 증가에 긍정적인 영향을 미칠 수도 있을 것으로 기대되어진다.



Table 22. Changes of free sugar contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts

Samples <sup>2)</sup>	Fructose <sup>1)</sup>	Glucose <sup>1)</sup>	Maltose <sup>1)</sup>	Lactose	Sucrose	Total <sup>1)</sup>	
Control	AG 1 day	9.59 ± 2.08	25.44 ± 2.14	41.49 ± 0.14	-	-	76.54 ± 0.19
	AG 3 day	51.79 ± 0.11	68.00 ± 0.10	42.24 ± 0.51	-	-	162.03 ± 0.29
	AG 5 day	134.58 ± 0.49	147.34 ± 0.48	26.76 ± 0.08	-	-	308.69 ± 1.06
Me	AG 1 day	12.83 ± 0.51	32.98 ± 0.17	47.68 ± 0.31	-	-	93.51 ± 0.01
	AG 3 day	46.90 ± 0.19	61.47 ± 0.01	41.61 ± 0.01	-	-	149.99 ± 0.20
	AG 5 day	65.00 ± 0.31	75.67 ± 0.09	23.42 ± 0.13	-	-	164.10 ± 0.27
MN	AG 1 day	12.47 ± 0.04	30.69 ± 0.41	42.49 ± 0.84	-	-	85.66 ± 1.21
	AG 3 day	49.72 ± 0.19	62.00 ± 0.03	38.35 ± 0.11	-	-	150.08 ± 0.34
	AG 5 day	82.83 ± 0.23	93.73 ± 0.05	22.87 ± 0.66	-	-	199.44 ± 0.94
ML	AG 1 day	14.68 ± 1.31	30.22 ± 1.47	50.94 ± 0.26	-	-	95.85 ± 2.52
	AG 3 day	31.86 ± 0.05	45.00 ± 0.10	32.24 ± 0.39	-	-	109.11 ± 0.22
	AG 5 day	60.42 ± 0.56	61.89 ± 0.37	17.89 ± 0.22	-	-	140.21 ± 1.17
MNL	AG 1 day	14.22 ± 0.15	27.66 ± 0.06	49.55 ± 0.79	-	-	91.44 ± 0.56
	AG 3 day	30.31 ± 0.40	40.41 ± 0.04	32.57 ± 0.33	-	-	103.29 ± 0.78
	AG 5 day	64.25 ± 0.32	74.64 ± 0.26	18.69 ± 0.52	-	-	157.59 ± 0.05

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (11) 상관분석

대조구 및 실험구의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량 실험 결과의 관련성을 알아보기 위하여 상관분석을 실시한 결과는 **Table 23**에 나타내었다. 메틸 새싹의 총 페놀 함량과 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량은 모두 양의 상관관계를 나타내어 총 페놀 함량이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 반면 DPPH 라디칼 소거능의 50% 저해율 (IC<sub>50</sub> value) 은 총 페놀 함량과 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량과 음의 상관관계를 나타내어 DPPH 라디칼 소거능의 50% 저해율이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량은 모두 감소하는 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능 (IC<sub>50</sub> value) 과 카로티노이드 함량의 상관관계 ( $p < 0.01$ ) 를 제외한 모든 상관분석 결과는 99.9%의 신뢰수준 ( $p < 0.001$ ) 을 나타내었다.

Table 23. The correlation analysis of total phenolics contents, DPPH radical scavenging activity, frap assay, rutin and carotenoid contents of buckwheat sprouts

	Total phenolics contents	DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	Frap assay	Rutin contents	Carotenoid contents
Total phenolics contents	1.0000	-0.9015** <sup>1)</sup>	0.9966**	0.9901**	0.9274**
DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	-	1.0000	-0.8703**	-0.8711**	-0.7238*
Frap assay	-	-	1.0000	0.9906**	0.9439**
Rutin contents	-	-	-	1.0000	0.9649**
Carotenoid contents	-	-	-	-	1.0000

<sup>1)</sup>\* : significant at  $p < 0.01$ , \*\* : significant at  $p < 0.001$ .

## 나. 병행 처리에 따른 메밀싹채소의 품질 특성 II

### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2010년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자 200 g 를 세척 후 1,000 mL 의 물에 담귀 25 ± 2°C 의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 5 개의 실험군으로 균등하게 분할하여 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7일간 18 ± 2°C 의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀싹이 발아하기 시작하면 각 실험군에 light 를 4시간 처리한 후 10 mM NaCl 또는 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 5 시간의 간격을 두고 스프레이로 분주하여 처리하였으며, 발아가 시작되는 발아 후 1일 경과 후부터 3일 그리고 5일 경과 후 각각 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시 -70 ± 5°C 의 온도에서 동결하였으며, 동결된 메밀싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

## (2) 외관 변화

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 외관의 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 발아 5일 경과 후 비교 하였다. 대조구 (Control) 와 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 및 MeJA 와 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 잎이 모두 노란빛을 띄며 줄기 또한 흰색을 띄고 있는 것에 비해 MeJA 와 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 및 MeJA 와 NaCl, 그리고 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 잎이 녹색 빛을 강하게 띄고 있으며 줄기는 붉은 빛을 띄는 것으로 나타났으며, 이것은 light 처리에 의한 영향으로 판단되어지나 메밀싹기름채소의 길이 및 생육 정도는 외관상으로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 큰 차이를 보이지 않으므로 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 생육에 있어서 light 처리에 의한 잎과 줄기 부분의 외관상 색의 변화 이외에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 사료되어진다.

## (3) 길이변화

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 길이의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 88** 에 나타내었다. 생육기간에 따라 메밀싹기름채소의 평균 길이는 약 2.31~3.15 cm 에서 약 8.54~11.40 cm 로 약 189.52~362.66% 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 길이를 측정한 결과 MeJA 와 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 평균 길이가 대조구 (Control) 에 비해 약 2.24% 높아 가장 긴 것으로 나타났으나 다른 병행 처리 실험구들 (MeJA, ML 및 MNL) 은 대조구 (Control) 에 비해 길이가 다소 짧은 것으로 나타났다. 하지만 발아 3일 경과 후 수확한 메밀싹기름채소의 길이를 측정한 결과 MeJA 와 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 평균 길이가 대조구 (Control) 에 비해 약 42.32% 높아 역시 가장 긴 것으로 나타났을 뿐만 아니라 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 와 MeJA, NaCl 및 light 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 평균 길이도 대조구 (Control) 에 비해 약 13.49 및 20.12% 높은 것으로 나타나 발아 3일이 경과한 이 후에는 MeJA, NaCl 및 light 의 처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소의 길이 변화에 어느 정도 영향을 미치는 것으로 사료되어지나 그 정도가 크지 않으며 생육기간을 조절할 경우 긍정적인 효과도 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

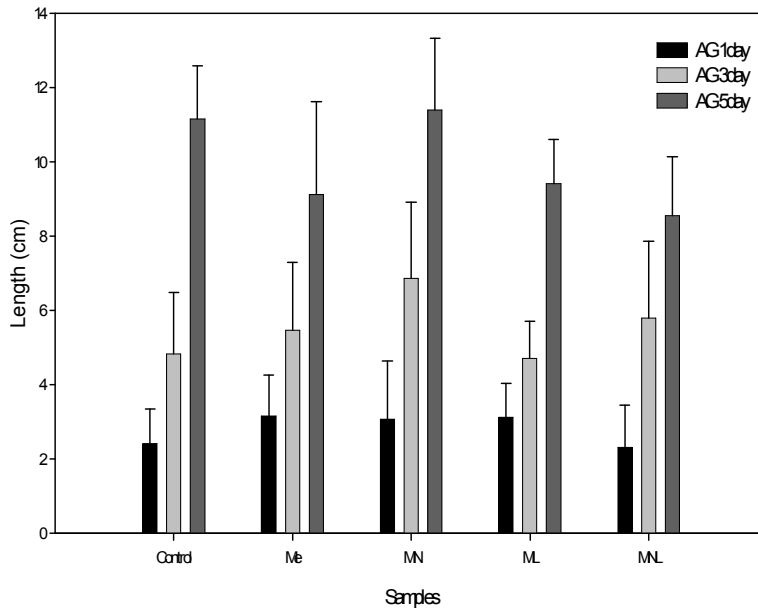


Fig. 88. Changes of length (cm) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (4) 총 페놀 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 89** 에 나타내었다. 생육기간 동안 총 페놀 함량은 약 4.09~5.78 mg/g 에서 약 16.43~34.80 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 1 일 경과 후 약 5.39 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 22.77 및 34.80 mg/g 로 증가하였으며, 이는 대조구 (Control) 에 비하여 각각 약 31.77, 203.15 및 111.74% 높은 값으로 MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 총 페놀 함량이 가장 높을 뿐만 아니라 생육기간에 따른 증가율 또한 가장 큰 것으로 나타났다. 뿐만 아니라 MeJA 에 NaCl 과 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 4.91 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 19.38 및 29.63 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 20.21, 157.99 및 80.30% 높은 것으로 나타났으며, MeJA 와 NaCl 병행 처리 실험구 (MN) 역시 발아 1일 경과 후 약 5.78 mg/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 18.97 및 29.39 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 41.47, 152.48 및 78.85% 높은 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및

light 를 병행 처리할 경우 대조구 (Control) 뿐만 아니라 MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 보다도 생육기간 중 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량 증가율이 높아지는 것으로 확인되었다. MeJA 에 NaCl 및 light를 병행 처리함으로써 생육 기간 중 메밀싹기름채소 총 페놀 함량의 증가에 MeJA 단독 처리로 나타나는 효과 이상의 유용한 영향을 가지고 올 수 있을 것으로 사료된다.

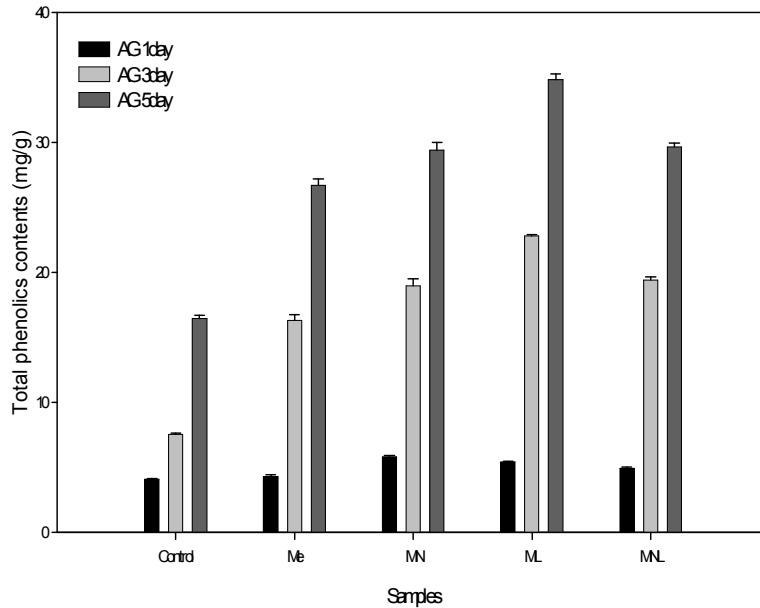


Fig. 89. Changes of total phenolics contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (5) DPPH 라디칼 소거능

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 90** 에 나타내었다. 100 mg% 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 생육기간 동안 약 14.97~21.18% 에서 약 90.84~84.77% 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 발아 5일 경과 후 수확한 메밀 싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 대조구 (Control) 에 비해 MeJA, NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 에서 약 39.32% 증가한 것으로 나타나 DPPH 라디칼 소거능이 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 MeJA에 NaCl (MN) 및 light (ML) 를 각각 병행 처리한 실험구의 DPPH 라디칼 소거능 역시 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 37.49 및 38.98% 높은 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리할 경우 생육기간 중 메밀 싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능 증대에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. MeJA 단독 처리 실험구 (Me) 의 DPPH 라디칼 소거능 또한 대조구 (Control) 에 비해 약 36.61% 높은 것으로 나타났으나 발아 1일 경과 후의 DPPH 라디칼 소거능이 대조구 (Control) 보다 약 4.63% 높은 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리한 실험구들 (MN, ML 및 MNL) 이 발아 1일 경과 후 대조구에 비해 약 19.67~41.43% 높은 것으로 나타난 것과 비교하여 상대적으로 낮은 증가율을 나타내었다. MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 항산화 물질에 의한 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향을 미친다는 이와 같은 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와도 유사한 경향을 보였다.

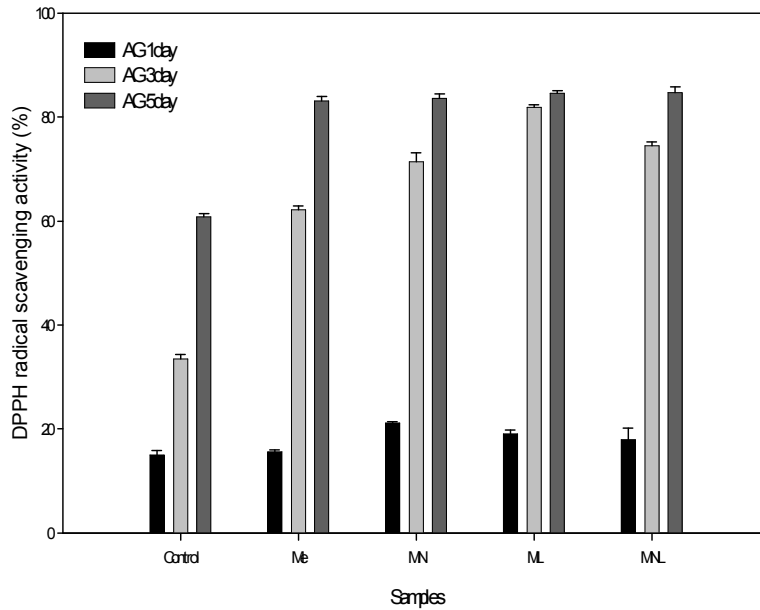


Fig. 90. Changes of DPPH radical scavenging activity (%) in 100 mg% concentration with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

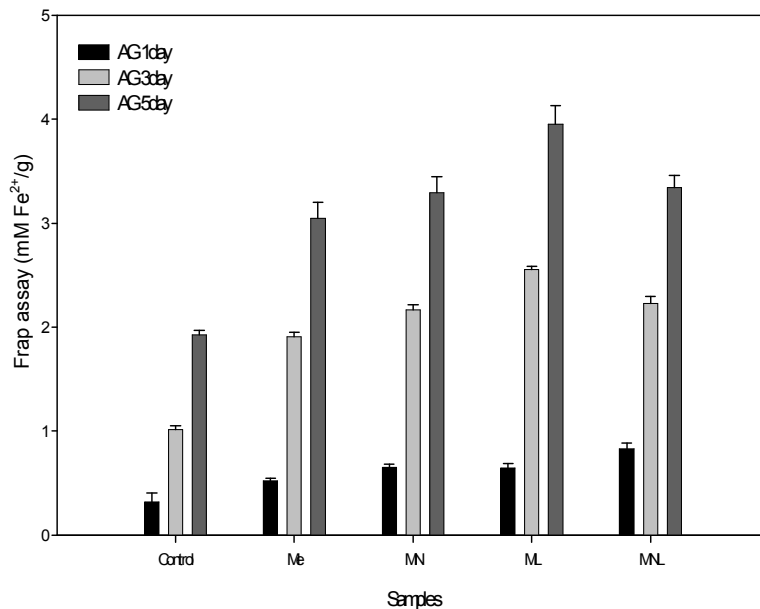


Fig. 91. Changes of frap assay (mM Fe<sup>2+</sup>/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM

MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (6) Frap assay

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 frap assay 에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 91** 과 같이 생육기간 동안 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.65 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 2.56 및 3.95 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 104.03, 151.63 및 105.11% 높은 값으로 나타나 모든 군을 통틀어 frap assay 값이 가장 높을 뿐만 아니라 생육 기간에 따른 증가율 또한 가장 높은 것으로 나타났다. MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.83 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 약 2.23 및 3.34 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 162.12, 119.15 및 73.45% 높은 것으로 나타나 발아 1일 경과 후의 frap assay 값은 모든 군을 통틀어 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 경우에도 발아 1일 경과 후 약 0.65 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 3일 및 5일 경과 후 각각 약 2.17 및 3.29 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 104.99, 113.36 및 71.10% 높은 값으로 나타났으며, 이는 MeJA 를 단독 처리한 실험구 (Me) 보다도 높은 값으로 확인되었다. 총 페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능의 실험 결과와 마찬가지로 MeJA 의 단독 처리만으로도 생육 기간 중 메밀싹기름채소의 frap assay 에 긍정적인 영향을 미치지만 특히, MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리할 경우 그 효과는 더욱 증대되는 것으로 사료된다.

#### (7) 루틴 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 루틴함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 92** 에 나타내었다. 생육기간 동안 루틴 함량은 약 2.34~3.03 mg/g 에서 약 16.81~32.66 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 루틴 함량은 발아 1일 경과 후 약 3.03 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 20.46 및 32.66 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 29.28, 159.32 및 94.32% 증가하는 것으로 나타나 모든 군을 통틀어 루틴 함량이 가장 높을 뿐만 아니라 생육 기간에 따른 루틴 함량의 증가율 또한 가장 높은 것으로 나타났다. 또한 MeJA 에 NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구 (MNL) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 2.81 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 약 17.78 및 28.77 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 20.23, 125.38 및 71.17% 높은 루틴 함량



을 나타내었으며, MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 발아 5일 경과 후 루틴 함량 또한 대조구 (Control) 에 비해 약 35.31% 높은 것으로 나타나 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리하는 경우 생육기간 중 메밀싹기름채소의 루틴 함량을 증가시키는 데 더 유용한 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 이러한 실험 결과는 총 페놀 함량의 변화 측정 결과와 유사한 경향을 나타내고 있었다. 따라서 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리는 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량에 유용한 영향을 미치며 페놀 함량과 연관성을 가지고 있는 루틴 함량에도 영향을 미칠 뿐만 아니라 결과적으로 메밀싹기름채소의 항산화활성을 증가시키는데 영향을 미치는 것으로 사료된다.

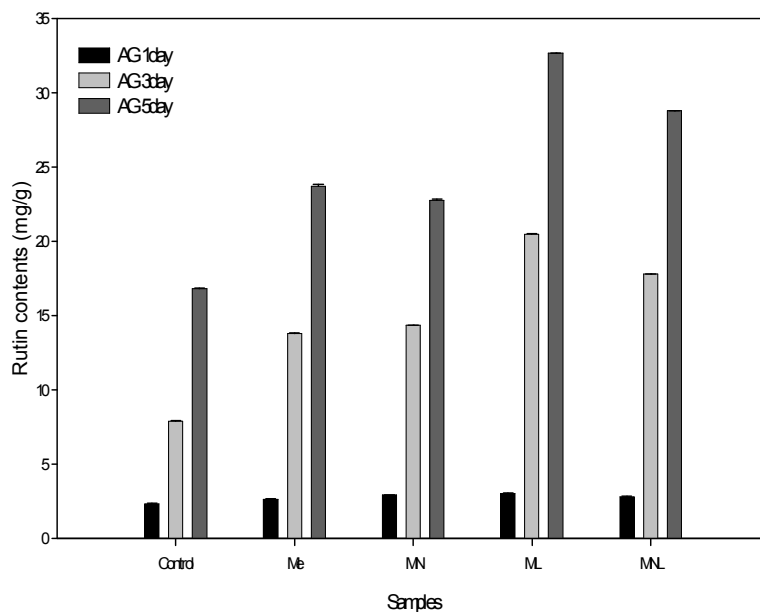


Fig. 92. Changes of rutin contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, M: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (8) 카로티노이드 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 카로티노이드 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 93** 에 나타내었다. 생육기간 동안 카로티노이드 함량은 약 0.0047~0.0223 mg/g 에서 약 0.2823~0.6316 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 MeJA, NaCl 및 light 를 모두 병행 처리한 실험구

(MNL) 의 경우 카로티노이드 함량은 발아 1일 경과 후 약 0.0203 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 각각 약 0.1590 및 6316 mg/g 로 대조구 (Control) 와 비교하여 각각 약 335.43, 11.32 및 96.94% 증가하는 것으로 나타나 모든 균을 통틀어 카로티노이드의 함량이 가장 높을 뿐만 아니라 생육 기간에 따른 증가율 또한 가장 높은 것으로 나타났다. MeJA 에 light 를 병행 처리한 실험구 (ML) 의 경우 발아 1일 경과 후 약 0.0223 mg/g 에서 발아 3일 및 5일 경과 후 약 0.2820 및 0.5408 mg/g 로 증가하여 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 380.31, 97.44 및 68.64% 높은 카로티노이드 함량을 나타내었으며, MeJA 에 NaCl 를 병행 처리한 실험구 (MN) 의 경우에는 발아 5일 경과 후 카로티노이드 함량이 대조구 (Control) 에 비해 다소 낮은 것으로 나타났으나 발아 3일 경과 후의 카로티노이드 함량은 대조구 (Control) 에 비해 약 26.52% 높은 것으로 나타나 일정 생육 기간 동안에는 MeJA 에 NaCl 및 light 를 병행 처리하는 것이 생육기간 중 메밀싹기름채소의 카로티노이드 함량 증가에 유용한 영향을 미칠 수 있다는 것을 확인하였다.

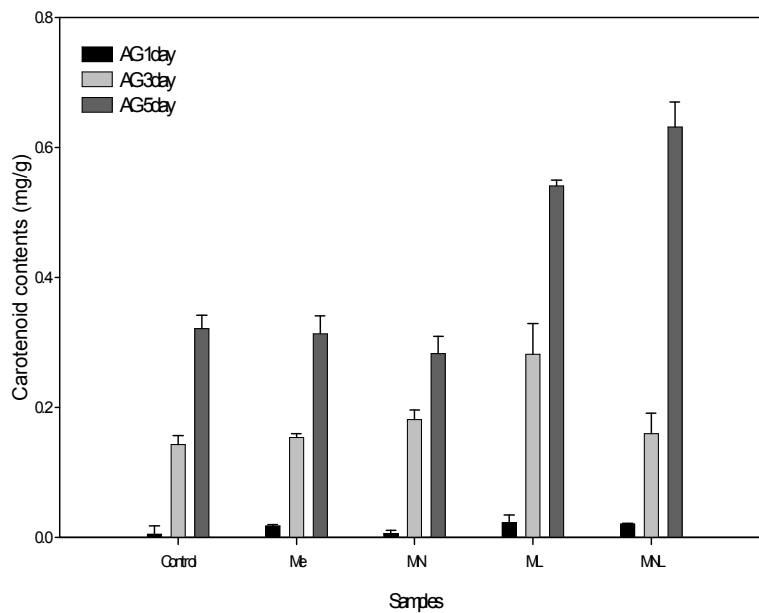


Fig. 93. Changes of carotenoid contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

Table 24. Changes of organic acid contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts

Samples <sup>1)2)</sup>	Oxalic Acid <sup>2)</sup>	Malic Acid <sup>2)</sup>	Fomic Acid <sup>2)</sup>	Ascorbic Acid <sup>2)</sup>	Citric Acid <sup>2)</sup>	Total <sup>2)</sup>	
Control	AG 1 day	7.91 ± 0.72	5.80 ± 0.05	163.38 ± 2.69	4685.05 ± 55.51	824.92 ± 460.39	5687.06 ± 401.52
	AG 3 day	9.06 ± 0.07	4.03 ± 0.13	187.19 ± 3.22	16683.55 ± 325.48	533.62 ± 6.25	17667.45 ± 335.14
	AG 5 day	14.97 ± 1.39	121.43 ± 2.82	402.56 ± 7.80	47357.20 ± 900.57	491.44 ± 13.55	48387.60 ± 926.13
Me	AG 1 day	7.52 ± 0.13	5.60 ± 0.70	165.21 ± 1.01	4783.10 ± 14.04	1160.10 ± 0.09	6121.52 ± 14.90
	AG 3 day	9.60 ± 0.55	4.86 ± 0.01	301.23 ± 3.27	33729.35 ± 240.49	535.16 ± 4.31	34580.20 ± 240.00
	AG 5 day	16.03 ± 1.15	71.02 ± 4.07	436.76 ± 20.24	81076.00 ± 1941.15	485.30 ± 28.29	82111.30 ± 1995.35
MN	AG 1 day	7.71 ± 0.12	5.49 ± 0.04	162.03 ± 0.43	5446.36 ± 113.70	1103.95 ± 55.63	6725.53 ± 169.84
	AG 3 day	13.41 ± 0.17	6.08 ± 0.17	272.14 ± 3.10	34892.30 ± 346.62	545.27 ± 25.82	35729.20 ± 375.88
	AG 5 day	17.64 ± 0.87	73.23 ± 1.22	427.86 ± 39.86	75680.05 ± 717.50	515.90 ± 12.30	76724.27 ± 676.04
ML	AG 1 day	7.42 ± 0.05	4.91 ± 0.02	156.65 ± 3.40	4823.93 ± 59.40	1070.74 ± 16.68	6063.64 ± 46.18
	AG 3 day	11.53 ± 0.16	7.35 ± 0.05	249.79 ± 1.33	37497.45 ± 228.33	533.23 ± 15.88	38299.35 ± 213.98
	AG 5 day	13.31 ± 0.17	80.54 ± 0.75	363.83 ± 3.84	80192.90 ± 510.53	495.37 ± 36.14	81173.83 ± 532.43
MNL	AG 1 day	6.88 ± 0.14	4.16 ± 0.16	152.40 ± 6.70	4344.24 ± 216.34	1085.89 ± 24.27	5593.56 ± 199.07
	AG 3 day	10.48 ± 0.28	5.23 ± 0.21	233.12 ± 0.99	34655.35 ± 265.09	519.52 ± 3.02	35423.69 ± 269.60
	AG 5 day	137.89 ± 1.35	71.96 ± 0.80	326.08 ± 2.98	72006.25 ± 626.43	459.17 ± 6.97	73001.36 ± 638.53

<sup>1)</sup>Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

<sup>2)</sup>Values are means ± SD (n=3).

### (9) 유기산 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 유기산 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 24** 에 나타내었다. 발아 5일 경과 후 유기산 함량을 측정 한 결과 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 ascorbic acid의 함량이 가장 높은 것으로 나

타났으며, citric acid, formic acid 순으로 유기산 함량이 높은 것으로 나타났다. 메밀싹기름채소의 생육기간이 경과하는 동안 citric acid 함량이 약 824.92~1160.10 mg/g 에서 약 459.17~515.90 mg/g 로 감소하였으나 ascorbic acid 함량이 약 4344.24~5446.36 mg/g 에서 약 47357.20~81076.00 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하였을 뿐만 아니라 formic acid, malic acid 및 oxalic acid 의 함량이 모두 증가하는 경향으로 나타나 총 유기산 함량은 약 5593.56~6725.53 mg/g 에서 약 48387.60~82111.30 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타났다. 특히, 대조구 (Control) 를 제외한 MeJA, NaCl 및 light 를 처리한 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유기산 함량 증가율이 약 1040.79~1241.35% 로 대조구 (Control) 의 총 유기산 함량 증가율인 약 750.84% 에 비해 아주 높은 것으로 나타났으며, 따라서 메밀싹기름채소 발아 5일 경과 후 MeJA, NaCl 및 light 처리 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유기산 함량이 대조구 (Control) 에 비해 약 50.87~69.69% 높은 것으로 나타났다. 즉, MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소의 총 유기산 함량의 증가에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

#### (10) 유리당 함량

MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 생육기간 중 메밀싹기름채소 유리당 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Table 25** 에 나타내었다. 생육기간 동안 메밀싹기름채소의 maltose 함량은 약 87.08~100.18 mg/g 에서 약 39.63~59.17 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났으나 fructose 및 glucose 함량이 각각 약 13.42~14.67 mg/g 에서 약 113.48~203.76 mg/g 및 약 60.32~69.05 mg/g 에서 약 195.60~303.87 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타나 생육기간 동안 메밀싹기름채소의 총 유리당 함량 역시 약 160.81~180.42 mg/g 에서 약 353.51~566.81 mg/g 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 크게 증가하는 것으로 나타났다. 발아 5일 경과 후 대조구 (Control) 를 제외한 MeJA, NaCl 및 light 처리 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유리당 함량 증가율이 약 100.72~175.45% 로 대조구 (Control) 의 총 유리당 함량 증가율인 약 252.47% 에 비해 다소 낮은 것으로 나타났으나 발아 3일 경과 후 대조구 (Control) 를 제외한 MeJA, NaCl 및 light 처리 실험구들 (Me, MN, ML 및 MNL) 의 총 유리당 함량은 대조구 (Control) 의 총 유리당 함량과 유사하거나 오히려 더 높은 것으로 나타나 메밀싹기름채소의 생육기간만 조절한다면 MeJA, NaCl 및 light 의 병행처리가 메밀싹기름채소에 함유되어 있는 유리당 함량의 증가에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 기대되어진다.

Table 25. Changes of free sugar contents (mg/g) with combined treatment of MeJA, NaCl and light during germination time of buckwheat sprouts

Samples <sup>2)</sup>	Fructose <sup>1)</sup>	Glucose <sup>1)</sup>	Maltose <sup>1)</sup>	Lactose	Sucrose	Total <sup>1)</sup>
AG 1 day	13.42 ± 0.32	60.31 ± 0.70	87.07 ± 0.03	-	-	160.81 ± 0.99
Control AG 3 day	66.34 ± 0.36	144.31 ± 0.27	86.15 ± 0.42	-	-	296.82 ± 0.51
AG 5 day	203.75 ± 0.67	303.87 ± 0.36	59.17 ± 0.61	-	-	566.80 ± 0.92
AG 1 day	13.73 ± 0.44	63.10 ± 0.17	90.66 ± 0.57	-	-	167.50 ± 0.04
Me AG 3 day	69.84 ± 0.25	156.50 ± 0.60	87.06 ± 0.93	-	-	313.42 ± 1.80
AG 5 day	160.89 ± 0.46	252.59 ± 1.35	47.88 ± 0.17	-	-	461.37 ± 2.00
AG 1 day	13.60 ± 1.51	69.05 ± 1.33	93.93 ± 0.90	-	-	176.59 ± 2.76
MN AG 3 day	72.28 ± 1.28	153.69 ± 1.12	80.84 ± 0.70	-	-	306.83 ± 3.10
AG 5 day	134.14 ± 0.03	218.58 ± 0.66	56.57 ± 0.23	-	-	409.30 ± 0.39
AG 1 day	14.67 ± 0.24	65.56 ± 0.36	100.17 ± 1.39	-	-	180.41 ± 0.78
ML AG 3 day	54.28 ± 0.08	133.53 ± 0.46	76.10 ± 0.11	-	-	263.92 ± 0.42
AG 5 day	122.20 ± 0.48	205.62 ± 0.83	39.63 ± 1.22	-	-	367.47 ± 2.54
AG 1 day	13.95 ± 0.47	65.87 ± 0.84	96.29 ± 1.05	-	-	176.12 ± 2.37
MNL AG 3 day	53.21 ± 0.70	134.09 ± 3.90	73.86 ± 1.27	-	-	261.17 ± 3.33
AG 5 day	113.47 ± 0.33	195.59 ± 0.39	44.42 ± 1.26	-	-	353.50 ± 0.52

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Treatment: Control, Me: 0.1 mM MeJA, MN: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl, ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr

Table 26. The correlation analysis of total phenolics contents, DPPH radical scavenging activity, Frap assay, rutin and carotenoid contents of buckwheat sprouts

	Total phenolics contents	DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	Frap assay	Rutin contents	Carotenoid contents
Total phenolics contents	1.0000	-0.8994 <sup>**1)</sup>	0.9971 <sup>**</sup>	0.9867 <sup>**</sup>	0.8943 <sup>**</sup>
DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	-	1.0000	-0.9019 <sup>**</sup>	-0.9002 <sup>**</sup>	-0.7800 <sup>**</sup>
Frap assay	-	-	1.0000	0.9866 <sup>**</sup>	0.8965 <sup>**</sup>
Rutin contents	-	-	-	1.0000	0.9393 <sup>**</sup>
Carotenoid contents	-	-	-	-	1.0000

<sup>1)\*\*</sup>: significant at  $p < 0.001$ .

### (11) 상관분석

대조구 및 실험구의 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량 실험 결과의 관련성을 알아보기 위하여 상관분석을 실시한 결과는 **Table 26**에 나타내었다. 메밀 새싹의 총 페놀 함량과 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량은 모두 양의 상관관계를 나타내어 총 페놀 함량이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 반면 DPPH 라디칼 소거능의 50% 저해율 (IC<sub>50</sub> value) 은 총 페놀 함량과 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량과 음의 상관관계를 나타내어 DPPH 라디칼 소거능의 50% 저해율이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량은 모두 감소하는 것으로 나타났다. 모든 상관분석 결과는 99.9%의 신뢰수준 ( $p < 0.001$ ) 을 나타내었다.

### 다. 병행 처리에 따른 메밀새싹채소의 유통 품질 특성

#### (1) 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2010년에 재배된 종자를 구입하여 사용하였다. 메밀 종자 200 g 를 세척 후 1,000 mL 의 물에 담귀 25 ± 2°C 의 인큐베이터에서 4시간 동안 침수시킨 뒤 수분을 제거한 후 5 개의 실험군으로 균등하게 분할하여 1일 4회 15분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 7일간 18 ± 2°C 의 암실에서 재배하였다. 재배 3일 경과 후 메밀새싹이 발아하기 시작하면 각 실험군에 10 mM NaCl 및 0.1 mM MeJA 을 1일 1회 각각 100 mL 씩 5시간의 간격을 두고 스프레이로 분주하여 처리하였으며, 발아가 시작되고 생육기간 7일 경과 후 각각 수확하였다. 수확 시 뿌리부분을 제외한 줄기 이상의 부분을 절단하여 즉시 20 x 25 cm 크기의 필름봉지 (LDPE, 30 μm) 에 약 50 ± 5 g 씩 packing 한 후 5 ± 1°C 에 저장하였으며, 0, 2, 4, 6, 8, 그리고 10일 경과한 메밀새싹기름채소는 각각 -70 ± 5°C 의 온도에서 동결처리하고, 동결된 메밀새싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

#### (2) 외관 변화

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀새싹기름채소 외관의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 94** 에 나타내었다. 수확 후 저장기간이 경과됨에 따라 외관상으로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 노화가 진행되어 노란 빛이 진하게 나타났으

며, 이는 노화 현상으로 인한 갈변이 진행되기 때문인 것으로 판단되어지나 대조구 (Control) 와 MeJA 및 NaCl 처리 실험구들 (MeJA 및 MeNa) 간의 큰 차이는 보이지 않는 것으로 나타났다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 노화 및 외관에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

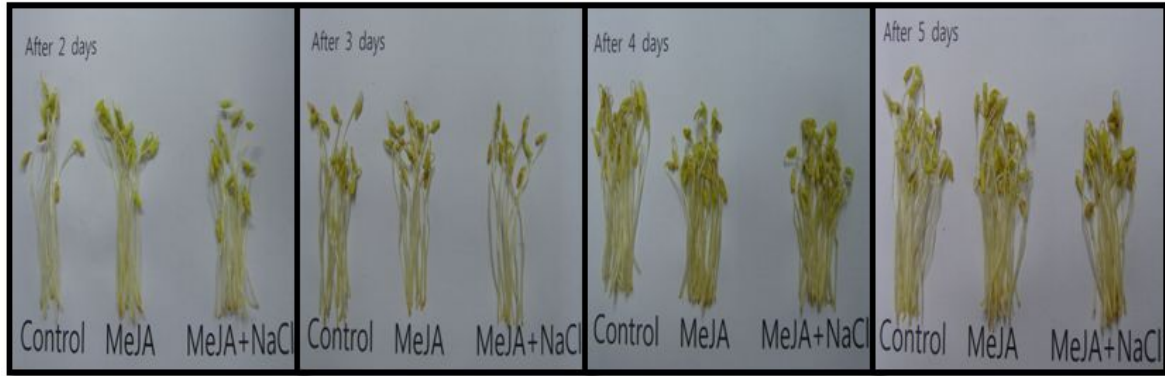


Fig. 94. Changes in appearance of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

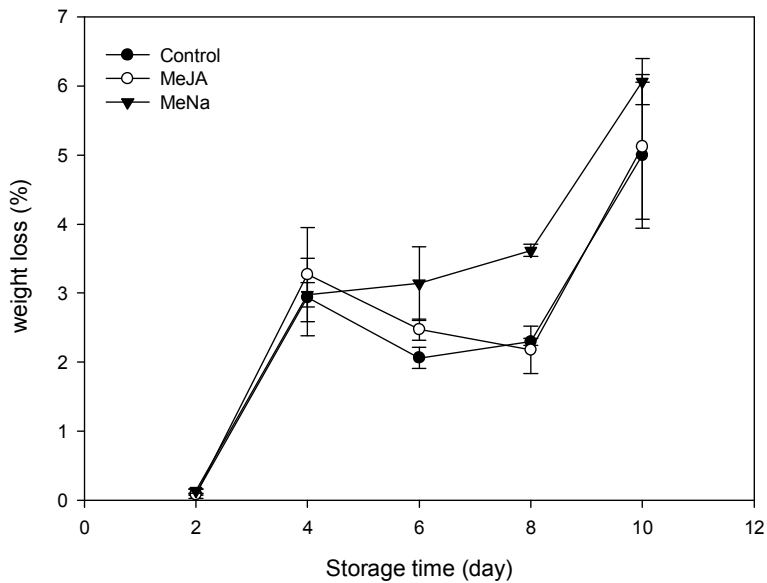


Fig. 95. Changes in weight loss (%) of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

### (3) 중량 감소율

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 중량 감소율 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 95** 에 나타내었다. 메밀싹기름채소의 중량 감소율은 저장 2일 경과 후 약 0.10~0.14% 에서 저장 10일 경과 후 약 4.99~6.06% 로 저장 기간이 경과함에 따라 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 저장 2~4일 및 8~10일 경과하는 기간 동안 급격하게 증가하는 것으로 나타났다. 하지만 저장 4~8 일 경과되는 기간 동안 대조구 (Control) 및 MeJA 단독처리 실험구 (MeJA) 의 중량 감소율이 다소 감소하는데 비해 NaCl 과 MeJA 를 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 중량 감소율은 여전히 증가하는 것으로 나타나 NaCl 의 처리가 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 중량 감소율에 어느 정도 영향을 미치는 것으로 사료되어진다.

### (4) 색도 및 갈색도

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 색도 및 갈색도의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 96** 에 나타내었다. 메밀싹기름채소의 색도 L 값은 수확 직 후 약 82.19~83.21 에서 저장 기간 10일 경과 후 약 75.07~76.36 으로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났으며, 메밀싹기름채소의 색도 a 값은 수확 직 후 약 -0.08~0.18 에서 저장 기간 10일 경과 후 약 3.46~3.92 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 증가하는 경향을 보였으며, 메밀싹기름채소의 색도 b 값은 수확 직 후 약 24.81~25.58에서 저장 기간 10일 경과 후 약 24.03~24.55 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 대조구 (Control) 및 실험구들 (MeJA 및 MeNa) 간의 큰 차이를 보이지 않으므로 따라서 수확 후 메밀싹기름채소의 저장기간에 따른 색도 값은 NaCl 및 MeJA 의 병행처리에 큰 영향을 받지 않는 것으로 사료된다. 저장 기간이 경과함에 따른 메밀싹기름채소의 갈색도 값은 수확 직 후 약 3.91~4.24 에서 저장 기간 10일 경과 후 약 4.91~5.87 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 다소 증가하는 것으로 나타났으며, 이는 메밀싹기름채소의 색도 L 값이 저장기간이 경과함에 따라 다소 감소하는 경향을 보이는 것과 관련이 있는 것으로 보인다. 또한 대조구 (Control) 의 갈색도 값이 수확 직 후 약 4.24에서 저장 10일 경과 후 약 5.21로 약 23.07%, MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 의 갈색도 값이 약 3.91에서 저장 기간 10일 경과 후 약 4.91로 약 25.70% 증가하는 데 비해 NaCl 과 MeJA 의 병행처리 실험구 (MeJA) 의 갈색도 값은 수확 직 후 약 4.10에서 약 5.87 로 약 42.99% 의 높은 증가율을 보이는 것으로 나타났으나 이는 저장 기간 8일 경과 후부터 급격하게 증가한 것으로, 저장 기간 6일 경과까지는 약 8.63% 로 대조구 및 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 의 약 23.91 및 35.87% 증가율보다도 낮은 증가율을 나타내



었다. 따라서 NaCl 이 메밀싹기름채소의 저장 기간에 따른 갈변도에 영향을 미치며 이에 메밀 싹기름채소의 갈색도 값에도 영향을 미치는 것으로 판단되어지나 이는 메밀 새싹의 수확 후 저장 기간이 6일 경과 된 이후이므로 수확 후 메밀싹기름채소의 저장 기간을 6일 이내로 할 경우에는 오히려 갈변이 억제되는 효과도 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

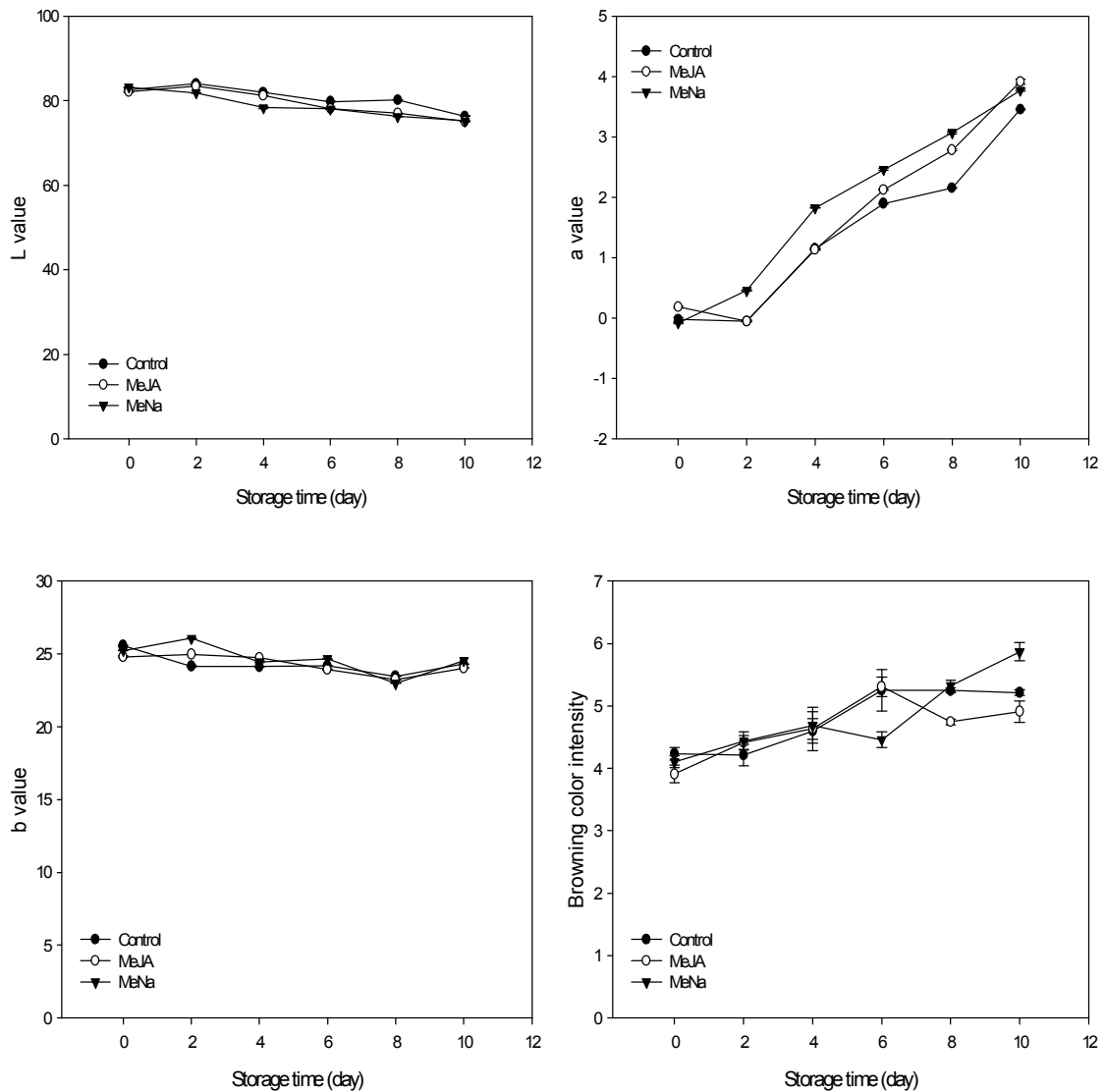


Fig. 96. Changes in color values and browning color intensity of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

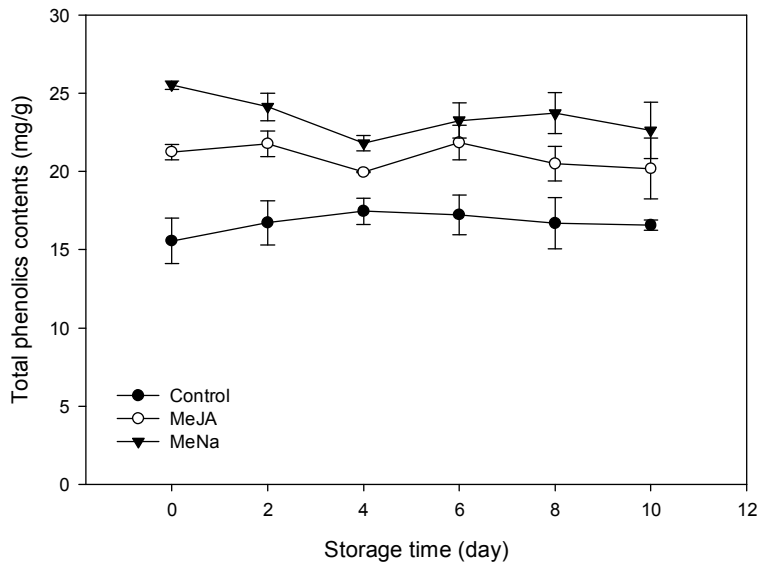


Fig. 97. Changes in total phenolics contents (mg/g) of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

#### (5) 총 페놀 함량

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 97** 에 나타내었다. 저장기간이 경과함에 따라 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량은 수확 직후 약 15.54~25.54 mg/g 에서 저장 10일 경과 후 약 16.57~22.63 mg/g 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났으나 저장 기간에 따른 큰 차이는 보이지 않았다. 수확 후 10 일의 저장 기간 동안 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 및 NaCl 과 MeJA 을 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 총 페놀 함량이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 14.25~36.54% 및 24.92~64.07% 높은 것으로 나타나 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량 증가에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 즉, NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량 증가에 는 영향을 미치지 않지만, 수확 후 저장 기간이 경과함에 따른 총 페놀 함량의 감소에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 총 페놀 함량의 변화에 유용한 영향을 미치는 것으로 사료된다.

(6) DPPH 라디칼 소거능

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 98 에 나타내었다. 저장 기간이 경과함에 따른 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능을 100 mg% 농도에서 측정한 결과, 수확 직 후 약 55.11~89.97% 에서 약 47.33~75.83% 로 대조구 (Control) 를 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났으나 저장 기간에 따른 큰 차이는 보이지 않았다. 수확 후 10일의 저장 기간 동안 NaCl 과 MeJA 을 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 DPPH 라디칼 소거능이 대조구 (Control) 에 비해 약 37.14~68.99% 높은 것으로 나타났으며, 대조구 (Control) 에 비해 약 41.95~66.91% 높은 것으로 나타난 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 보다도 대체적으로 높은 값으로 나타나 특히 NaCl 과 MeJA 의 병행 처리가 메밀싹기름채소의 DPPH 라디칼 소거능에 유용한 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 총 페놀 함량이 DPPH 라디칼 소거능과 연관성을 가지며 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 메밀싹기름채소의 저장 기간이 경과함에 따른 항산화 활성에도 유용한 영향을 미치는 것으로 사료되었다.

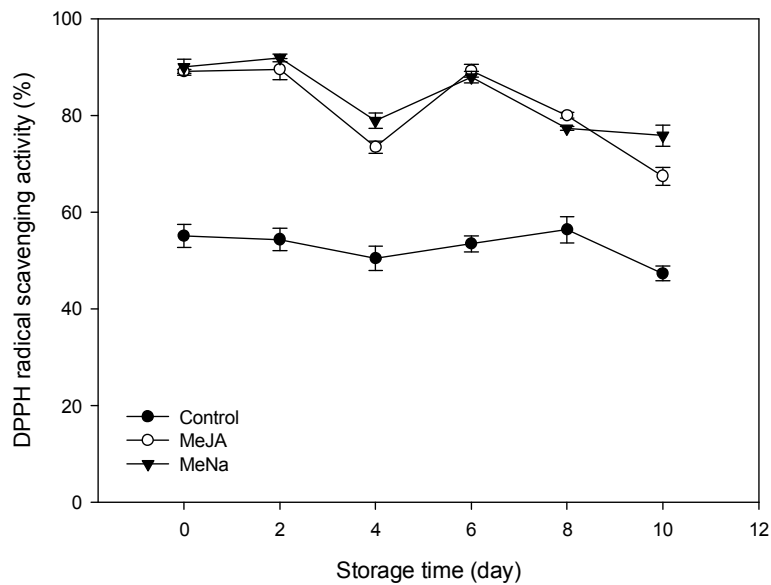


Fig. 98. Changes in DPPH radical scavenging activity (%) in 100 mg% concentration of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C. All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

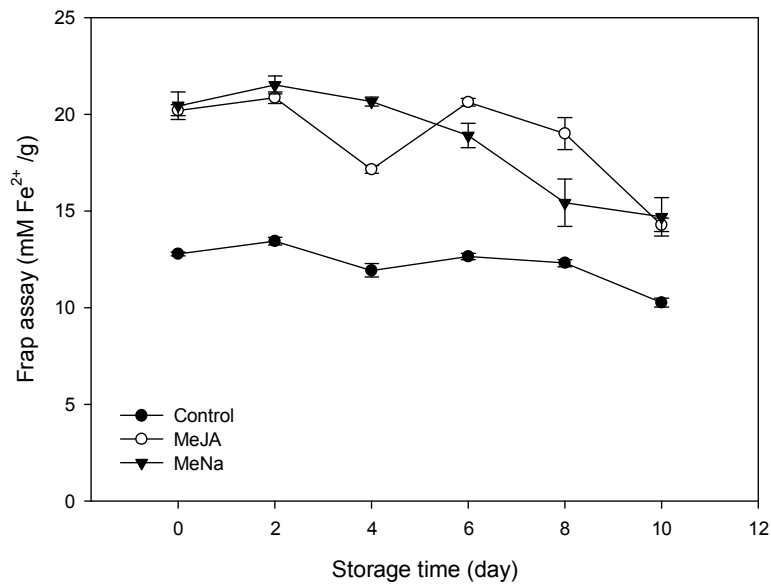


Fig. 99. Changes in frap assay (mM Fe<sup>2+</sup>/g) of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean ± SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

#### (7) Frap assay

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 frap assay 에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 99** 과 같이 수확 직 후 약 12.79~20.44 mM Fe<sup>2+</sup>/g 에서 저장 기간이 경과함에 따라 약 10.26~14.70 mM Fe<sup>2+</sup>/g 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 다소 감소하는 것으로 나타났다. 수확 직 후 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 및 NaCl 과 MeJA 를 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 frap assay 값이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 57.95 및 59.85% 높은 것으로 나타났으며, 저장 기간이 10일 경과한 이 후에도 MeJA 단독 처리 실험구 (MeJA) 및 NaCl 과 MeJA 을 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 frap assay 값이 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 39.11 및 43.20% 높은 것으로 나타났다. 따라서 NaCl 과 MeJA 의 병행 처리가 메밀싹기름채소의 frap assay 에 유용한 영향을 미치며, 이는 메밀 새싹 을 수확한 후 10일의 저장 기간 동안에도 지속되는 것으로 사료된다.

#### (8) 루틴 함량

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 루틴 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 100** 에 나타내었다. 수확 직 후 메밀싹기름채소의

루틴 함량은 약 99.40~110.01 mg/g 에서 저장 기간 6일 경과 후 약 125.00~139.79 mg/g 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 약 25.75~27.07% 증가하는 것으로 나타났으며, 그 이후로는 다소 감소하는 경향은 보였으나 수확 직 후 메밀싹기름채소의 초기 루틴 함량에 비해 저장 기간이 10일 경과 후 메밀싹기름채소의 루틴 함량은 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 약 7.22~15.47% 증가하는 것으로 나타났다. 특히, NaCl 과 MeJA 을 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 루틴 함량은 수확 직 후 약 110.01 mg/g 에서 저장 기간 6일 경과 후 약 139.79 mg/g 로 증가하였으며, 저장 기간 10일 경과 후에는 약 122.92 mg/g 로 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 10.67, 11.83 및 7.10% 높은 값을 나타내었다. MeJA 만 단독 처리한 실험구 (MeJA) 의 루틴 함량도 수확 직 후 약 104.69 mg/g 에서 저장 기간 6일 경과 후 약 131.63 mg/g 로 증가하였으며, 이는 대조구 (Control) 에 비해 각각 약 5.32 및 5.31% 높은 것으로 나타났다. 이러한 실험 결과는 NaCl 과 MeJA 가 메밀싹기름채소의 루틴 함량의 증가에 긍정적인 영향을 미친다는 것을 나타내며, 특히 NaCl 과 MeJA 를 병행 처리할 경우 그 효과는 더 증가하는 나타나는 것으로 확인되었으며 이러한 NaCl 과 MeJA 병행 처리의 효능은 수확 후 메밀싹기름채소의 저장 기간 동안에도 안정적인 것으로 사료되어진다.

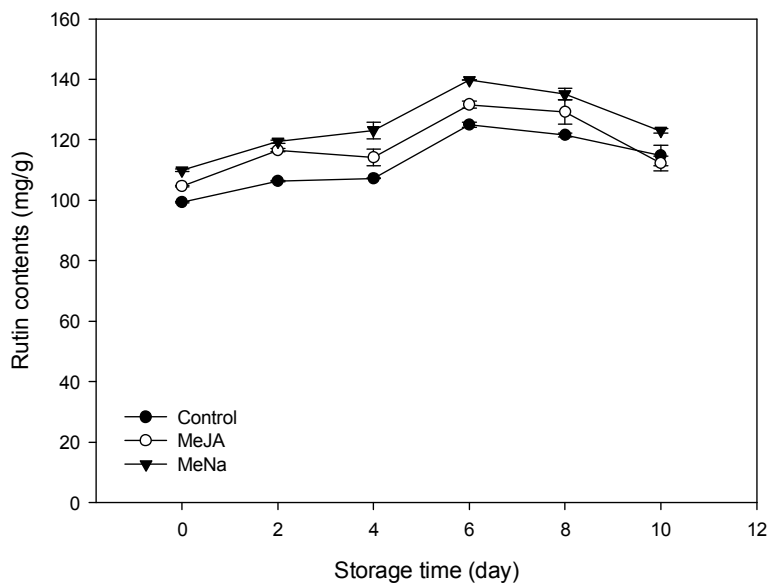


Fig. 100. Changes in rutin contents (mg/g) of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

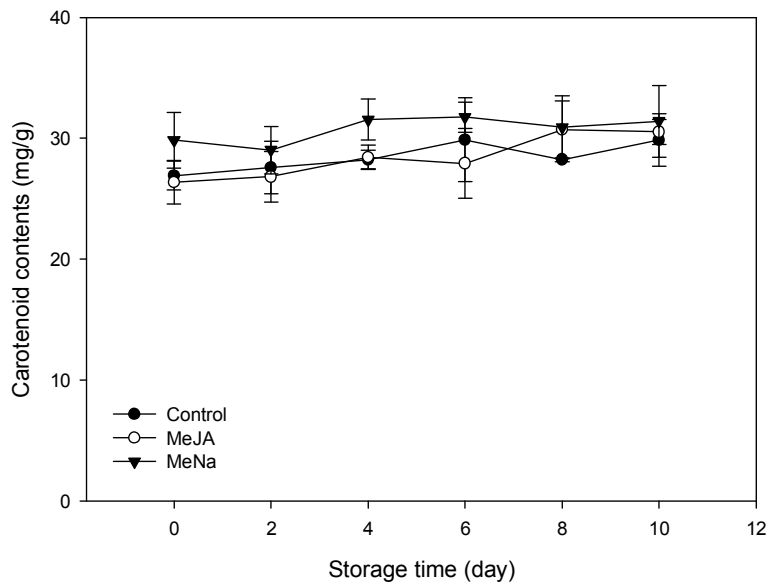


Fig. 101. Changes in carotenoid contents (mg/g) of buckwheat sprouts with combined treatment of NaCl and MeJA during storage at 5°C.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Treatment: Control, MeJA: 0.1 mM MeJA, MeNa: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl.

#### (9) 카로티노이드 함량

NaCl 과 MeJA 의 병행처리가 수확 후 저장 기간에 따른 메밀싹기름채소의 카로티노이드 함량의 변화에 미치는 영향을 알아본 결과는 **Fig. 101** 에 나타내었다. 수확 직후 메밀싹기름채소의 카로티노이드 함량은 약 26.92~29.85 mg/g 에서 저장 기간 4일 경과 후 약 28.25~31.56 mg/g 로 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 다소 증가하여 가장 높은 카로티노이드 함량을 나타냈으며, 그 이후로는 다소 감소하는 경향은 보였으나 수확 직후 메밀싹기름채소의 초기 카로티노이드 함량에 비해 저장 기간 10일 경과 후 메밀싹기름채소의 카로티노이드 함량은 대조구 (Control) 을 포함한 모든 군에서 약 10% 증가하는 것으로 나타났다. 특히, MeJA 만 단독 처리한 실험구 (MeJA) 의 카로티노이드 함량은 수확 직후 약 26.37 mg/g 에서 저장 기간 4일 경과 후 약 28.44 mg/g 로 약 10% 증가하였으며, 저장 기간 10일 경과 후에는 약 30.53 mg/g 로 약 20% 증가하여 가장 높은 증가율을 나타냈으며, NaCl 과 MeJA 을 병행 처리한 실험구 (MeNa) 의 카로티노이드 함량은 수확 직후 약 29.85 mg/g 에서 저장 기간 4일 경과 후 약 31.56 mg/g 로 약 5.7% 증가하였으며, 저장 기간 10일 경과 후에는 약 30.53 mg/g 로 약 5.2% 증가하는 것으로 나타났다. 이는 대조구 (Control) 의 카로티노이드 함량이 저장 기간의 경과에 따라 약 5.22~15.77% 증가하는 것에 비해 높은 증가율을 나타내고 있으며, 따라서 NaCl 과 MeJA 는 메밀싹기름채소의 수확 후 저장기간에 따른 카로티노이드 함량의 변화에 있어서 유용한 영향을 미친다고 사료된다.

## 제 3 절 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 식품 소재화 연구

### 1. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 영양성분 분석

#### 가. 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 적정 elicitor 처리에서 효과를 나타낸 4종을 선별하여 처리하였으며, 그 처리 조건은 대조구, 0.1 mM MeJA 처리구, 30 cps 0.1% Chitosan 처리구 및 0.05% MSM 처리구로 구분하였다.

#### 나. 영양성분분석

메밀싹기름채소에 적정 elicitor 처리에서 효과를 나타낸 3 가지 처리구를 생육 시기별로 수확한 후 시기별 영양성분 분석을 실시한 결과는 Fig. 102~106 과 같다. 수율의 경우 발아 3일까지 처리구별 큰 차이를 나타내지 않았으나 발아 5일 후에 다소 차이를 나타내어 chitosan 처리구가 가장 높은 수율을 나타내었다. 총 페놀 함량에 있어서 모든 처리구가 발아 전후에 메밀씨에 비하여 감소하였다가 발아 3일 이후에는 급격히 증가하였다. 대조구에 비하여 MeJA 처리구는 약 50% 이상의 총 페놀 함량 증가를 나타내었으며 chithsan 처리구도 약 10% 내외의 증가를 나타내었다. 생육시기별로는 생육 5일 이후에는 증가율이 감소하여 발아 후 5일에서 7일 사이에 처리구간의 차이가 가장 큰 것으로 나타났다. 총 페놀 함량이 가장 크게 나타난 MeJA 처리구의 phenolic compound 의 증가율을 조사한 결과 루틴의 함량이 가장 크게 증가하는 것으로 나타났다. 루틴 함량은 발아 3일에서 5일 사이에 가장 높은 증가율을 나타내었고, orinitine, vitexin, homoorientine 등의 증가율은 초기 수준과 유사한 반면 루틴은 약 40% 이상의 증가를 나타내었다. 또한, DPPH 라디칼 소거능에 있어서도 총 페놀 함량 및 루틴함량과 유사한 경향을 나타내었으며, MeJA 처리구가 발아 3일 이후부터 증가하여 5일 및 7일에서 대조구에 비하여 약 25% 이상 DPPH 라디칼 소거능 증가 효과를 나타내었다.

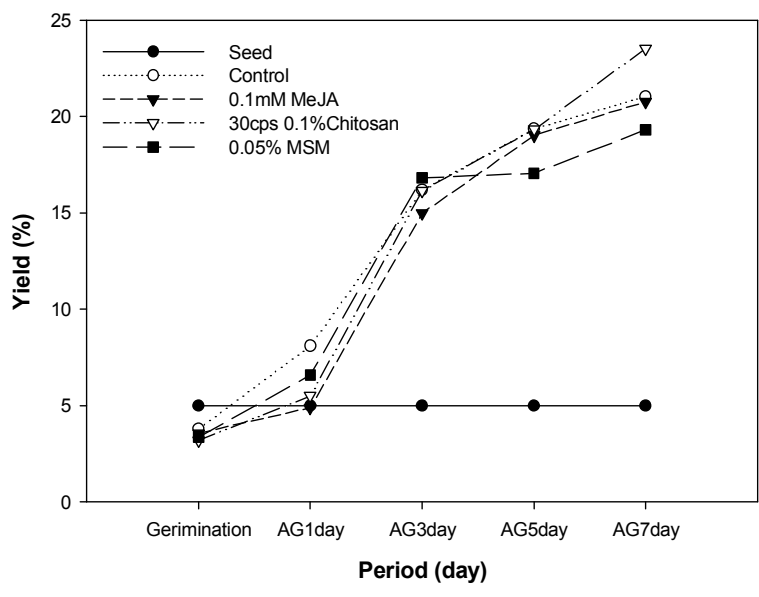


Fig. 102. Changes of yield (%) by ethanolic extracts from abiotic treated buckwheat sprouts.

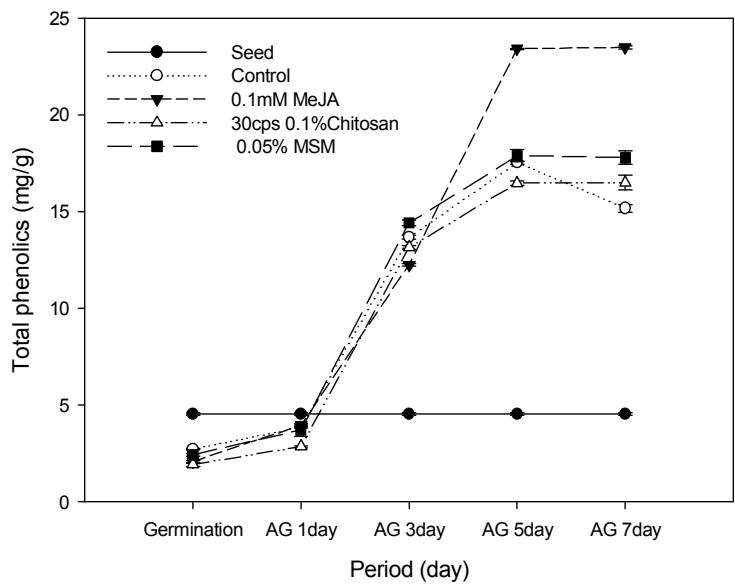


Fig. 103. Changes of phenolics contents (mg/100 g) by ethanolic extracts from abiotic treated buckwheat sprouts.



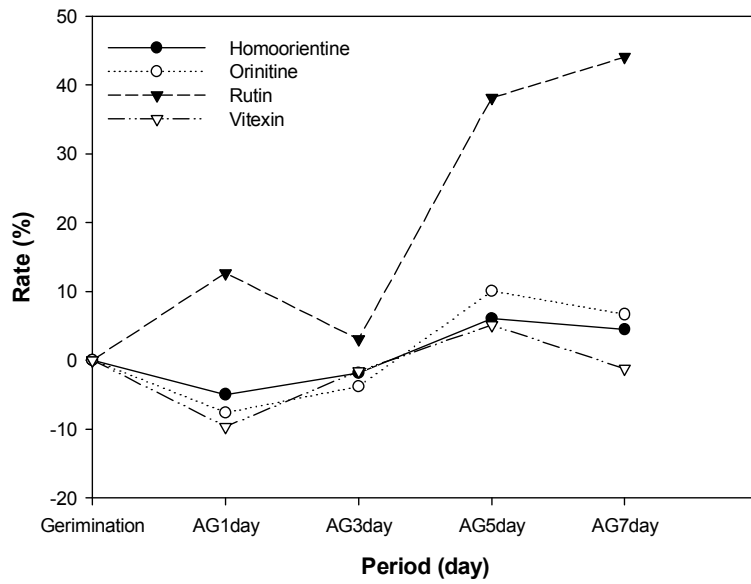


Fig. 104. Changes rate (%) on phenolic compounds composition by ethanolic extracts from MeJA treated buckwheat sprouts.

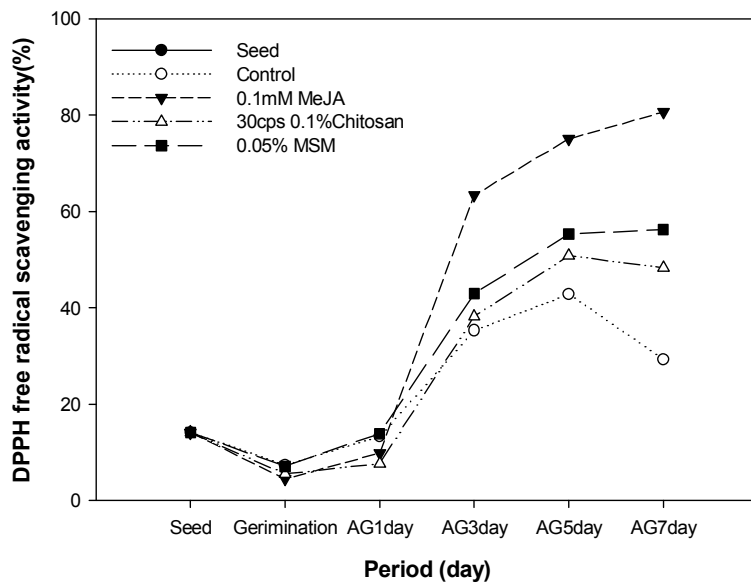


Fig. 105. Changes of DPPH free radical scavenging activity (%) by ethanolic extracts from abiotic treated buckwheat sprouts.

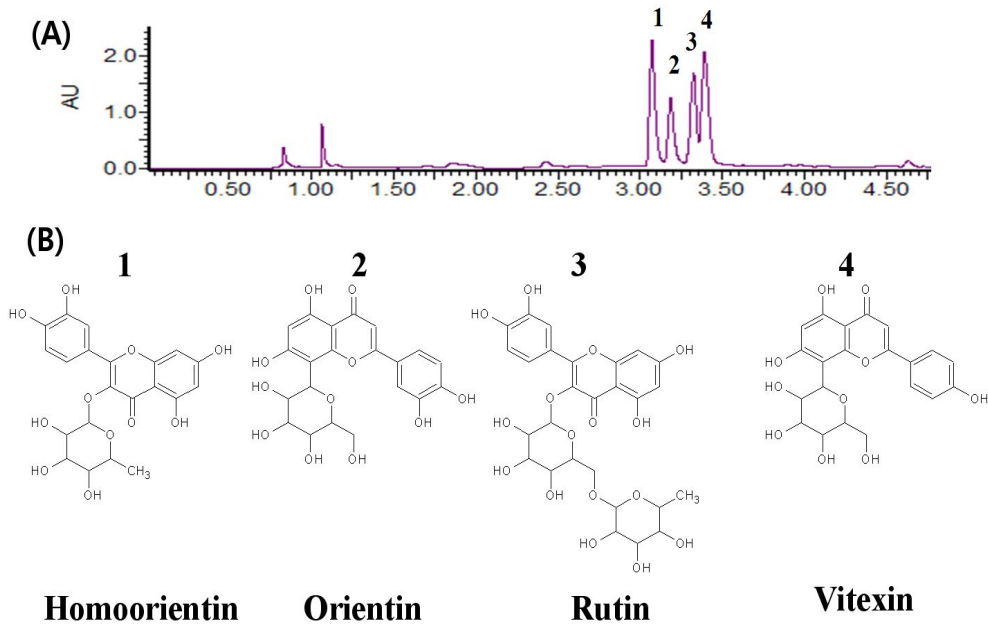


Fig. 106. UPLC profile of buckwheat sprouts extracts (A) and its main compounds (B).

#### 다. 유리당, 유기산 및 아미노산 함량

메밀싹기름채소의 생육 시기별로 수확한 후 유리당, 유기산 및 아미노산 함량을 분석한 결과는 **Table 27~30** 과 같이 유리당 함량 중 fructose 함량에 있어서 대조구가 가장 높은 것으로 나타났으며, MeJA 처리구는 glucose, maltose, sucrose 함량에서는 대조구와 유사한 경향을 나타내었다. 유기산 함량의 경우 생육시기가 증가할수록 그 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 대조구에 비하여 MeJA 처리구는 유기산 함량이 약 2배 증가하는 것으로 나타났다. 기타 처리구의 유기산 함량은 대조구와 유사한 경향을 나타내는 것으로 보였다. 유리아미노산의 함량 변화를 조사한 결과는 아래의 표와 같이 대조구와 가장 효과가 우수한 MeJA 처리구를 중심으로 분석하였다. 유리아미노산 함량의 생육일수의 증가에 따른 경향성은 나타나지 않았다. 대조구와 비교할 때 MeJA 처리구의 유리아미노산 함량이 다소 감소하는 것으로 나타났으나, 생육일수에 따라 그 변화가 심하였다. 결과적으로 MeJA 처리구와 대조구에서는 총 페놀 함량 및 항산화 활성 등이 매우 증가함에도 불구하고, 영양적인 차이는 크지 않은 것을 알 수 있어 메밀싹기름채소의 품질을 향상시키는데 MeJA 처리가 적절한 것임을 알 수 있었다.

Table 27. Free sugar contents (%) of buckwheat sprouts extracts

Samples	Fructose	Glucose	Maltose	Sucrose	Total
Seed	0.001	0.004	0.098	0.008	0.111
Control					
Germination	0.0050	0.0220	0.0750	0.0080	0.1100
A.G. 1day	0.0310	0.1460	0.1000	0.0050	0.2820
A.G. 3day	0.2610	0.5080	0.0900	0.0030	0.8620
A.G. 5day	0.3370	0.5730	-	-	0.9100
A.G. 7day	0.4350	0.7030	0.0100	0.0080	1.1560
0.1mM MeJA					
Germination	0.0050	0.0190	-	0.0080	0.0320
A.G. 1day	0.0160	0.0840	-	0.0060	0.1060
A.G. 3day	0.1510	0.3810	-	0.0030	0.5350
A.G. 5day	0.2370	0.4890	0.0050	0.0050	0.7360
A.G. 7day	0.2130	0.5280	0.0110	0.0040	0.7560
30 cps 0.1% Chitosan					
Germination	0.0040	0.0250	-	0.0060	0.0350
A.G. 1day	0.0280	0.1210	-	0.0110	0.1600
A.G. 3day	0.2690	0.5080	-	0.0070	0.7840
A.G. 5day	0.3480	0.5790	-	0.0030	0.9300
A.G. 7day	0.4780	0.8120	0.0160	0.0030	1.3090
0.05% MSM					
Germination	0.0070	0.0250	-	-	0.0320
A.G. 1day	0.0330	0.1510	-	0.0110	0.1950
A.G. 3day	0.2970	0.5450	-	0.0070	0.8490
A.G. 5day	0.1670	0.3150	0.0050	0.0050	0.4920
A.G. 7day	0.1840	0.3670	0.0070	0.0060	0.5640

Table 28. Organic acid contents (mg/100 g) of buckwheat sprouts extracts

Samples	Oxalic Acid <sup>1)</sup>	Tartaric Acid <sup>1)</sup>	Fomic Acid <sup>1)</sup>	Malic Acid <sup>1)</sup>	Acetic Acid <sup>1)</sup>	Total <sup>1)</sup>	
Seed	4408 ± 0.42	2979 ± 0.71	9.88 ± 0.84	366.14 ± 0.00	1242.53 ± 0.00	888.09 ± 619.99	
Gemination	20.43 ± 0.19	57.14 ± 1.21	3.01 ± 0.60	65.54 ± 7.69	25.67 ± 0.00	158.95 ± 25.05	
AG 1day	22.99 ± 0.00	65.94 ± 0.47	5.60 ± 0.60	88.62 ± 2.15	42.25 ± 0.14	225.40 ± 1.22	
Control	AG 3day	70.85 ± 3.91	127.28 ± 2.61	12.87 ± 0.07	1375.22 ± 6.58	119.34 ± 28.15	1705.54 ± 22.79
	AG 5day	159.29 ± 0.43	84.31 ± 7.48	18.52 ± 0.17	2685.72 ± 14.07	234.77 ± 11.79	3182.61 ± 33.60
	AG 7day	297.71 ± 3.25	104.07 ± 11.51	22.69 ± 1.23	3731.84 ± 3.43	290.22 ± 8.64	4446.52 ± 14.71
Gemination	20.15 ± 0.05	62.67 ± 0.73	3.60 ± 0.03	56.31 ± 0.00	24.00 ± 0.00	126.56 ± 23.56	
AG 1day	25.76 ± 0.16	67.52 ± 0.04	4.38 ± 1.13	78.16 ± 1.01	32.57 ± 6.77	208.38 ± 7.01	
0.1mM MeJA	AG 3day	67.90 ± 0.34	123.99 ± 3.64	13.27 ± 0.97	2069.89 ± 10.41	132.24 ± 7.56	2407.29 ± 0.15
	AG 5day	123.60 ± 1.83	89.77 ± 10.45	29.41 ± 6.26	5390.66 ± 209.22	391.04 ± 26.34	6024.49 ± 254.10
	AG 7day	366.90 ± 0.00	95.05 ± 7.50	12.74 ± 1.66	8494.77 ± 113.87	660.89 ± 77.30	9630.36 ± 197.00
Gemination	21.55 ± 0.15	49.52 ± 24.53	-	4060.83 ± 1749.01	2336.13 ± 256.29	6468.02 ± 1468.35	
AG 1day	25.91 ± 0.09	65.24 ± 0.10	4.96 ± 0.78	68.10 ± 5.41	26.54 ± 8.44	190.76 ± 14.44	
30cps 0.1% Chitosan	AG 3day	67.95 ± 0.65	128.70 ± 1.70	16.41 ± 2.43	1485.15 ± 3.60	140.43 ± 6.25	1838.63 ± 9.78
	AG 5day	160.40 ± 1.26	82.33 ± 1.33	22.10 ± 0.30	3056.58 ± 22.94	275.05 ± 4.71	3536.45 ± 15.94
	AG 7day	183.17 ± 0.00	120.45 ± 0.00	123.20 ± 0.00	4511.28 ± 0.00	3534.61 ± 0.00	4889.53 ± 0.00
Gemination	19.67 ± 0.30	54.55 ± 0.44	3.07 ± 1.07	56.34 ± 25.47	2186.22 ± 309.89	2319.84 ± 282.62	
AG 1day	22.10 ± 0.00	69.07 ± 0.36	4.77 ± 0.82	88.22 ± 7.54	36.85 ± 4.01	209.96 ± 5.27	
0.05% MSM	AG 3day	62.90 ± 0.73	141.95 ± 3.09	17.24 ± 2.64	1597.02 ± 5.66	101.93 ± 4.22	1921.03 ± 8.71
	AG 5day	74.24 ± 0.00	62.82 ± 0.83	12.54 ± 0.15	2144.93 ± 240.96	231.48 ± 0.00	2373.15 ± 128.81
	AG 7day	92.61 ± 0.00	97.63 ± 6.81	23.13 ± 4.51	2887.37 ± 16.69	368.56 ± 32.13	3422.99 ± 112.01

<sup>1)</sup>Values are means ± SD (n=3).

Table 29. Free amino acid contents (mg/100 g) of non-treated buckwheat sprouts

	Germination	AG 1 day	AG 3 day	AG 5 day	AG 7 day
Cys	-	-	-	-	-
ASP	4.1123	4.9326	0.3946	2.5931	2.9851
GLU	12.3060	12.3817	9.0489	9.9143	16.7630
ASN	1.7739	2.0217	0.6480	0.5864	0.7385
SER	2.8639	4.4766	0.4371	1.2550	1.5732
GLN	5.6101	9.7497	19.2014	23.2236	26.0118
GLY	8.3039	7.5487	3.7205	4.6438	6.0196
HIS	2.8614	3.5262	4.7138	5.6661	7.3507
ARG	0.4371	1.4772	3.7810	4.4390	6.4127
THR	2.7876	5.3869	2.6263	4.0113	6.1048
ALA	11.0249	10.9000	5.9667	5.9644	7.9082
PRO	4.3017	5.9563	3.1499	2.4098	2.7064
TYR	2.7129	3.2561	2.0094	2.4792	3.2303
VAL	5.8527	6.3877	3.4718	4.9074	7.3018
MET	2.2481	2.5615	0.7489	1.1081	1.5360
Cys2	0.6745	0.6597	-	-	-
ILE	6.1898	6.4386	3.7533	5.1428	6.8298
LEU	7.9478	8.8968	2.0481	3.5364	5.1980
PHE	4.5116	4.5372	1.3767	1.7132	2.3311
TRP	16.4411	16.8287	7.2289	7.6834	6.6545
LYS	1.6714	1.3403	0.4649	0.5201	1.1711
TOTAL	104.6328	119.2640	74.7899	91.7974	118.8266

Table 30. Free amino acid contents (mg/100 g) of buckwheat sprouts treated with MeJA

	Germination	AG 1 day	AG 3 day	AG 5 day	AG 7 day
Cys	-	-	-	-	-
ASP	3.8276	2.9503	1.8044	4.1934	3.4771
GLU	10.9981	8.5122	8.4812	11.8163	14.1916
ASN	2.6561	1.5991	0.7883	0.6483	0.6670
SER	1.3189	1.6294	-	4.3055	4.0635
GLN	11.4791	10.1218	20.4993	20.2751	19.6930
GLY	8.7818	6.2326	5.4194	5.5364	5.6694
HIS	3.9870	3.1638	5.0766	6.0391	7.6398
ARG	13.2173	7.2093	6.9815	5.5318	6.6748
THR	6.2807	4.4032	2.9144	3.3436	5.3495
ALA	14.0994	9.2919	6.1923	5.8016	6.3971
PRO	5.7891	4.0929	2.7371	2.0344	1.9107
TYR	3.9974	2.3810	1.9673	2.5486	2.8444
VAL	7.2843	4.4466	3.5655	4.2911	5.1397
MET	2.5721	1.4505	0.6127	0.9365	0.9163
Cys2	0.2461	0.2066	0.2234	0.1865	0.1425
ILE	7.7193	5.1510	4.1011	5.0025	4.7391
LEU	8.4427	4.5148	2.1193	3.1780	2.8868
PHE	4.6416	2.6404	2.0223	1.8466	2.4027
TRP	4.0766	5.1436	4.6982	5.4753	6.2165
LYS	1.9479	0.4603	0.4944	1.6359	2.2127
TOTAL	123.3630	85.6009	80.6986	94.6262	103.2343

## 2. 반응표면분석법에 의한 메밀 (*Fagopyrum esculentum* M) 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화

### 가. 재료

본 실험에 사용된 메밀은 강원도 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입한 것을 사용하였다. 메밀 종자는 4시간 침수 시킨 뒤 건전한 것을 선별한 후 1일 4회 15 분간 분주하도록 설정한 새싹재배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 을 이용하여 7 일간 18℃ 에서 성장시켰다. 메밀새싹은 뿌리부분을 제외한 줄기이상의 부분을 절단한 즉시 -70℃ 의 온도에서 동결하였다. 동결된 메밀 새싹은 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

### 나. 추출조건에 따른 추출물의 이화학적 특성

메밀 새싹을 이용한 가공소재로의 활용성을 높이고 기능성 물질의 최적 추출 조건을 유도하고자 중심합성계획에 의한 20 구간의 추출조건에 따라 추출시험을 실시하였다. 이때 얻어진 각각의 추출물에 대하여 수율, 총 페놀성 화합물 함량,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 및 ACE 저해활성을 측정된 결과를 **Table 31** 에 나타내었다. 각각의 결과를 이용하여 최적 추출조건을 얻고자 반응표면 회귀분석을 실시하여 각 종속변수 즉, 수율, 총 페놀성 화합물 함량,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 및 ACE 저해활성에 대한 회귀식을 얻었다 (**Table 32**). 또한 변수별 최적 추출조건과 품질특성 값을 예측하여 **Table 33** 에 나타내었으며, 각각의 종속변수에 대한 추출조건의 영향을 **Table 34** 에 나타내었다. 반응변수들의 4차원 반응표면은 Mathematica program 으로 추출온도 ( $X_1$ ), 추출시간 ( $X_2$ ), 에탄올농도 ( $X_3$ ) 를 독립변수로 하여 **Fig. 107~111** 에 나타내었다.

Table 31. Experimental data on yield, total phenolics,  $\alpha$ -glucosidase inhibition rate and ACE inhibition rate in buckwheat extract under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Run no.	Yield (%)	Total phenolics (mg/100 g)	$\alpha$ -glucosidase inhibition rate(%)	ACE inhibition rate (%)
1	20.20	215.75	82.05	90.66
2	22.60	209.97	67.33	53.97
3	20.12	107.01	51.00	60.70
4	19.64	202.97	74.54	50.87
5	23.65	114.34	57.41	43.01
6	20.23	206.27	68.56	21.66
7	22.58	135.56	35.51	36.95
8	20.85	210.33	71.04	25.80
9	24.71	134.15	20.29	28.98
10	21.71	219.93	64.49	18.74
11	20.67	202.40	56.05	72.15
12	24.29	108.66	32.00	45.55
13	19.59	225.54	75.94	21.31
14	21.79	206.61	74.08	24.02
15	20.37	214.31	76.49	72.32
16	20.79	196.76	68.04	73.58
17	20.47	215.00	77.85	76.59
18	20.94	202.59	77.52	67.53
19	20.44	205.93	67.59	66.92
20	20.04	197.88	75.46	66.14

Table 32. Polynomial equations calculated by RSM program for extraction condition of buckwheat sprouts

Responses	Second order polynomials	R <sup>2</sup>	Significance
Yield	$Y_Y = 21.257022 - 0.004668X_1 + 0.174793X_2 - 0.070294X_3 - 0.002583X_1X_2 - 0.000187X_1X_3 - 0.008717X_2X_3 + 0.000719X_1^2 + 0.0048206X_2^2 - 0.000887X_3^2$	0.9461	0.0001
Total phenolics contents	$Y_{TP} = -30.920567 + 1.21229X_1 + 11.285613X_2 + 4.968912X_3 - 0.020355X_1X_2 - 0.006075X_1X_3 + 0.002334X_2X_3 - 0.006419X_1^2 - 0.00722822X_2^2 - 0.031141X_3^2$	0.8875	0.0011
$\alpha$ -Glucosidase inhibition rate	$Y_{GI} = -18.104585 - 0.410058X_1 + 8.841904X_2 + 2.382026X_3 - 0.0043985X_1X_2 + 0.010009X_1X_3 + 0.003488X_2X_3 - 0.0008X_1^2 - 0.0014348X_2^2 - 0.021464X_3^2$	0.9186	0.0002
ACE inhibition rate	$Y_{ACE} = -2.673171 - 0.403534X_1 + 16.083519X_2 + 2.451702X_3 + 0.0061223X_1X_2 + 0.002222X_1X_3 - 0.020899X_2X_3 - 0.005879X_1^2 - 0.001662784X_2^2 - 0.026871X_3^2$	0.8667	0.0024



Table 33. Predicted levels of optimum conditions for the maximized and minimized responses of variables by the ridge analysis of their response surface

Responses	Responses				Morphology
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Estimated responses	
Yield (%)	15.77	3.90	61.04	19.37 (min)	minimum
	55.75	8.75	15.65	24.95 (max)	
Total phenolics contents (mg/ 100 g)	40.93	6.35	8.26	82.19 (min)	maximum
	28.11	8.65	81.72	222.45 (max)	
α-Glucosidase inhibition rate (%)	53.96	6.54	9.20	3.01 (min)	saddle point
	9.62	7.86	57.58	85.38 (max)	
ACE inhibition rate (%)	48.27	8.60	86.92	8.58 (min)	maximum
	10.12	4.86	44.44	86.91 (max)	

Table 34. Analysis of variables for regression model of physicochemical properties in extraction condition

Extraction conditions	F-Ratio		
	Extraction temperature (°C)	Extraction time (hr)	Ethanol concentration (%)
Yield	10.34 <sup>***1)</sup>	9.79 <sup>***</sup>	28.26 <sup>***</sup>
Total phenolics	0.37	0.36	19.33 <sup>***</sup>
α-Glucosidase inhibition rate	3.02 <sup>*</sup>	0.90	25.77 <sup>***</sup>
ACE inhibition rate	2.79 <sup>*</sup>	6.03 <sup>***</sup>	9.33 <sup>***</sup>

<sup>1)</sup>\*\*\*Significant at 1% level, \*\*Significant at 5% level, \*Significant at 10% level.

(1) 수율 측정 결과

메밀 새싹의 추출조건에 따른 수율을 측정한 결과는 **Table 31** 과 같이 약 19.59~23.65%의 범위로 측정되었으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식의  $R^2$  는 약 0.9461로 유의성이 1% 이내의 수준에서 인정되었다 (**Table 32**). 예측된 최대값은 추출온도 약 55.75°C, 추출시간 약 8.75 hr 및 에탄올농도 약 15.65% 로 예측되었다(**Table 33**). 이것은 반응표면분석으로 예측된 값을 나타낸 것으로 수율은 에탄올농도에 큰 영향을 받고 있었으며, 추출온도와 시간에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 추출온도가 높고 추출시간이 길어지면 팽창된 고형물의 용해속도 및 용해력이 증가하여 수율이 증가되는 것으로 볼 수 있으며, Kim 등의 연구에서는 추출온도 및 추출시간이 증가할수록 수율이 증가하는 경향을 보였으며, Park 등의 산국 에탄올 추출물의 가용성 고형분 함량이 에탄올 농도에 영향을 많이 받고 있다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

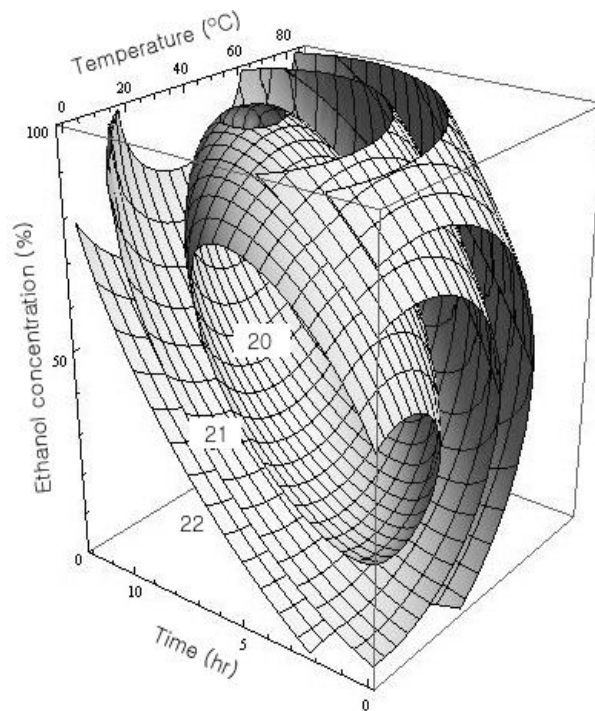


Fig. 107. Response surface for yield in buckwheat sprouts extract at constant value (yield: 20-21-22%) as a function of ethanol ratio, extraction temperature and extraction time.

## (2) 총 페놀성 화합물

식물에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 phenolic hydroxyl 그룹 때문에 단백질 또는 효소단백질, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화 효과, 2가 금속이온과의 결합력을 가진다. 따라서 본 실험에서는 메밀 새싹에 존재하는 총 폴리페놀 함량에 대하여 기준물질로 측정 비교하였다. 중심합성계획에 의한 메밀새싹 추출조건별 총 페놀성 화합물 함량은 **Table 31** 에서와 같이 약 107.01~225.54 mg/100 g 의 범위였으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식의  $R^2$  는 0.8875 로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다 (**Table 32**). 메밀새싹 추출물의 총 페놀성 화합물 함량의 예측된 정상점은 최대점으로 최대값은 추출온도 약 28.11°C, 추출시간 약 8.65 hr 및 에탄올농도 약 81.72% 로 예측되었다 (**Table 31**). 총 페놀성 화합물 함량은 에탄올농도에 큰 영향을 받고 있었으며, 추출온도 및 추출시간에 대한 영향은 다소 작은 것으로 나타났다. 통통마디의 에탄올 추출조건 연구에서 보고한 총 페놀성 화합물 함량이 추출온도에 비하여 에탄올 농도가 더 큰 영향을 주고 있다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 또한, Lee 등도 선인장의 총 페놀성 화합물 함량에서 추출온도와 추출시간이 증가할수록 높아지는 것으로 보고하여 본 실험과 유사한 경향을 나타내었다.

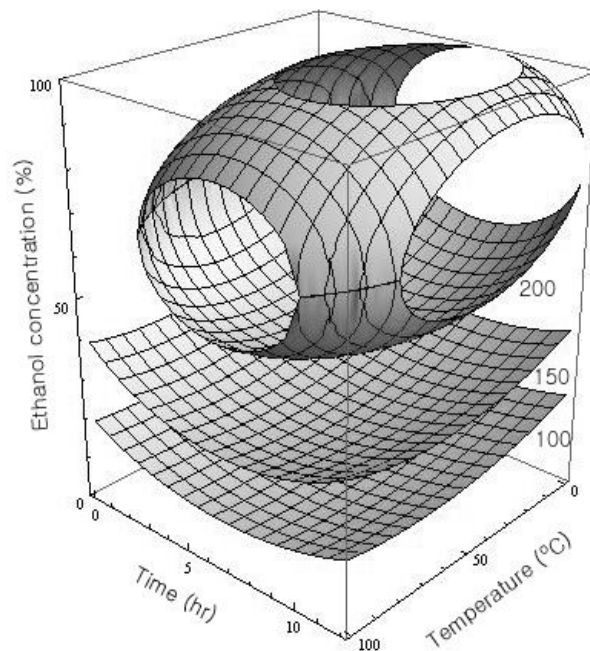


Fig. 108. Response surface for total phenolics contents in buckwheat sprouts extract at constant value (phenolics: 100–150–200 mg/100 g) as a function of ethanol ratio, extraction temperature and extraction time.

### (3) $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성

$\alpha$ -Glucosidase 는 소장점막의 미세융모막에 존재하는 효소로서 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 탄수화물의 소화와 흡수에 필수적인 효소이다. 이 효소의 억제는 다당류의 분해를 방해하여 소장에서 glucose 의 흡수를 지연시켜주어 식후 혈당의 급격한 상승을 막는 역할을 한다. 메밀새싹에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성능에 대한 추출조건별 결과는 **Table 31** 에 나타내었다. 실험 조건에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성능은 약 20.29~82.05% 로 나타났으며, 이를 바탕으로 회귀분석을 한 회귀식은 **Table 32** 에 나타내었다. 이러한  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성능 회귀식의  $R^2$  는 0.9186 로 나타났으며, 1% 이내의 범위에서 유의성이 인정되는 것으로 나타났다. 회귀식을 바탕으로 한  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성능의 예측된 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시하여 본 결과, 최대값은 약 85.38% 로 예측되었으며, 이때의 추출조건은 추출온도 약 9.6  $^{\circ}\text{C}$ , 추출시간 약 7.86 hr 및 에탄올농도 약 57.58% 로 예측되었다 (**Table 33**).  $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성능은 에탄올농도에 큰 영향을 받고 있었으며, 에탄올농도가 증가할수록 저해율이 증가하는 경향을 나타내었고, 추출시간에는 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성능에 관하여 감초 세근에 있어서도 에탄올 함량이 저해율에 큰 영향을 주지 않는 것으로 보고하여 본 실험과 다소 차이를 나타내었으나, 콩나물의 용매별 분리조건에서도 물층에 비하여 용매층이 우수한 효과를 나타내는 것으로 보고한 것으로 볼 때 시료의 특성에 따른 차이인 것으로 판단된다.

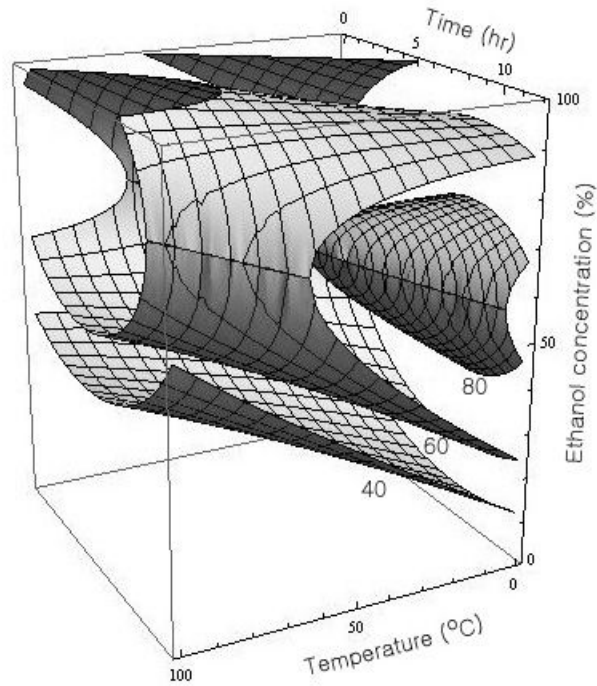


Fig. 109. Response surface for  $\alpha$ -glucosidase inhibition rate in buckwheat sprout extract at constant value ( $\alpha$ -glucosidase inhibition rate: 40-60-80%) as a function of ethanol ratio, extraction temperature and extraction time.

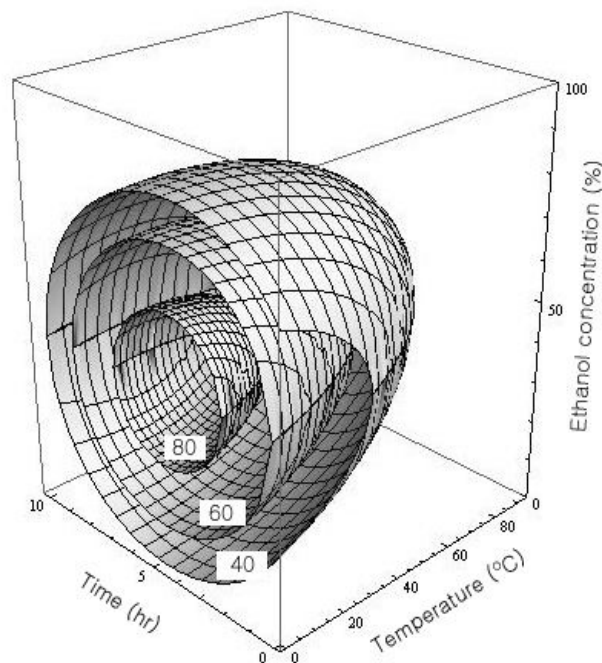


Fig. 110. Response surface for ACE inhibition rate in buckwheat sprout extract at constant value (ACE inhibition rate: 40-60-80%) as a function of ethanol ratio, extraction temperature and extraction time.

#### (4) ACE 저해활성

ACE 저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성저해, aldosterone 분비감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 주는 것으로 알려지고 있다. 추출물의 ACE에 대한 저해 효과를 측정함으로써 항고혈압 효과를 살펴보았으며, 중심합성계획에 의한 메밀새싹 추출조건별 ACE 저해활성능을 살펴본 결과는 **Table 31**과 같다. 즉 ACE 저해활성은 약 18.74~90.66%의 범위였으며, 결과에 대한 반응표면 회귀식의  $R^2$ 는 0.8667로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다 (**Table 32**). 회귀식에 의한 메밀새싹 추출물의 ACE 저해활성능의 예측된 정상점은 최대점으로 최대값은 약 86.91%로 예측되었으며, 이때의 추출조건은 추출온도 약 10.12°C, 추출시간 약 4.86 hr 및 에탄올농도 약 44.44%로 예측되었다 (**Table 33**). ACE 저해 활성능은 에탄올농도에 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며, 추출시간에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타났으나, 추출온도에 대해서는 상대적으로 미비한 것을 알 수 있었다. ACE 저해활성에 관한 메밀의 연구에서 메밀의 ACE 저해활성이 약 39.39%로 보고하였고, 효소 첨가 가수분해물의 추출물에서 약 61.19%로 증가하는 것으로 보고되었다. 버섯의 ACE 저해활성의 경우 추출시간이 감소할수록 ACE 저해활성이 증가하는 형태의 반응 표면이 나타나고, 전체적으로 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 나타나는 것으로 보고하고 있어, 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한, 메밀에서 ACE 저해활성을 나타내는 물질은 친수성 peptide인 것으로 보고되고 있으며, 그 주요성분으로 phenylthiocarbonyl 유도체인 것으로 보고하고 있어, 친수성 peptide의 가용조건과 추출시간에 영향을 많이 받는 것으로 추정되어진다.

#### 다. 최적 추출조건 설정 및 최적 추출물의 성분분석

메밀 새싹의 유용성분의 추출조건을 설정하기 위하여 추출조건별 추출물의 수율, 총 페놀성 화합물 함량,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성능 및 ACE 저해활성능에 대한 추출특성을 조사하였다. 그 결과 메밀 새싹 추출물의 품질특성을 최대화 할 수 있는 추출조건으로 추출온도 약 0~70°C, 추출시간 약 2~8 hr 및 에탄올농도 약 30~80%로 나타났으며 (**Fig 111**), 이 범위내의 임의의 조건 (추출온도 15°C, 추출시간 5 hr 및 에탄올농도 50%)에서 수율 약 15.18%, 총 페놀성 화합물 함량 약 189.27 mg/100 g,  $\alpha$ -glucosidase 저해효과 약 77.44% 및 ACE 저해효과 약 85.24%로 예측되었다 (**Table 35**). 그래서 RSM 기법에 의해 예측된 값과 동일조건에서 실제 실험하여 얻은 실험치를 비교했을 때 수율,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성능 및 ACE 저해활성능은 예측 범위와 유사한 값을 나타내었고 총 페놀 함량은 조금 낮은 값을 나타내어 도출된 회귀식의 신뢰성을 검증할 수 있었다.

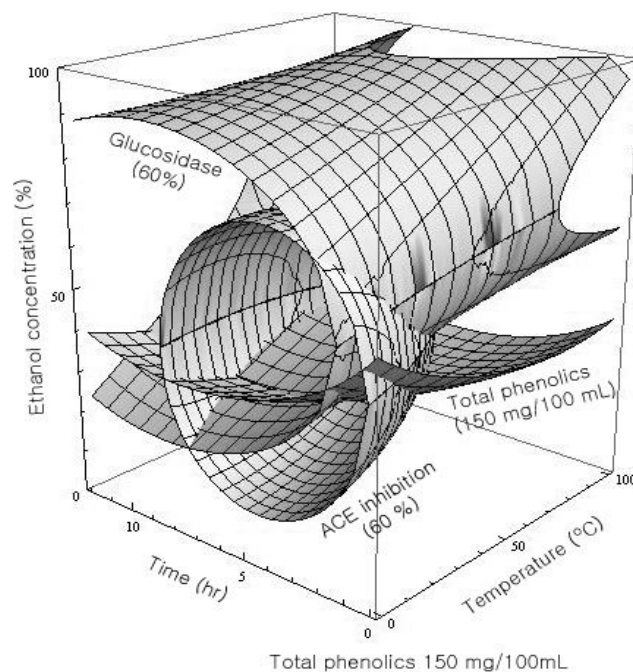


Fig. 111. Superimosed response surface for optimization of total phenolics contents (150 mg/100 g),  $\alpha$ -glucosidase inhibition ratio (60%) and ACE inhibition ratio (80%) of buckwheat sprout extract as a function of ethanol ratio, extraction temperature and extraction time.

Table 35. Predicted and observed values of the response variables at a given condition within the range of optimum extraction conditions

Response variables	Predicted value <sup>1)</sup>	Experimental value <sup>2)</sup>
Yield (%)	15.18	16.18
Total phenolics contents (mg/100 g)	189.27	175.57
$\alpha$ -glucosidase inhibition rate (%)	77.44	79.17
ACE inhibition rate (%)	85.24	81.60

<sup>1)</sup>Calculated using the predicted equations for response variables. Given optimal condition of independent variables: extraction temperature 15°C, extraction time 5 hr, ethanol concentration 50%.

<sup>2)</sup>Mean values of triplicates determinations.

### 3. 용매 특성에 따른 메밀싹기름채소의 기능성분 추출 조건 설정

#### 가. 메밀싹기름채소에서 기능 성분 추출 및 추출 조건 설정

메밀싹기름채소에 생성된 다양한 기능성분을 추출하기 위하여 반응표면 분석을 통해 에탄올에 대한 추출 온도, 시간 및 용매의 농도에 대한 범위를 설정하였다. 반응표면 분석의 결과에서 온도 범위 0~70℃, 추출 시간 2~8 hr, 농도 30~80% 에서 추출하는 것이 적절한 것으로 판명된 바, 본 실험에서는 이를 기본요소로 하여 추출온도 70℃, 추출시간 5 hr 로 고정시킨 후 용매별 추출농도를 30~80% 범위에서 3개 구간으로 구분하여 30, 50 및 70% 의 농도조건과 여기에 더하여 100% 용매조건에 대한 기능성분 추출 조건 설정을 실시하였다. 용매는 극성이 다르고 식품산업 현장에서 자주 사용되는 용매를 선정하여 사용하였다. 이에 따라서 MeOH, EtOH 및 IPA를 용매로 사용하였고 용매 농도 0%를 열수처리구로 실험에 적용하였다. 메밀싹기름채소는 18℃ 암실에서 7 일간 성장시킨 후 수확하여 동결하였으며, 동결된 메밀싹기름채소는 동결건조기 (TD5508 Freeze dryer, Inshin Lab., Co., LTD, Seoul, Korea) 를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 추출을 위한 시료로 사용하였다.

#### 나. 추출용매에 따른 루틴함량

○ 루틴의 분석은 일반적으로 비극성칼럼을 사용하여 극성에 따른 분석을 하는 것으로 알려져 있으며, 현재 식품공전에 수재되어 있는 루틴의 정량분석법은 에탄올 추출물을 375 nm 에서 흡광도를 측정하여 색가를 계산하는 분광광도법이 적용되고 있다. 그러나 보통 식물체는 광합성과 관련된 다양한 종류의 카로티노이드 성분이 함유되어 있고, 기타 미황색 혹은 황색을 나타내는 다양한 성분이 함유되어 있으므로 이들 성분들은 모두 350~430 nm 영역에서도 상당히 높은 흡광도를 나타내기 때문에 UV-spectrophotometer 을 이용한 단순 색가 분석을 통한 루틴의 함량 평가를 수행하는 것은 바람직하지 못하다. 따라서 본 실험에서는 아세트나이트릴과 초산을 이동상으로 시간당 농도구배조성을 달리하여 분석하였으며, 분석결과 chromatogram 에서 루틴의 피크를 확인 할 수 있었다 (Fig. 112).

○ 동결 건조한 메밀 새싹분말 5 g를 에탄올 (EtOH), 메탄올 (MeOH), 이소프로판올 (IPA) 추출용매로 70℃ 에서 5시간 환류 추출한 후 루틴함량을 측정된 결과 Fig. 113 과 같은 결과를 얻었다. 결과의 통계적 유의성을 확인하기 위하여 MINITAP (USA. Co) 프로그램을 써서 분석한 결과 Fig.114 와 같은 결과를 얻었다. DOE (Design of Experiment) 법으로 실험한 결과를 two-way ANOVA 방법으로 통계 처리하였다. 실험용매와 용매농도의 F 값은 약 7.44 및



34.21 로 5% 이내의 유의수준에서 유의성이 있는 것으로 나타났으며 잔차의 정규성 검정 데이터가 사각형의 대각선 방향에 대부분 나타나는 것으로 보아 정규성이 있다고 판단되었다. 히스토그램의 잔차의 형태가 정규분포를 따르고 있었으며, 데이터의 순서에 따라 잔차를 표시 한 것으로 중심선을 기준으로 잔차가 경향성이 없이 불규칙적으로 분포되어 있었으므로 독립성을 확인 할 수 있었다. 실험결과 MeOH, EtOH, IPA 모두 약 50~70% 농도에서 약 5~7 mg/g 로 가장 추출 효율이 좋았으며, 이러한 결과는 우 등의 천연물화학의 선행연구 특성과 유사한 것으로 나타내었다. 또한 선행된 반응표면분석법에 의한 최적화 실험에서의 결과와도 유사한 값을 나타내고 있었다. 용매종류에 따른 추출수율은 이소프로판올이 다소 높은 추출효율을 보였으나 용매들 간의 추출량은 2 mg 이하로써 음용하기 위해서 산업에 활용하는데 있어서는 가장 널리 사용되는 에탄올 (EtOH)을 추출용매로 사용하는 것이 적절한 것으로 판단되었다.

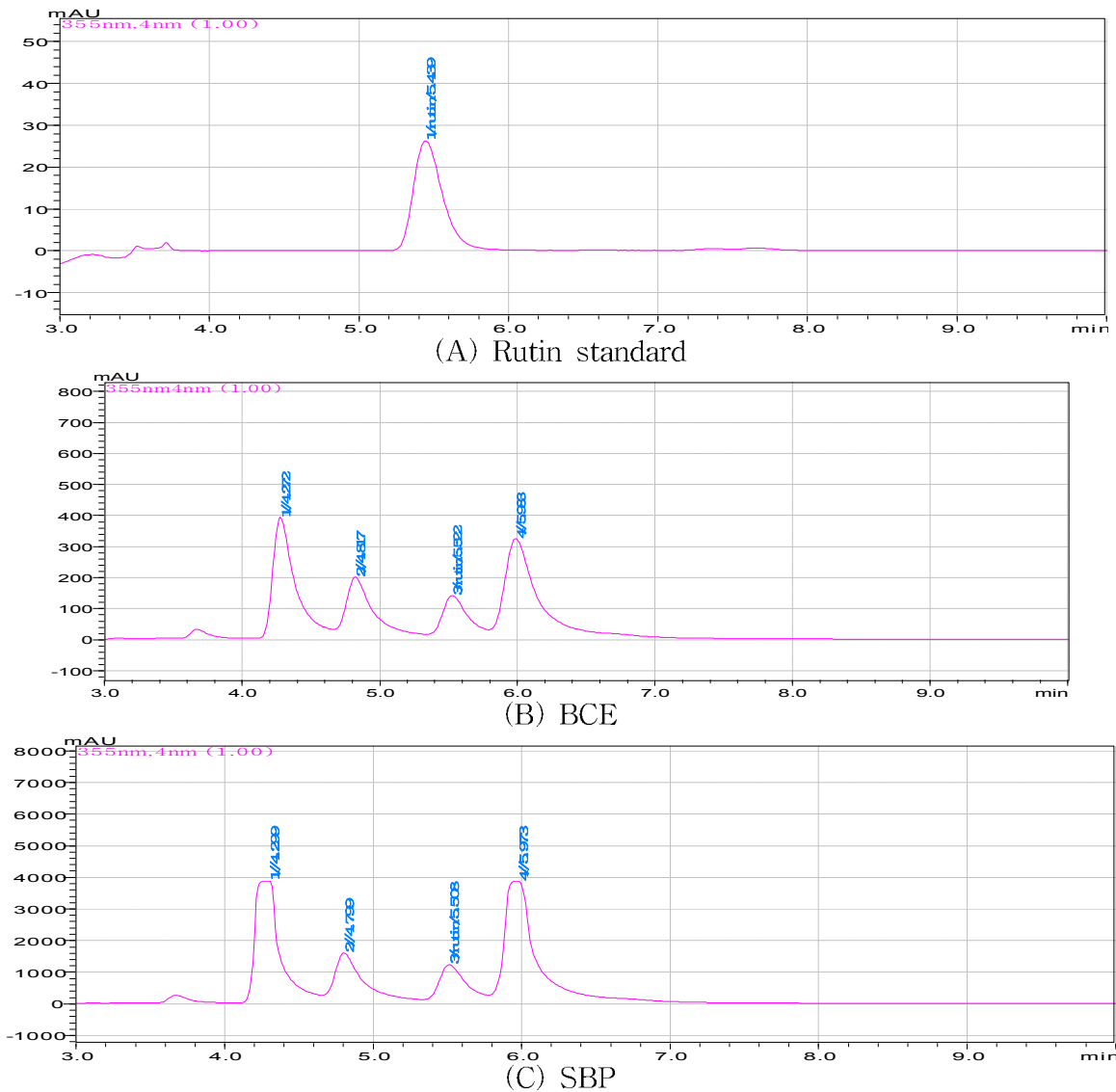


Fig. 112. HPLC analysis chromatogram of rutin standard, BCE and SBP.

Treatment: Rutin standard, 20  $\mu$ g/mL ; Sample concentration, 10 mg/mL.

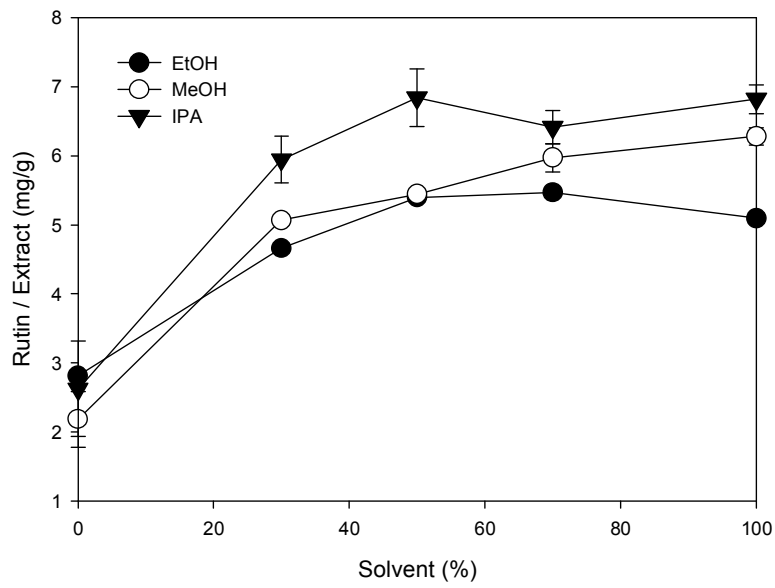


Fig. 113. Rutin contents (mg/g) in buckwheat sprouts extracts at various solvent.

Data represent means of three measurements.

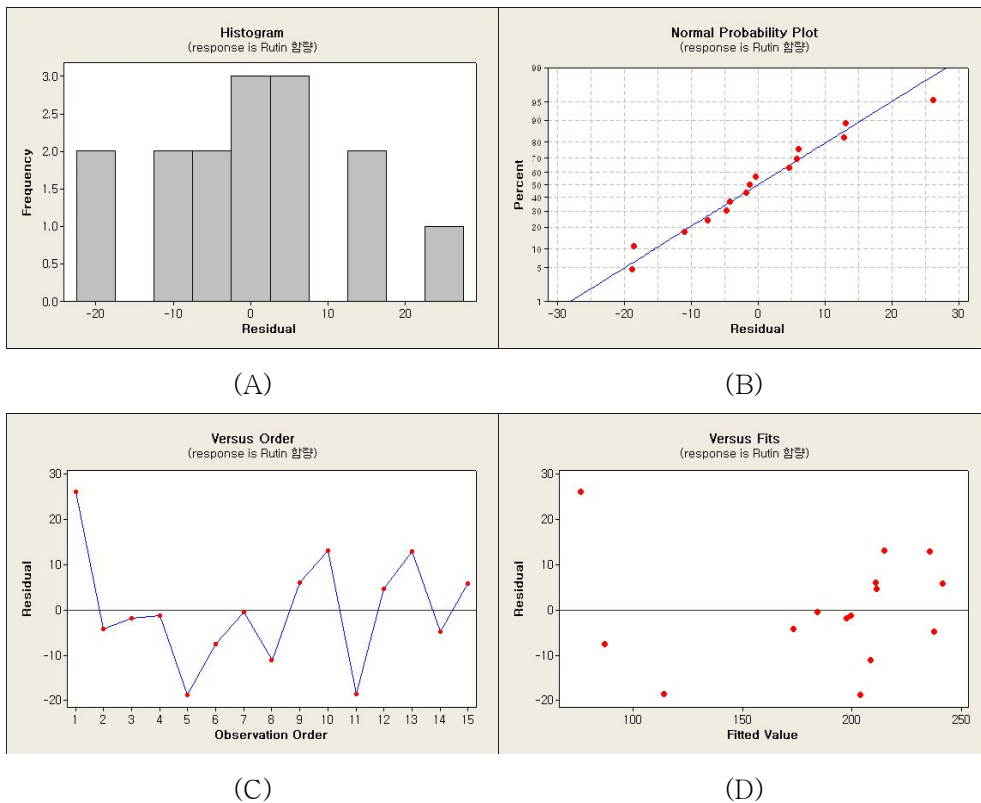


Fig. 114. Two-way ANOVA analysis fro rutin content in buckwheat sprouts extract at vari  
ous solvent. Data represent means of three measurements.

#### 다. 추출용매에 따른 총 폴리페놀 함량

일반적으로 용매로 추출할 때는 유전율이 적은 용매로부터 순차로 추출하며, 흔히 사용하고 있는 계통적 추출법은 석유 ether, Et<sub>2</sub>O, CHCl<sub>3</sub>, MeOH 또는 EtOH, H<sub>2</sub>O 의 순으로 추출한다. 본 실험에서도 용매의 극성도가 다른 세 가지 용매를 이용하여 추출함으로써 추출되어지는 페놀성분의 특성이 다를 것으로 가정하여 용매에 따른 총 페놀 함량을 측정하였다. 보통 페놀 성분에는 하나 또는 둘 이상의 수산기로 치환된 방향족환을 가지고 있는 식물성분을 phenol성 물질이라고 하며, phenol 성 물질은 당과 결합하여 배당체로서 존재하는 경우가 많으므로 보통 수용성이다. 자연에 존재하는 phenol성 물질의 구조는 1,000 가지 이상이 밝혀졌으며, 그 중 flavonoid 가 대부분이나 단순한 monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenol 성 quinone 도 상당수 알려져 있다. Lignin, melanin 및 tannin 등도 polyphenol 성 물질이며, protein, alkaloid, terpenoid 에도 종종 phenyl 가 발견되는 것이 있다. 따라서 추출물에는 극성에 따른 페놀성 물질이 많이 함유 되어 있으며 루틴 또한 플라보노이드류의 한 종류로써 총 페놀 함량은 루틴의 최적추출조건을 유추할 수 있는 지표로서 중요하다고 판단된다. 용매조성에 따른 추출물의 총 페놀 함량을 실험한 결과 Fig. 115 와 같이 용매종류와 상관없이 용매조성이 50~70% 일 때 총 페놀 함량이 약 50~60 mg 으로 가장 높은 함량을 나타 내었다. 특이한 점은 에탄올과 이소프로판올 같은 경우 용매가 100% 일 때 오히려 함량이 감소하는 경향이었으나, 메탄올의 경우 계속해서 증가하는 경향을 보였다. 이것은 메탄올 용매에 페놀성 물질의 용해도가 높기 때문인 것으로 판단된다.

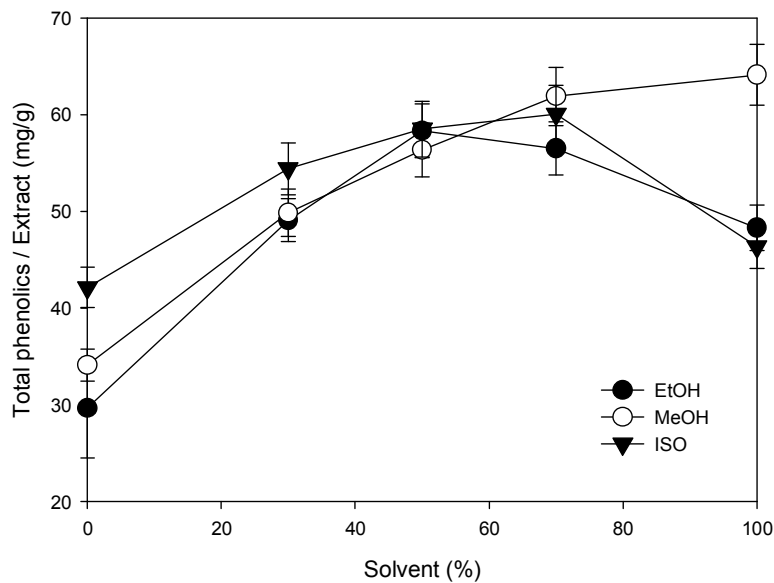


Fig. 115. Total phenolics contents (mg/g) in buckwehats sprout extract at various solvent.

Data represent means of three measurements.

라. 추출용매에 따른 유리당, 유기산 함량

식물재료에 들어 있는 유기화합물 중에서 비극성물질로부터 차차 극성이 큰 원자단 (-CO, -COOH) 을 가진 물질 순으로 추출되어 나온다. 특히 알코올 추출 시에는 사포닌, 당, 배당체, 유기산, 탄닌, 알칼로이드 등이 함께 추출되어 나오고, 물로 추출 시에는 탄닌, 배당체, 당, 점액, 단백질, 염류 등이 같이 추출되어 나온다. 따라서 본 실험에서 에탄올, 메탄올, 이소프로판올, 물 추출물에서도 유리당, 유기산 등 의 다른 성분도 포함되어 있을 것으로 판단되어 함량을 측정하였다. 측정 결과 용매 추출물별 유리당의 함량은 **Table 36** 과 같은 값을 나타 내었 으며, 유기산 함량은 **Table 37** 과 같은 함량을 나타내었다. 이러한 결과에 따라 용매조성별 고순도의 폴리페놀의 기능성 물질을 추출하기 위해서는 유리당, 유기산 같은 불순물을 정제를 통한 제거가 필요 할 것으로 판단되었다. 만약 정제를 통하여 이러한 불순물을 제거하여 순수한 polyphenol 성분만 정제한다면 정제물의 항산화력을 높일 수 있으므로 상당히 효율적 일거 라고 판단되었다.

Table 36. Free sugar content (%) of buckweats sprout extracts by different solvent extraction method

Solvents	Conc.(%)	Free sugar (%) <sup>1)</sup>			
		Fructose	Glucose	Maltose	Sucrose
EtOH	0	0.210 <sup>b2)</sup>	0.241 <sup>a</sup>	-	0.042 <sup>g</sup>
	30	0.182 <sup>c</sup>	0.208 <sup>b</sup>	-	-
	50	0.188 <sup>c</sup>	0.220 <sup>a</sup>	0.053 <sup>f</sup>	-
	70	0.181 <sup>c</sup>	0.210 <sup>b</sup>	0.075 <sup>e</sup>	-
	100	0.107 <sup>d</sup>	0.080 <sup>d</sup>	0.059 <sup>f</sup>	-
MeOH	0	0.181 <sup>b</sup>	0.128 <sup>c</sup>	-	-
	30	0.190 <sup>a</sup>	0.209 <sup>a</sup>	0.033 <sup>g</sup>	-
	50	0.181 <sup>b</sup>	0.214 <sup>a</sup>	0.057 <sup>f</sup>	-
	70	0.178 <sup>b</sup>	0.206 <sup>a</sup>	0.087 <sup>e</sup>	-
	100	0.130 <sup>c</sup>	0.109 <sup>d</sup>	0.051 <sup>f</sup>	-
ISO	0	0.195 <sup>e</sup>	0.240 <sup>a</sup>	-	-
	30	0.193 <sup>e</sup>	0.220 <sup>d</sup>	-	-
	50	0.194 <sup>e</sup>	0.228 <sup>b</sup>	0.081 <sup>h</sup>	-
	70	0.195 <sup>e</sup>	0.226 <sup>c</sup>	0.077 <sup>i</sup>	-
	100	0.131 <sup>f</sup>	0.117 <sup>g</sup>	0.067 <sup>j</sup>	-

<sup>1)</sup>Values are Mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among the groups by Duncan's multiple range test.

Table 37. Organic acid content of buckwheats sprout extracts by different solvent extraction method

Solvent	Conc.(%)	Organic acids (mg/L) <sup>1)</sup>					Total
		Oxalic acid	Formic acid	Malic acid	Ascorbic acid	Citric acid	
EtOH	0	462.851 <sup>ab2)</sup>	785.707 <sup>a</sup>	628.062 <sup>a</sup>	94.445 <sup>a</sup>	688.548 <sup>a</sup>	2659.61
	30	432.133 <sup>b</sup>	214.517 <sup>c</sup>	483.251 <sup>c</sup>	80.898 <sup>b</sup>	77.929 <sup>c</sup>	1288.73
	50	471.441 <sup>a</sup>	210.189 <sup>c</sup>	568.644 <sup>b</sup>	94.372 <sup>a</sup>	344.532 <sup>b</sup>	1689.18
	70	324.917 <sup>c</sup>	625.727 <sup>b</sup>	570.929 <sup>b</sup>	94.920 <sup>a</sup>	62.169 <sup>c</sup>	1678.66
	100	57.012 <sup>d</sup>	16.248 <sup>d</sup>	164.018 <sup>d</sup>	15.617 <sup>c</sup>	-	252.89
MeOH	0	432.754 <sup>a</sup>	492.673 <sup>c</sup>	892.666 <sup>a</sup>	87.0115 <sup>a</sup>	662.283 <sup>a</sup>	2567.39
	30	413.773 <sup>a</sup>	567.263 <sup>bc</sup>	726.94 <sup>b</sup>	66.1821 <sup>b</sup>	40.2079 <sup>c</sup>	1814.37
	50	330.673 <sup>b</sup>	590.114 <sup>b</sup>	598.861 <sup>c</sup>	25.0159 <sup>c</sup>	57.9081 <sup>c</sup>	1602.57
	70	250.78 <sup>c</sup>	608.985 <sup>b</sup>	595.139 <sup>c</sup>	19.9075 <sup>d</sup>	53.4424 <sup>c</sup>	1528.25
	100	169.123 <sup>d</sup>	1468.85 <sup>a</sup>	-	1.99919e	479.061 <sup>b</sup>	2119.03
ISO	0	493.275 <sup>a</sup>	90.1367 <sup>d</sup>	490.624 <sup>b</sup>	96.583 <sup>b</sup>	636.915 <sup>a</sup>	1807.53
	30	466.351 <sup>a</sup>	198.145 <sup>c</sup>	515.534 <sup>b</sup>	87.1394 <sup>c</sup>	76.3874 <sup>b</sup>	1343.56
	50	288.278 <sup>b</sup>	682.182 <sup>a</sup>	587.557 <sup>a</sup>	111.715 <sup>a</sup>	65.7326 <sup>b</sup>	1735.46
	70	134.741 <sup>c</sup>	548.982 <sup>b</sup>	560.692 <sup>a</sup>	93.6477 <sup>bc</sup>	69.0819 <sup>b</sup>	1407.14
	100	44.2707 <sup>d</sup>	9.25471 <sup>e</sup>	113.767 <sup>c</sup>	39.361 <sup>d</sup>	84.5739 <sup>b</sup>	291.23

<sup>1)</sup>Values are Mean  $\pm$  SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among the groups by Duncan's multiple range test.

#### 마. 추출용매에 따른 항산화능

용매별 메밀추출물의 항산화능을 알아보기 위하여 DPPH 라디칼 소거능 테스트를 하였다. DPPH 라디칼 소거능은 Vitamin C와 E 등과 같은 항산화물질에 의해 전자를 받아 비가역적으로 안정한 분자를 형성하여 탈색되는 원리를 이용하여 측정하는 것이다. 본 실험에서 용매 추출물에서 천연 폴리페놀 성분이 많은 양 추출 되어 나올 경우 DPPH 라디칼 소거능도 같은 결과를 나타낼 것으로 판단되며 실험 결과 Fig. 116 과 같이 70% 용매의 추출물이 가장 높은 활성을 나타 내었으며 100% 추출 용매에서는 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 앞에서 측정한 총 페놀함량의 결과와도 일치하였다. 이상의 결과를 종합할 때 용매 추출법에 의한 메밀싹기름채소의 적절한 추출 조건은 추출 온도 70, 추출 시간 5 hr, 추출 용매로서 EtOH 가 적절한 것으로 판단되었다.

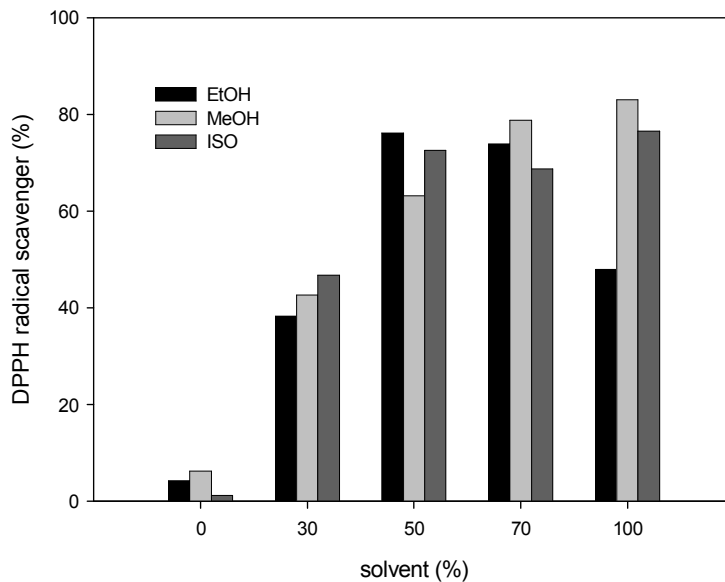


Fig. 116. DPPH radical scavenger (%) effect of buckwheats sprout extracts.

Data represent means of three measurements.

#### 4. 메밀싹기름채소 추출물의 분리정제

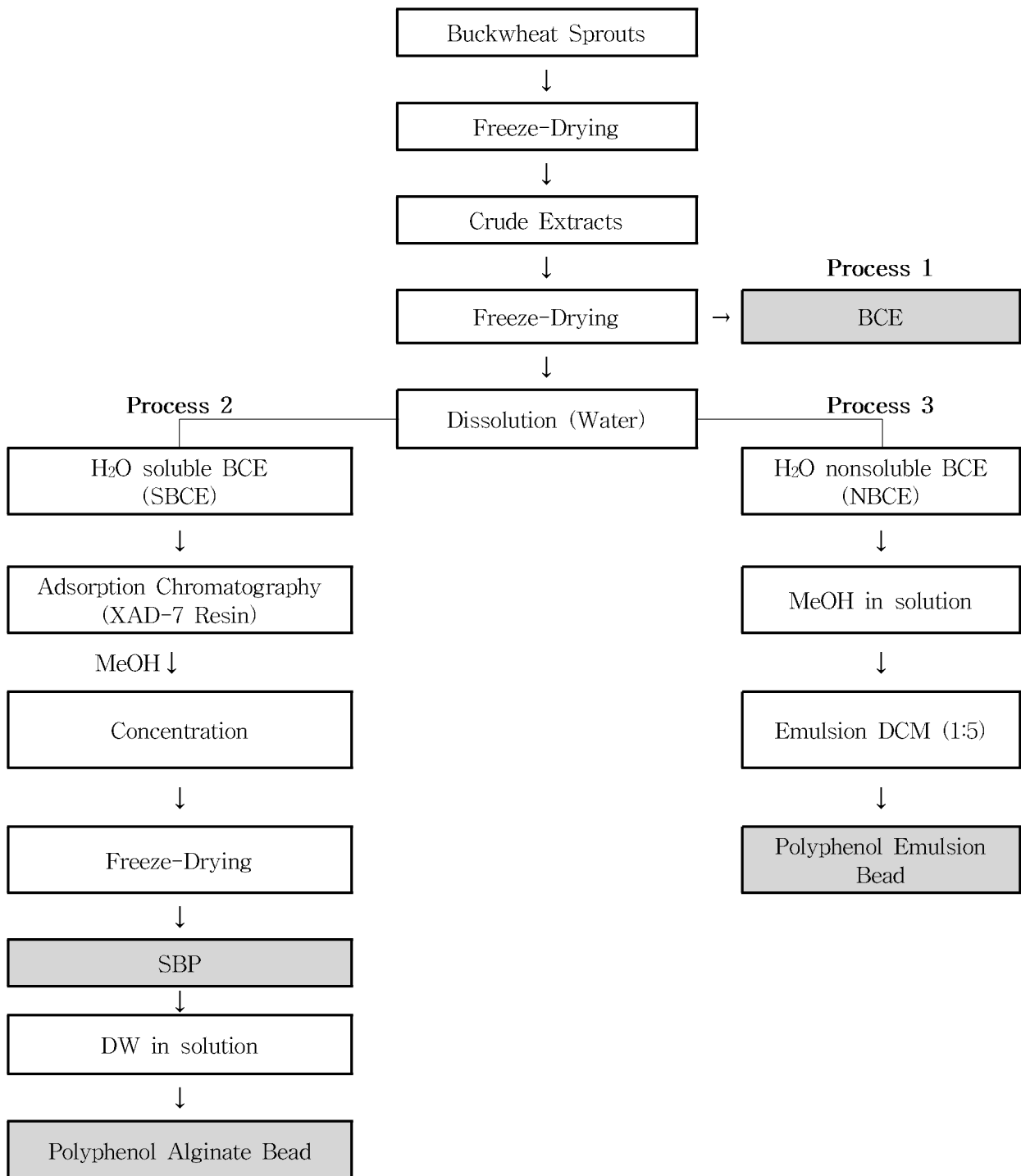


Fig. 117. Process for the materialization of polyphenol extraction and bead from buckwheat sprouts.

BCE, Buckwheat sprout crude extract; SBP, Water Soluble buckwheat sprout polyphenol; NBCE, Water nonsoluble buckwheat sprouts crude extract

가. 메밀싹기름채소의 수용성 페놀 물질 분리

(1) 메밀새싹 추출물의 분리정제 (XAD-7)

○ 반응표면분석법 및 용매 특성별 추출조건 실험에 의하여 선별된 추출 조건으로 메밀싹 기름채소를 추출하여 페놀성분만 흡착하는 성질을 가지고 있는 것으로 알려져 있는 Amberlite XAD-7 레진을 이용하여 페놀성 물질의 정제를 시도하였다. 페놀성 물질의 정제와 정제물질의 수용성을 높이기 위하여 먼저 용매별 추출물을 물에 다시 녹인 후 여과하여 그 여액을 컬럼에 흡착시켰다 (process 2). 컬럼에 흡착된 성분은 MeOH 을 컬럼의 5 배수로 추출한 후 농축하여 동결건조 하였다. 정제된 물질 (SBP) 의 당에 대한 간이시험으로서 천연물 예지시험 결과 적색 침전생성이 되지 않은 것으로 보아 당 성분이 상당량 유출된 것을 확인할 수 있었다. XAD-7 정제하는 동안 페놀성분과 루틴 함량의 변화는 약 5~10배 정도 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Table 38).

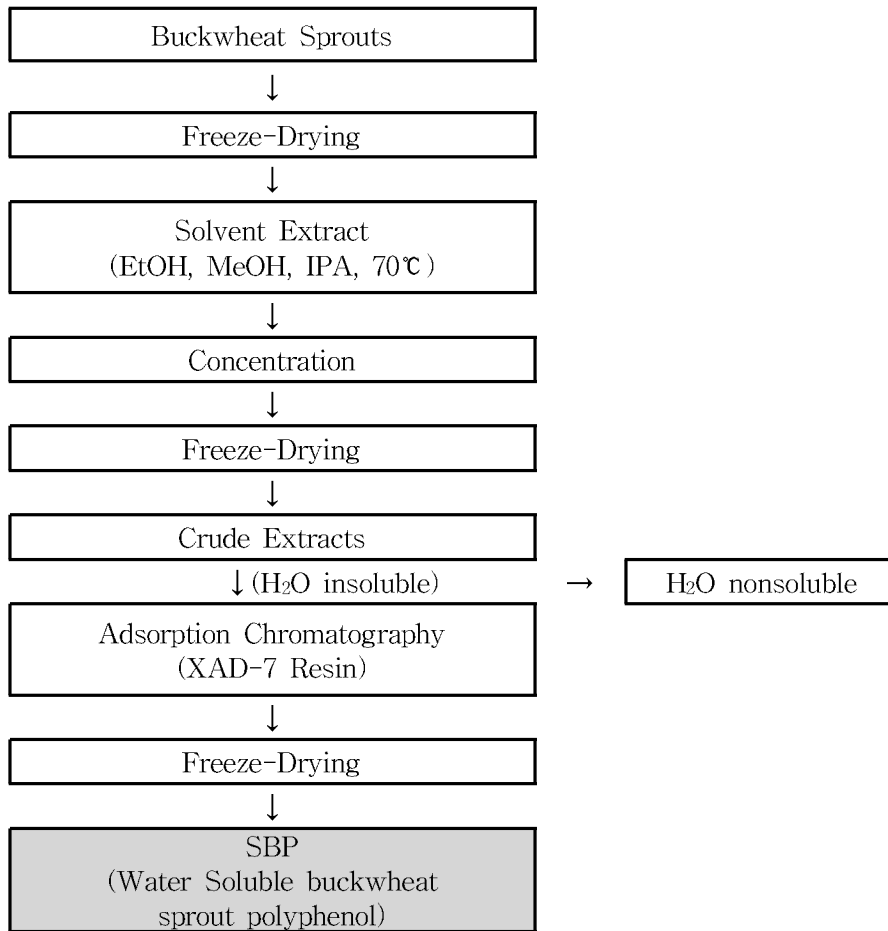


Fig. 118. Process for the materialization of polyphenol extraction from Buckwheats sprouts.



○ 용매추출과 칼럼정제 후 추출물의 총 페놀성분에 대한 순도를 측정한 결과는 **Table 39**에서 나타나듯이 정제도가 약 4.21~6.18% 에서 컬럼 정제 후에 약 30.15~36.73% 으로 5배 정도 증가 한 것을 볼 수 있었다. 또한 수용성 페놀 물질 분리 과정에서 원료의 crude 추출물인 BCE 단계에서 약 24.8~27.2% 범위의 수율을 나타내었으며, 수용성 페놀 물질 분리 물질인 SBP 단계에서 약 3.34~4.32% 내외로 나타났다. 또한 정제 후 페놀성분의 함량 변화를 측정하기 위하여 회수율을 측정한 결과 모든 추출물에서 약 82% 이상 높은 회수율을 나타내었다.

Table 38. Total phenolics contents (mg/g) of XAD-7 resin treated solvent extracts

	Solvent			
	DW	MeOH	EtOH	IPA
Total phenolics contents (mg/g)	301.52	307.10	328.53	367.28
Rutin contents (mg/g)	23.7	48.32	50.46	75.99

Table 39. Yield, purity of total phenolics and efficiency after polyphenol extraction

Solvent	Treatment	Yield (%)	Purity (%)	Efficiency (Yield × Purity)	Recovery (%)
DW	BCE	26.82	4.21	112.91	
	SBP	3.34	30.15	100.70	86.27
EtOH	BCE	27.06	5.65	152.88	
	SBP	3.86	32.85	126.8	82.98
MeOH	BCE	24.87	6.18	153.69	
	SBP	4.32	30.71	132.66	86.31
IPA	BCE	27.28	6.01	163.90	
	SBP	3.85	36.73	141.41	89.18

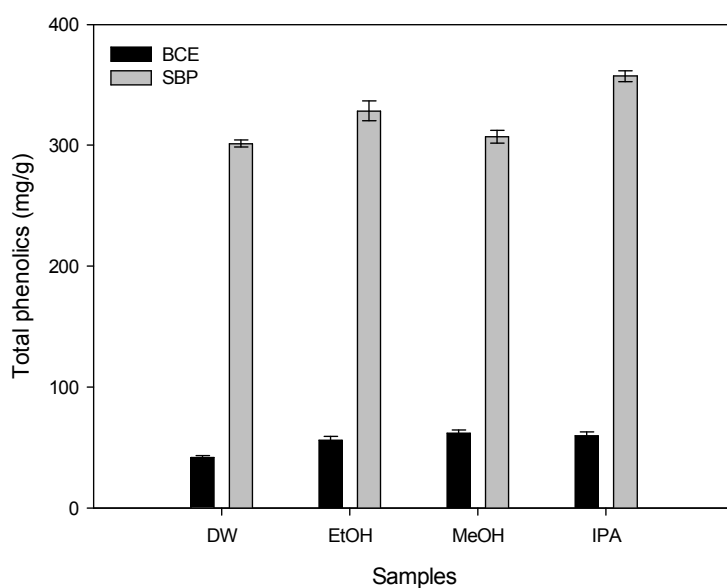


Fig. 119. Total polyphenol contents (mg/g) of polyphenol extraction materials by different solvent.

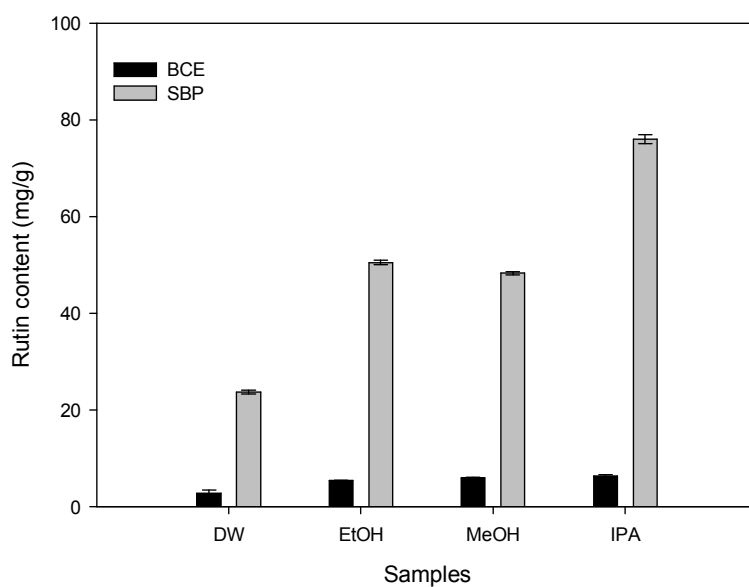


Fig. 120. Rutin contents (mg/g) of polyphenol extraction materials by different solvent extraction method.

## (2) XAD-7 resin 정제 후 항산화활성능

○ 메밀싹기름채소의 용매별 추출물에 대하여 XAD-7 레진을 이용하여 정제한 SBP 에 대한 항산화활성능을 알아보기 위하여 DPPH 라디칼 소거능과 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay 를 측정하였다. FRAP assay 는 철이 환원되는 항산력을 측정하는데, pH 3.6 에서 ferric ( $Fe^{3+}$ ) TPTZ complex 가 ferrous ( $Fe^{2+}$ ) 형태로 환원될 때 발생하는 청색과장을 593 nm 에서 측정하여 환원력을 계산하는 방법으로 DPPH 라디칼을 직접적으로 소거하는 항산화 메커니즘과는 다르다. 따라서 항산화능을 알아보기 위해서 상호보완적인 방법으로 알려지고 있다. 추출 용매별 BCE 와 SBP 에 대한 DPPH 라디칼 소거능에 대한  $IC_{50}$  값은 **Fig 12 1** 에 나타낸 것과 같이 약 4~6배 이상 감소하는 것으로 나타나, BCE 에서 약 0.43~0.77 mg/g 의  $IC_{50}$  값에서 정제된 SBP 에서 약 0.10~0.12 mg/g 의 범위를 나타내었다.

○ FRAP 에 대한 항산화활성을 측정한 결과 **Fig 122** 에 나타낸 것과 같이 용매추출물에 대한 항산화능은 약 29.4~87.8 mM Trolox 에 상당하는 항산화능을 나타낸 반면, 정제된 SCP 의 FRAP 항산화 활성은 약 328.9~438.3 mM Trolox 에 상당하는 항산화능을 나타내어 BCE 에 대하여 SCP 가 약 4.9~11.2 배 향상되는 것으로 나타났다. DPPH 와 FRAP 에 의한 항산화 활성능에 대한 결과 process 1 단계인 BCE 에서 process 2 단계인 SBP 로 정제되는 동안 약 5~10배 이상 활성도가 증가하는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 총 페놀함량의 증가와 연관성 있는 결과는 나타내는 것으로 판단되었다.

○ SBP 에 대한 유리당과 유기산 함량을 측정한 결과는 **Table 40, 41** 에서와 같이 유리당이 정제과정에 의해서 제거되는 것으로 확인되었으며, 유기산의 경우 또한 정제과정이 진행됨에 따라 감소하는 것으로 확인되었다.

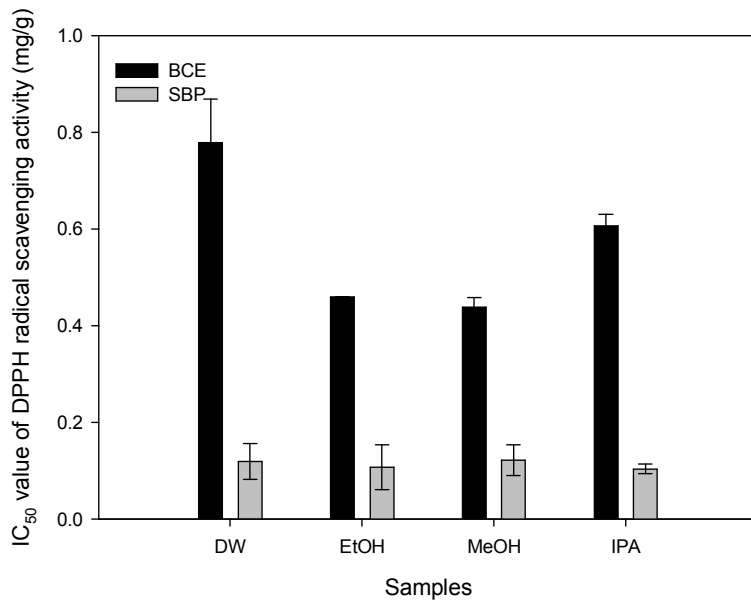


Fig. 121. IC<sub>50</sub> value of DPPH radical scavenging activity (mg/g) of polyphenol extraction materials by different solvent extraction method.

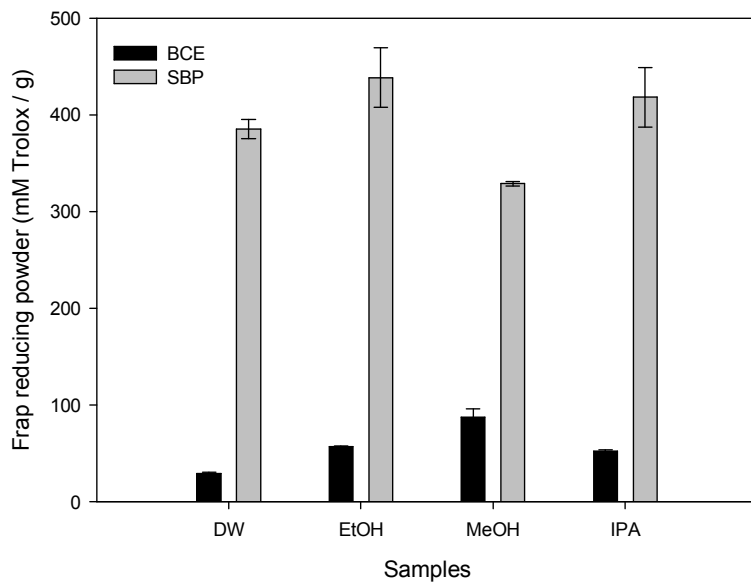


Fig. 122. Frap assay (mM Trolox/g) of polyphenol extraction materials by different solvent extraction method.

Table 40. Changes of free sugar content (%) of process for the materialization of polyphenol extraction from buckwheat sprout

Samples	Free sugar content (%)					
	Fructose	Glucose	Maltose	Sucrose	Total	
BCE	DW	0.0571	0.1059	-	-	0.1631
	EtOH	0.0624	0.1163	-	-	0.1787
	MeOH	0.0571	0.0892	-	-	0.1463
	IPA	0.3309	0.4308	-	-	0.7618
SBP	DW	-	-	-	-	-
	EtOH	-	-	-	-	-
	MeOH	0.0161	-	-	-	0.0161
	IPA	-	-	-	-	-

Table 41. Changes of free organic acid content (%) of process for the materialization of polyphenol extraction from buckwheat sprout

Samples	Free organic acid content (%)							Total	
	Oxalic acid	Malic acid	Formic acid	Ascorbic acid	Lactic acid	Acetic acid	Citric acid		
BCE	DW	1.5463	34.8432	-	9.3540	11.836	-	-	57.5802
	EtOH	-	-	-	12.7716	11.0574	-	-	23.829
	MeOH	-	-	0.6059	2.1557	ND	-	-	2.7616
	IPA	9.8667	-	-	50.0037	ND	-	-	59.8704
SBP	DW	-	2.5230	-	4.7033	ND	4.9893	2.7240	14.9397
	EtOH	-	-	-	1.3355	1.2828	7.3317	-	9.9501
	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-
	IPA	9.8667	-	-	2.8957	-	-	-	12.7624

### (3) 상관분석

정제 Process 과정 중 DPPH 라디칼 소거능, frap assay, 루틴 함량 및 총 폴리페놀 함량 실험 결과의 관련성을 알아보기 위하여 상관분석을 실시한 결과는 **Table 42** 에 나타내었다. 메밀싹기름채소의 용매별 추출물에 대한 BCE 와 SBP 단계에서 총 페놀 함량과 frap assay 및 루틴 함량은 모두 양의 상관관계를 나타내어 총 페놀 함량이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량이 모두 증가하는 것으로 나타났다. 반면 DPPH 라디칼의 50% 저해율 (IC<sub>50</sub> value) 은 총 페놀 함량과 frap assay 및 루틴 함량과 음의 상관관계를 나타내어 DPPH 라디칼의 50% 저해율이 증가할수록 frap assay, 루틴 함량 및 카로티노이드 함량은 모두 감소하는 것으로 나타났다. 결과에서 루틴 함량과 전자공여능과의 R<sup>2</sup> 이 약 -0.8137 로 가장 낮게 나타났으며, FRAP assay와 총 페놀 함량의 R<sup>2</sup> 은 약 0.9896 으로 가장 높은 상관관계를 나타내었다. 모두 5% 유의수준에서 유의적인 상관관계를 나타내었다.

Table 42. The correlation analysis of total phenolics content, electron donating ability, frap assay and rutin contents of buckwheat sprouts polyphenol extracts

	Total phenolics contents	Rutin contents	DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	Frap assay
Total phenolics contents	1.0000	0.9094**	-0.9303**	0.9896*
Rutin contents	-	1.0000	-0.8133**	-0.8754**
DPPH radical scavenging activity (IC <sub>50</sub> value)	-	-	1.0000	-0.9370**
Frap assay	-	-	-	1.0000

1)\* : significant at  $p < 0.05$ , \*\* : significant at  $p < 0.01$ .

나. 메밀싹기름채소로부터 추출한 천연항산화성분을 이용한 비드제조

(1) 메밀싹기름채소 폴리페놀 물질을 이용한 비드 제조

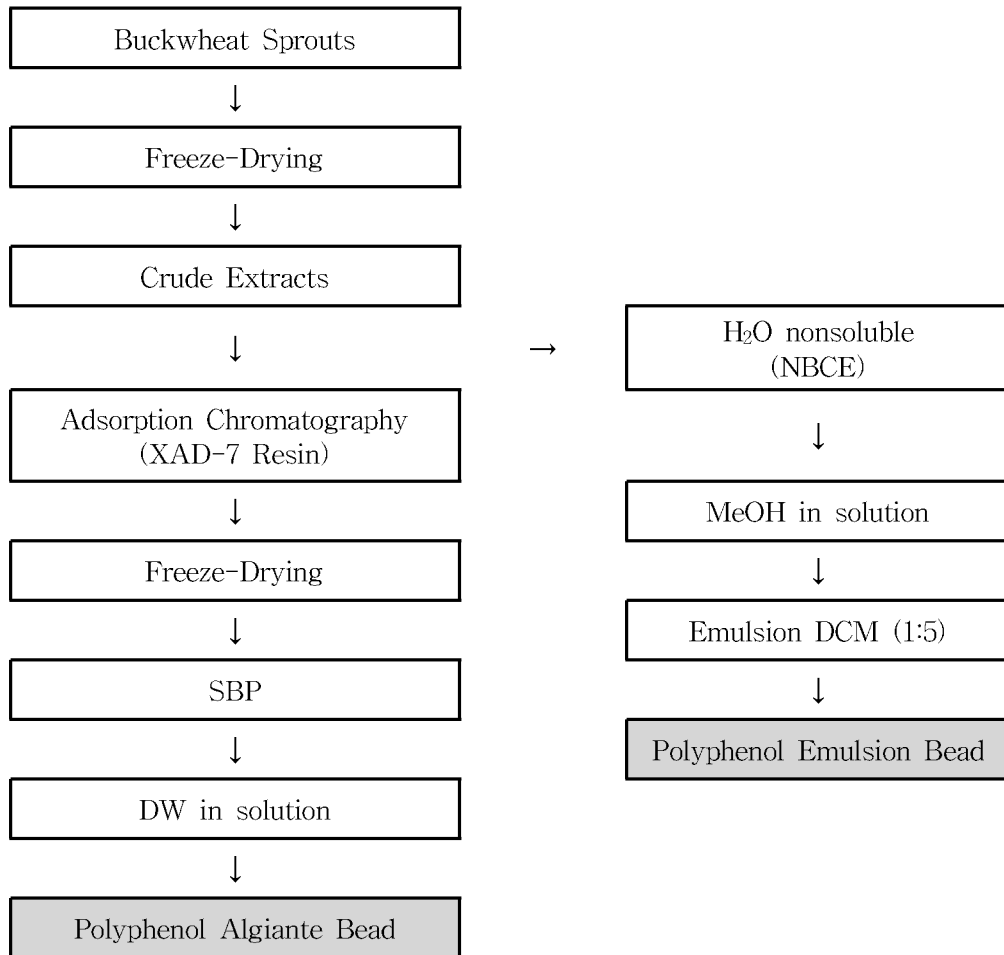


Fig. 123. Process for polyphenol bead preparation of water insoluble from buckwheat sprouts extract.

(2) Emulsion 비드 제조

메밀싹기름채소 유래 기능성 유용성분에 대한 식품 소재의 활용성을 높이기 위하여 메밀 싹기름채소에서 용매 추출된 폴리페놀성분을 Alginate 비드 형태로 제조하였다. 제조 순서는 Fig. 123 과 같이 메밀싹기름채소를 선별하여 동결건조 후 분말로 제조하고 이를 선행연구에서 설정한 추출방법으로 추출하였다. 추출 조건은 70% EtOH, 70℃ 및 5 시간으로 설정하였으며, 식품으로 사용하기 용이한 EtOH 를 용매로 사용하였다. 1차 추출물 (BCE) 은 당과 같은 물질이 다량 함유되어 있어 점성과 흡습성이 높은 소재로서 상온 보관 및 취급이 용이하지 못한 단점이 있다. 이런 단점을 극복하기 위하여 수용성 페놀 물질을 레진을 이용하여 분리하였

고, 이 수용성 메틸산 페놀 (SBP) 은 BCE 에 비하여 약 5배 이상의 루틴 함량과 총 페놀 함량을 나타내었다. 이들 SBP 와 난용성 페놀 물질 (NBCE) 의 활용성을 높이기 위한 방안으로 DCM (dichloromethan) 을 이용한 O/W 형의 비드를 제조하였다. 식물성 페놀을 비드에 encapsulation 하기 위하여 난용성 페놀 물질 (NBCE) 을 소량의 MeOH 에 녹인 후 DCM 에 혼합한 후 Alginate 비드에 포집하여 encapsulation 시킨 emulsion 비드를 제조하였다.

Table 43. Total phenolics contents (mg/g) and rutin content (mg/g) of buckwheat sprouts extracts

Material	Rutin contents (mg/g)	Total phenolics contents (mg/g)
BCE	5.70	54.66
NBCE	0.11	6.06
SBP	25.34	251.23

Table 44. Encapsularion efficiency of rutin bead depend to emulsion parameter change

No.	Emulsion parameter (v/v/w), Loading (mL)	Initial mass of rutin (mg)	Waste (mg)	Encapsulation efficiency (%)
1	MeOH+DCM + 1% Alg. (1:9:90), 10	2.64	2.01	23.80
2	MeOH+DCM + 1% Alg. (1:9:90), 5	1.32	0.85	35.27
3	MeOH+DCM + 1% Alg. (1:9:90), 1	0.26	0.14	46.74
4	MeOH+DCM + 1% Alg. (1:5:90), 1	0.44	0.23	48.66
5	MeOH+DCM + 1% Alg. (1:1:90), 1	1.32	0.77	41.44
6	MeOH+DCM + 2% Alg. (1:0:90), 1	2.59	1.59	38.71
7	MeOH+DCM + 2% Alg. (1:0:90), 0.1	0.26	0.11	58.59



(가) Emulsion 비드 제조 조건 설정

메밀싹기름채소의 유용성분의 이용성을 증대시키기 위하여 비드를 제조하고자 하였다. 비드는 포집효율을 설정하기 위하여 페놀성 물질 중 메밀싹기름채소의 지표성분으로서 루틴을 이용하여 다양한 조건하에서 비드의 포집효율을 증가시켰다. 포집효율을 증가시키기 위한 실험 조건은 **Table 44** 와 같다. 루틴은 수용성 물질이나 용해도가 낮고 알코올에 잘 녹는 성질을 가지고 있다. 이러한 특징은 alginate gel 비드 제조 과정 중 루틴이 alginate gel 밖으로 쉽게 용출되어 CaCl<sub>2</sub> 용액으로 빠져 나가는 양이 많았으므로 루틴을 메탄올에 녹인 후에 DCM 용매에 혼합하여 O/W emulsion 화한 다음 alginate 용액과 W/O/W 에멀전 형태를 유지시켜 줌으로써 비드 제조 과정에서 CaCl<sub>2</sub> 용액에 용출되는 것을 줄여 줄 수 있을 것으로 판단하였다. 실험 결과 첨가량이 적고, alginate 농도가 높을수록 포집율이 증가하는 경향을 보여, 본 실험 조건에서는 MeOH : DCM, Alginate, loading 양을 각각 1 : 5, 2%, 0.1 mL 로 하였을 때 약 5.59% 로 가장 높은 포집 효율을 확인 할 수 있었다.

(나) Emulsion 비드의 물리적 특성

Emulsion 비드의 제조 시 alginate 농도를 달리한 메밀싹기름채소 유래 난용성 페놀 물질 (NBCE) 비드에 대한 포집효율 및 물성 특성을 알아본 결과는 **Table 45** 에 나타내었다. 포집효율은 alginate 농도가 1% 에서 2% 로 높아짐에 따라 약 63.53% 에서 약 86.32% 로 증가하였으며, 반지름과 원둘레는 다소 커지는 경향을 나타내었으나, 원형율은 1.06 내외로 비슷한 값을 나타내었다. 이러한 결과는 alginate 의 농도가 증가함에 따라 gel 형성 구조가 조밀해지고 O/W emulsion 상태로 비드에 포집된 후 바로 gel 이 형성되기 때문인 것으로 판단된다.

Table 45. Encapsulation efficiency and physical property of SBP and NBCE beads

Alginate concentration	NBCE		
	2% bead	1% bead	
Encapsulation efficiency (%)	86.32	63.53	
Radius (mm)	1.61 ± 0.05	1.47 ± 0.10	
Bead size	Roundness	1.06 ± 0.01	1.07 ± 0.02
	Perimeter (mm)	10.11 ± 0.22	9.49 ± 0.46

(다) Emulsion 비드의 건조 방법에 따른 방출특성 변화

메틸씩기름채소 유래 난용성 페놀 물질 (NBCE) emulsion 비드의 건조방법에 따른 방출특성 변화는 Fig. 124 에 나타내었다. 실험 결과 열풍 건조한 emulsion 비드의 용출곡선은  $y=16.3937 \ln(x)+2.8239$  ( $R^2=0.9393$ ) 이었으며, 동결 건조한 emulsion 비드의 용출곡선은  $y=8.7232 \ln(x)+48.0993$  을 나타내었다. 동결 건조한 비드와 열풍 건조한 비드의 용출량이 50% 가 되는 시간을 비교해 봤을 때 각각 약 1.44 분과 27.54 분에 용출되는 것으로 나왔으며 동결 건조한 emulsion 비드의 용출이 더 효과적으로 일어나는 것을 알 수 있었다. 즉 동결건조구조가 다공성 구조로 되어 있으므로 열풍건조구에 비하여 용출 속도가 빠른 것으로 판단할 수 있다 (Fig. 125). 또한 동결건조과정에서 표면이 분화구 모양으로 형성되어 표면적이 커짐에 따라 용출시간이 단축되는 것으로 판단되었다.

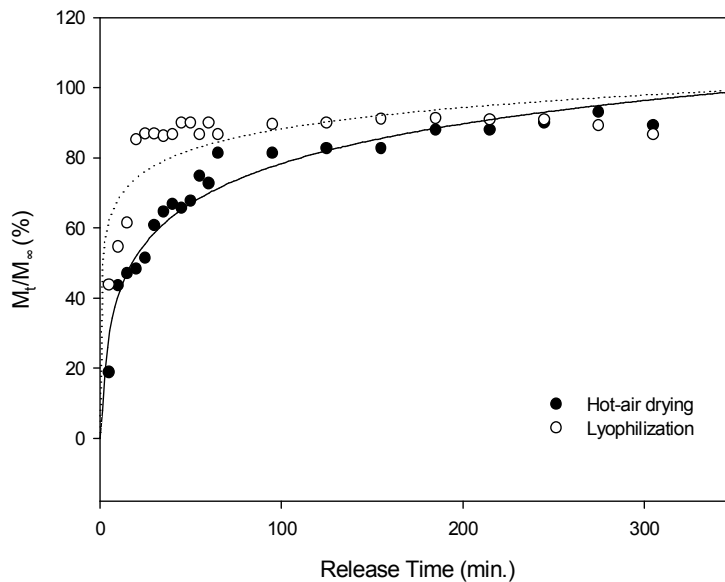


Fig. 124. Release curve for comparison of hot-air drying bead and lyophilized bead.

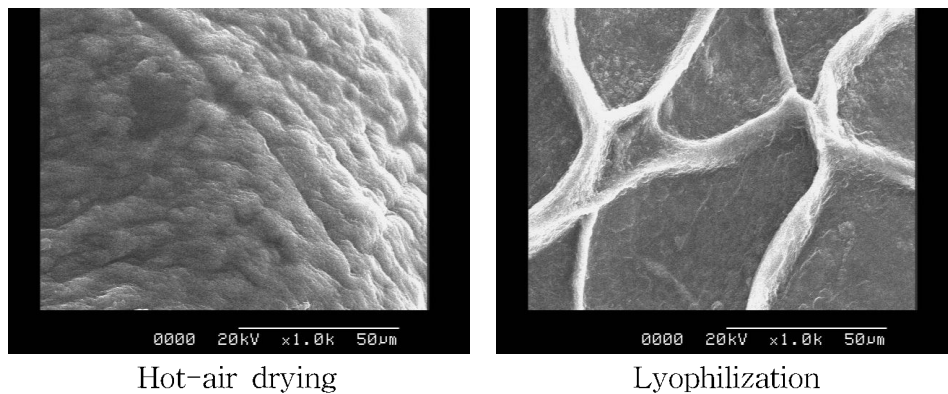


Fig. 125. SEM microphotographs of emulsion bead (A) hot-air drying ( $\times 1,000$ ) (B) lyophilized bead ( $\times 1,000$ ).

(라) Emulsion 비드의 pH에 따른 방출특성 변화

메틸씩기름채소 유래 난용성 페놀 물질 (NBCE) emulsion 비드의 pH 에 따른 방출특성 변화는 **Fig. 126** 에 나타내었다. Emulsion 비드는 W/O/W 에멀전 형태로 유지하고 있으나 기본적으로 알긴산에 포집되어 있는 형태이다. 알긴산 구조의 비드는 pH 에 영향을 받아 중성 영역에서 gel 구조의 풀림현상이 발생하여 포집된 성분을 방출하는 특성을 가지고 있음으로 중성 영역인 pH 7.4 에서는 약 85% 이상의 방출 현상을 나타내었고 이때의 방출 속도는  $y=16.3937 \ln(x)+2.8239$  ( $R^2=0.9393$ ) 를 나타내었다. 반면, 산성영역에서의 gel 구조는 풀림현상이 줄어들어는 것을 알 수 있는데 이로 인하여 20% 내외의 방출 특성을 나타내었으며, 이때의 방출 속도는  $y=4.8643 \ln(x)-11.6511$  ( $R^2=0.8937$ ) 을 나타내었다. 이러한 현상은 알긴산을 기본으로 한 구조에서 발생할 수 있는 특징을 잘 나타내는 것으로 볼 수 있다. 또한, 방출특성과 관련하여 bead 의 pH 에 따른 swelling 정도의 변화에 사진으로 제시하였다. 방출특성과 유사하게 swelling 현상이 pH 7.2 의 중성영역에서는 잘 일어나 비드의 상태가 원형으로 복원된 것을 알 수 있었으나, pH 1.2 의 산성영역에서는 완전한 swelling 이 되지 않은 것을 알 수 있었다. 또한 비드의 색상에서도 확인되는 바와 같이 비드의 색이 유지되어 있어 비드에서 용액으로 방출이 되지 않은 것을 알 수 있었다.

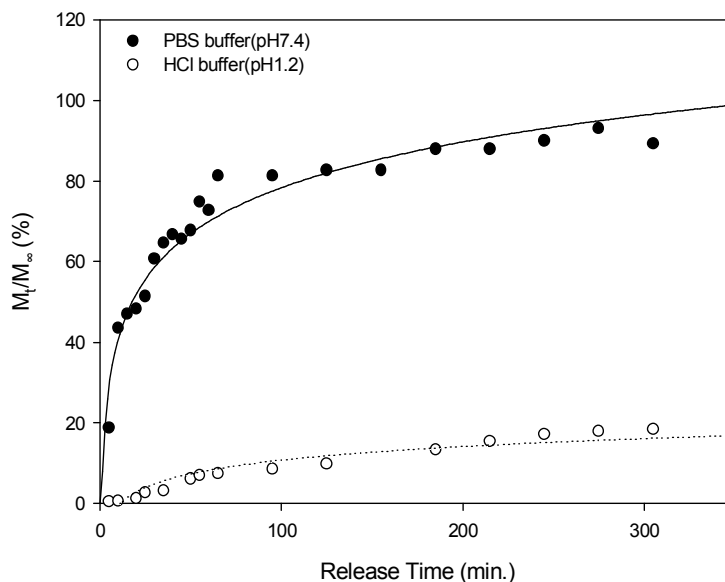


Fig. 126. Release curve of NBCE emulsion bead at PBS buffer (pH 7.4) and HCl buffer (pH 1.2).

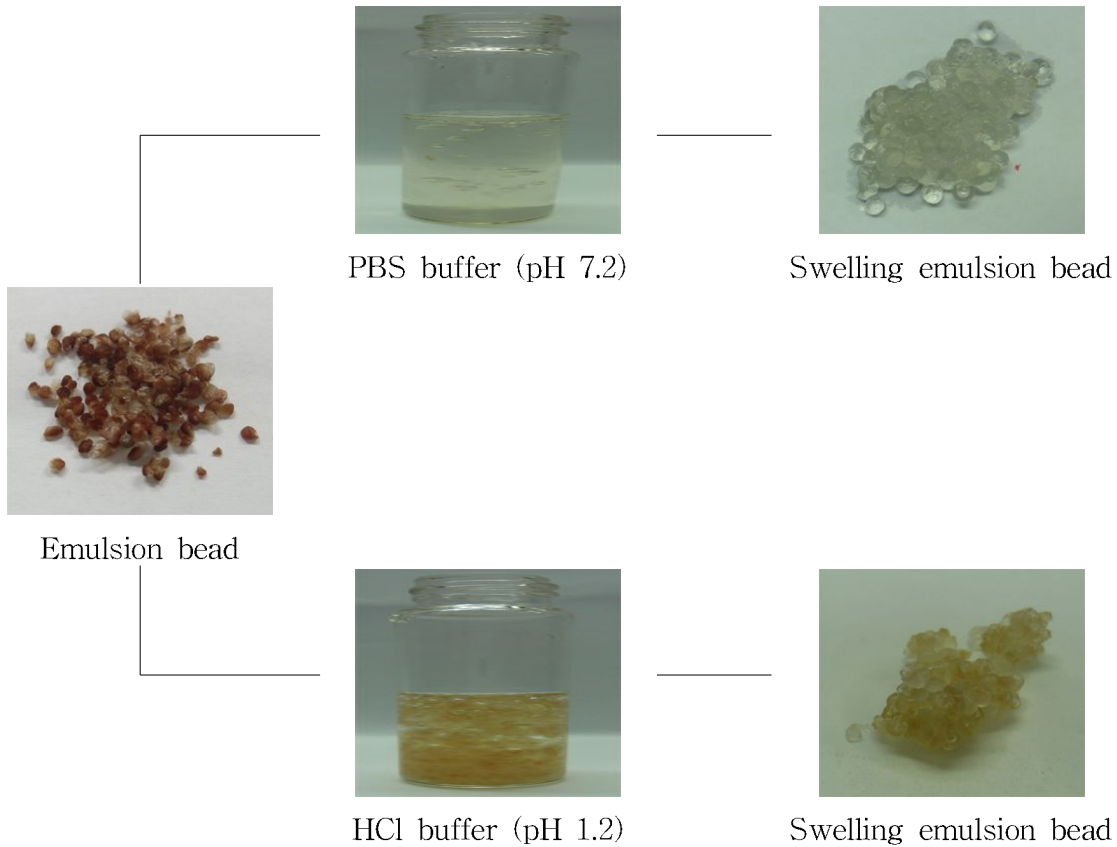


Fig. 127. Change of NBCE emulsion bead at PBS buffer (pH 7.4) and HCl buffer (pH 1.2).

### (3) 메밀싹기름채소의 천연폴리페놀 추출물의 alginate 비드제조

#### (가) Alginate 비드 제조

메밀싹기름채소 소재의 활용성을 높이기 위하여 메밀싹기름채소에서 용매 추출된 수용성 페놀 물질 (SBP) 에 대한 alginate 비드를 제조하였다 (Fig 123). 추출물을 이용한 비드제조를 위해서 Lorena Deladino 등의 방법을 참고하여 alginate 농도 및  $\text{CaCl}_2$  의 농도 등을 설정하였다. Alginate 비드는 sodium alginate 용액에 칼슘 이온 ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 과 같은 다가 이온을 넣어 주면 alginate 에 존재하는 카르복실기와 정전기적 인력이 발생하여 gel 을 형성시킨다. 따라서 일반적으로 alginate 비드는 alginate 농도와  $\text{CaCl}_2$  농도에 의해서 포집효율이 결정되는 것으로 알려져 있다. Alginate 농도는 분자량에 따라서 다양한 농도 범위를 나타낼 수 있는 특징이 있으나 일반적으로 0.5~3% 범위와  $\text{CaCl}_2$  농도 0.5~4% 로 사용하고 있다. 본 실험에서는 alginate 2% 농도와  $\text{CaCl}_2$  1% 농도로 설정하여 실험에 사용하여 비드에 메밀싹기름채소에서 추출한 천연 페놀 성분을 포집시키고자 하였다. 실험 조건에 의하여 제조된 용매별 수용성 페놀 물질 (SBP) 에 대한 alginate gel 의 시험결과, 포집효율이 약 8.6~40.62% 로 나타났으며, 그 중 대조구인 루틴 비드의 포집효율이 가장 높게 나타났다 (Table 46).

Table 46. Efficiency and phenolics contents (mg/g) of alginate bead of SBP

Efficiency (%)		Rutin	DW	EtOH	MeOH	IPA
		40.62	8.60	26.77	11.77	30.06
Total phenolics (mg/g)	Total Loading	17.35	45.00	14.01	48.11	12.24
	Bead	7.05	3.87	3.75	5.67	3.68

(나) 수용성 페놀 물질 (SBP) 을 이용하여 제조한 Alginate 비드의 현미경적 관찰

메밀싹기름채소의 용매별로 추출된 수용성 페놀 물질로 제조한 비드에 대한 현미경 사진은 Fig. 128 에 나타난 것과 같이 구형의 비드는 메밀싹기름채소 추출물은 용매별로 MeOH, EtOH, IPA 추출물을 alginate 비드에 포집하여 제조한 것으로서 천연 수용성 페놀 물질을 포함하고 있어 아무것도 포집하고 있지 않은 비드 (A) 에 비하여 비드의 색이 노란색계열로 착색된 것을 확인 할 수 있었다. 또한 flavonoid 계의 폴리페놀 물질은 형광 빛 아래에서 형광성을 보이는 특성이 있는데 제조된 비드를 형광현미경으로 관찰한 결과 alginate 비드 (A) 를 제외한 모든 비드가 형광을 나타내는 것을 확인 할 수 있었다.

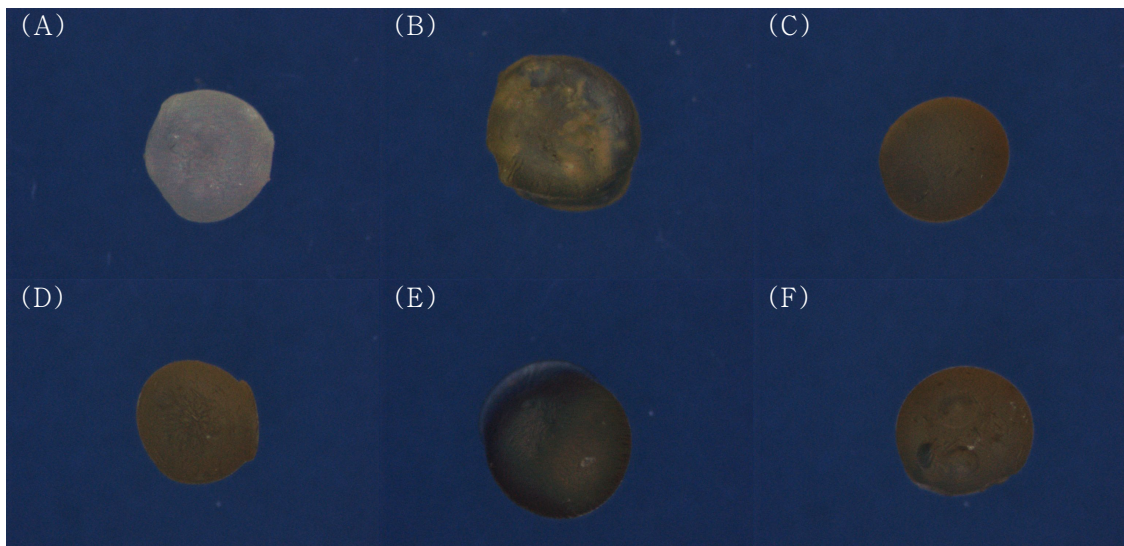


Fig. 128. Microphotographs of alginate bead.

(A): Alginate bead, (B): Rutin alginate bead, (C): Water extract SBP bead, (D): MeOH extract SBP bead, (E): EtOH extract SBP bead and (F): IPA extract SBP bead.

(다) Alginate 비드의 방출효과

메밀씨기름채소를 용매별로 추출하여 SBP 형태로 제조한 후 고농도의 페놀화합물을 포집하여 제조한 비드를 건조하여 PBS (pH 7.4) 용액에 분산시킨 후 자석 교반기를 이용하여 일정한 속도에서 교반하면서 용출량을 측정하였다. 10 분씩 분취를 받아서 Folin 시험법으로 총 페놀 함량을 측정한 결과 대조구로 사용된 루틴의 방출량이 7시간 기준으로 약 10% 정도로서 가장 낮은 값을 나타내었고, MeOH, EtOH, IPA 및 열수 추출물의 방출 특성은 유사하여 30% 내외를 나타내었다.  $M_t/M_\infty$  는 방출시간을  $M_\infty$  으로 했을 때 비드에 함유되어 있는  $M_{max}$  함량을 나타내는 방출 시간을  $M_t$  일 때 방출비율을 백분율로 계산하여 비교하였다.

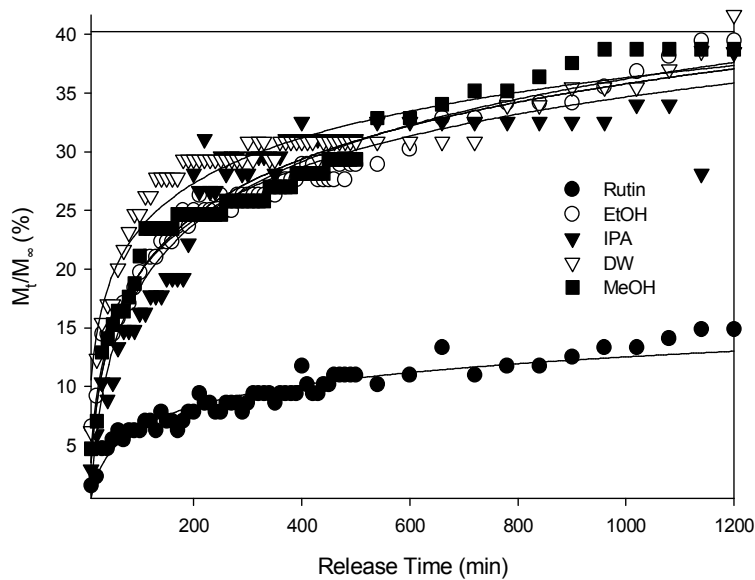


Fig. 129. Release curve of antioxidants from alginate beads at pH 7.4.

(라) Alginate 비드의 방출실험에 의한 항산화능 변화

메밀씨기름채소 추출물이 함유된 비드의 방출 시간에 따른 항산화능을 측정하기 위하여 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 방출시간에 따른 항산화능은 방출시간이 길어질수록 방출량과 비례하여 증가하는 것으로 나타났다. 이는 방출되는 물질이 페놀성 물질로서 항산화 활성능과 직접적인 연관성이 있기 때문으로 판단된다. 추출용매별 방출특성은 메탄올 추출물로 제조한 비드에서 시간에 따른 항산화활성이 가장 높게 나타나 방출시간 7 시간에서 약 12%의 활성을 나타내었다. 에탄올 추출물로 제조한 비드에서도 메탄올 추출물 비드와 유사한 경향을 나타내어 방출시간 7 시간에서 약 11.5%의 활성을 나타내었다. 에탄올 추출물 비드와 메탄올 추출물 비드는 앞의 방출량 특성과 방출량에 따른 항산화능 측정에서도 비슷한 경향을 나타내

었다. 또한 열수 추출물 함유 비드와 아이소프로판올 추출물 함유 비드의 경우 활성능이 방출시간 7 시간 기준 약 7% 를 나타내어 방출량에 비하여 효능이 에탄올과 메탄올 추출물에 비하여 낮은 것을 알 수 있었다.

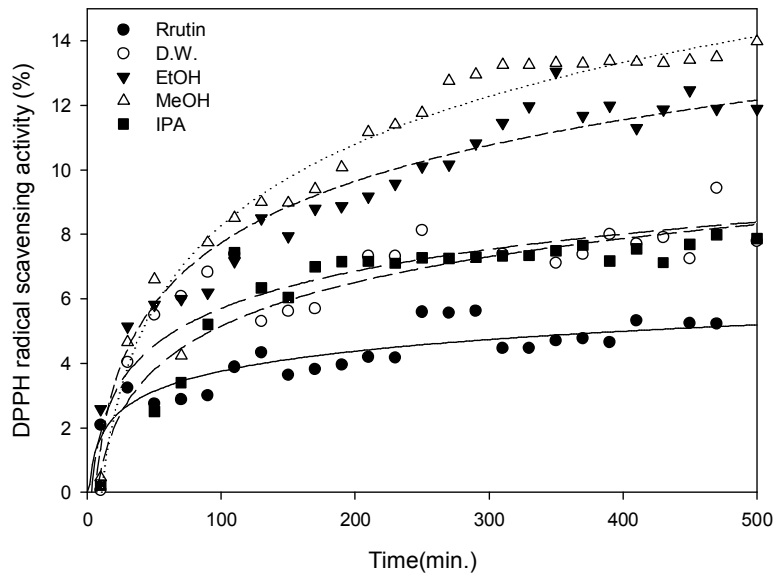


Fig. 130. DPPH radical scavenging activity (%) curve of alginate beads at release time.

(마) Alginate 비드의 포집효율 향상

○ 수용성 페놀 물질 (SBP) 을 이용한 비드의 포집 효율을 증가시키기 위하여  $\text{CaCl}_2$  의 농도를 1% 와 2% 로 설정한 후 alginate 농도를 0.5%, 1.0% 및 2.0% 로 설정하여 포집효율에 대하여 조사하였다. Alginate 비드는 sodium alginate 용액에 칼슘 이온 ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 과 같은 다가 이온을 넣어 주면 alginate 에 존재하는 카르복실기와 정전기적 인력이 발생하여 gel 을 형성 시킨다. 따라서 alginate 비드는 alginate 농도와  $\text{CaCl}_2$  농도에 의해서 포집효율이 결정되는 것으로 알려지고 있다. Alginate 농도는 분자량에 따라서 다양한 농도 범위를 나타낼 수 있는 특징이 있으나 일반적으로 0.5~3% 범위와  $\text{CaCl}_2$  농도 0.5~4%로 사용하고 있다. Lorena Deladino 등의 연구에서도 *Ilex paraguariensis* 의 추출물에 대한 포집효율을 높이기 위하여 alginate 2% 와  $\text{CaCl}_2$  농도 1% 내외로 조절하여 효과적인 결과를 얻은 것으로 보고하고 있다. 또한 alginate 의 경우 분자량에 따라서 3% 농도에서는 겔의 강도가 높아져 비드 제조가 어려운 점이 발생하였다. 따라서 본 연구에서 alginate 와  $\text{CaCl}_2$  농도의 설정범위를 2.0% 미만으로 설정하여 포집효율을 조사하였다. 수용성 페놀 물질 (SBP) 은 에탄올 추출물을 이용하여 정제한 것을 사용하였다.

○ 농도별 포집효율을 측정한 결과 alginate 농도에 따라 포집효율이 증가하는 것으로 나타났으며, alginate 농도 2.0%, CaCl<sub>2</sub> 농도 2.0% 에서 가장 높은 약 61.42% 의 포집효율을 나타내었다. 반면, CaCl<sub>2</sub> 농도의 변화에 따른 차이는 alginate 농도가 높아짐에 따라 1~2% 내로 줄어드는 것으로 나타나 alginate 농도 2.0% 에서는 유사한 포집효율을 나타내었다. 따라서 본 연구에서는 alginate 농도 2.0% 와 CaCl<sub>2</sub> 농도 1.0% 가 메밀싹기름채소 유래 수용성 페놀 물질 (SBP) 포집을 위한 alginate 비드 제조 농도로 적절한 것으로 판단하였다.

○ 메밀싹기름채소의 alginate 함량에 따른 비드의 제조 특성을 **Table 47** 에 나타내었다. Alginate 비드는 **Table 48** 의 실험결과에서 나타난 것과 같이 alginate 함량이 높아질수록 포집효율이 증가하는 것으로 나타났으며, 반지름과 원둘레 또한 증가하는 경향을 나타내었다. 반면, gel의 장축과 단축의 비를 나타낸 원형율은 1.06 으로 구형에 근접한 모양을 나타내었으며, alginate 농도 변화에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타내었다. Alginate 함량이 높을수록 비드의 반지름이 커지는 것은 비드 제조 시 CaCl<sub>2</sub> 와의 결합이 강하게 일어나기 때문인 것으로 판단된다.

Table 47. Efficiency of SBP alginate bead depend to parameter change

	Alginate Conc.(%)					
	0.5		1.0		2.0	
	1	2	1	2	1	2
Calcium chloride Conc. (%)						
Efficiency (%)	53.62	59.28	53.66	54.24	58.41	61.42

Table 48. Physical property of SBP alginate bead

Alginate concentration		SBP	
		2.0% bead	1.0% bead
Efficiency (%)		62.20	51.78
Bead size	Radius (mm)	1.86 ± 0.04	1.76 ± 0.07
	Roundness	1.06 ± 0.01	1.06 ± 0.01
	Perimeter (mm)	11.81 ± 0.20	10.97 ± 0.27



(바) 알긴산비드 pH 별 방출실험

메밀씨기름채소 유래 수용성 폐놀 물질을 이용한 알긴산 비드를 제조한 후 pH 에 따른 시간별 방출실험을 실시하였다. 알긴산 비드는 pH 에 크게 영향을 받아 pH 7.4 의 중성 영역에서 gel 구조의 풀림현상이 발생하며 낮은 pH 영역에서는 겔의 구조가 상대적으로 잘 유지가 되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서도 PBS buffer 에서의 방출량이 약 80% 내외인 것을 감안하면 HCl buffer 에서는 약 16% 내외로서 PBS buffer 의 약 20% 정도 방출되는 것으로 나타났다. 그림에 의한 방출 속도는 PBS buffer 에서  $Y=21.3701 \ln(x) - 40.5910$  ( $R^2 = 0.9743$ ), HCl buffer 에서  $Y=3.9760 \ln(x) - 9.5749$  ( $R^2 = 0.9743$ ) 를 나타내었다.

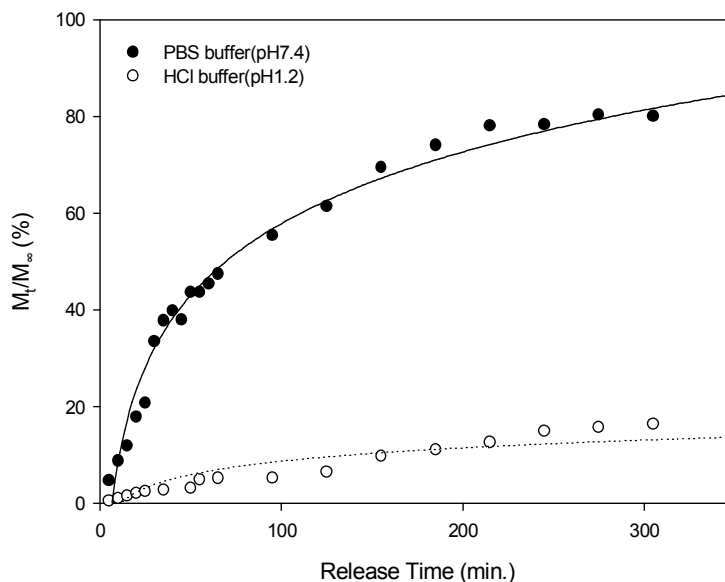


Fig. 131. Release curve of SBP alginate bead at PBS buffer (pH 7.4) and HCl buffer (pH 1.2).

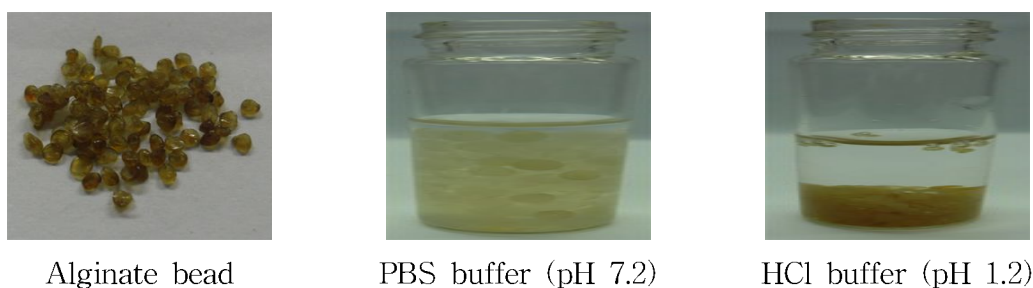


Fig. 132. Change of SBP alginate bead at PBS buffer (pH 7.4) and HCl buffer (pH 1.2).

(사) 메밀싹기름채소 유래 천연 페놀 물질 (SBP) 에 대한 emulsion 포집 효과

○ 메밀싹기름채소 유래 천연 페놀 물질 (SBP) 에 대한 emulsion 포집 효과를 살펴보기 위하여 상기의 emulsion encapsulation 조건을 이용하여 emulsion 비드를 제조하였다. 메밀싹기름채소 유래 천연 페놀 물질 (SBP) 은 수용성의 물질로서 O/W 형으로 제조하기 위하여 EtOH : DW : DCM 의 비율을 적절히 조합하였다. 이들 용액의 조제 중 EtOH 함량이 높으면 혼합용액에 층분리가 발생한 반면, EtOH 의 함량이 낮은 경우 페놀 물질이 침전되는 현상이 발생하였다. 따라서 본 연구에서는 O/W 형의 제조를 위한 적정 비율로서 EtOH : DW : DCM = 4 : 2 : 4 의 비율로 정하여 이를 실험에 사용하였다. O/W 용액을 2% alginate 용액에 녹인 후 CaCl<sub>2</sub> 1% 용액에 적하하여 비드를 제조한 후 이를 탈기하고 건조하여 emulsion bead 를 제조하였다. 수용성 페놀 물질 (SBP) 은 열수 추출물과 에탄올 추출물을 이용하여 정제한 것을 사용하였다.

○ 열수 추출물과 에탄올 추출물 SBP 에 의한 emulsion 포집효율은 각각 약 79.85% 와 약 70.98% 로서 alginate gel 의 포집효율보다 약 30% 이상 증가하는 것으로 나타났다. 이는 포집 과정에서 발생하는 특징으로 페놀성분들이 O/W 용액에 잘 분산 있는 상태로 alginate gel 에 의해서 적절하게 포집된 결과로 볼 수 있다.

○ 메밀싹기름채소 열수 추출물과 에탄올 추출물을 이용하여 제조한 SBP 를 W/O/W 형의 emulsion 비드를 제조하여 방출 특성을 살펴본 그림은 **Fig. 133** 에 나타내었다. Emulsion 비드의 방출 특성 상  $M_t/M_\infty$  는 최대 용출되는 총 페놀 함량에서 t 시간의 용출량을 % 로 나타내었다. 시간에 따른 총 페놀 함량을 실험하였을 때 50% 방출되는 시간은 각각 다음과 같은 식에서 기울기를 구할 수 있다.

$$r = \frac{\Delta M}{\Delta t} = \frac{M_{j+1} - M_j}{M_\infty (t_{j+1} - t_j)}$$

○ 기울기가 0 이 될 때 최대 용출량 ( $M_\infty$ ) 을 나타내었으며 최대 용출량에 대하여 비드의 용출량이 50% 가 되는 시간을 구하여 비교 하였다. **Fig. 134** 에서 용출곡선식은 열수 추출물의 경우  $y=14.4014 \ln(x) + 8.9643$  ( $R^2=0.8993$ ) 이었으며, 에탄올 추출물의 경우  $y=14.1682 \ln(x) + 13.0961$  ( $R^2=0.7493$ ) 이었다. 이 곡선에서 용출량이 50% 가 되는 시간은 열수추출물이 약 12.24분이었고, 에탄올 추출물이 약 10.53 이었다. 따라서 열수추출물과 에탄올 추출물을 이용한 emulsion 비드의 PBS buffer 에서의 용출시간은 2분 정도로서 용출시간 5 시간에서 큰

차이를 나타내지 않았다. 앞에서 살펴본 바와 같이 메밀싹기름채소 유래 수용성 페놀 물질에 대한 알긴산 비드 및 emulsion 비드의 제조를 통하여 수용성 페놀 물질에 대한 사용성 뿐만 아니라 다양한 응용성을 가질 수 있는 소재로서 활용 가능성을 알 수 있었다. 이러한 소재의 활용은 다양한 부가 가치를 줄 수 있을 뿐만 아니라, 다양한 식품의 개발에도 큰 응용성을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

Table 49. Efficiency and phenolics contents (mg/g) of emulsion of SBP

		Emulsion bead	
		DW extract SBP	EtOH extract SBP
Efficiency (%)		79.85	70.98
Total phenolics contents (mg/g)	Loading	24.54	20.56
	Bead	19.60	14.60

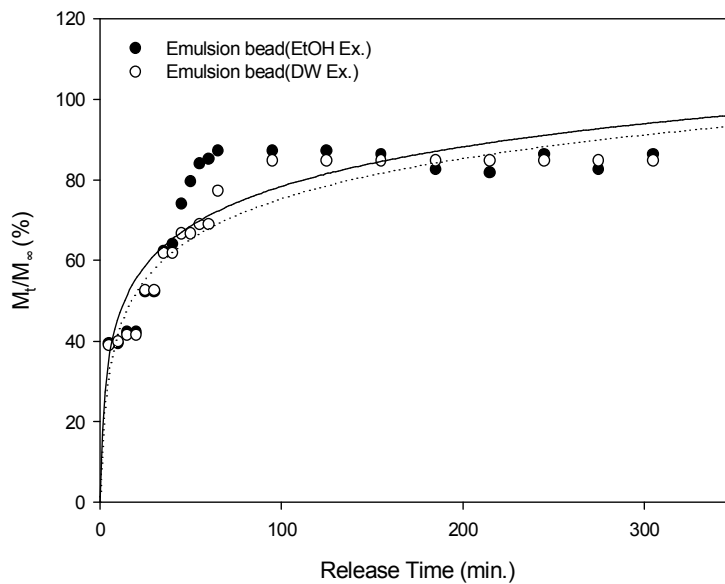


Fig. 133. Release curve for comparison of EtOH extracts encapsulation beads and water extracts encapsulation beads.

## 제 4 절 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 Metabolomic 특성 및 지질대사 개선 연구

### 1. 메밀싹기름채소의 기존생산 방식과 MeJA 처리구간의 Metabolomic 특성 조사

#### 가. MeJA 처리한 메밀싹 메탄올 추출물의 metabolomic Analysis

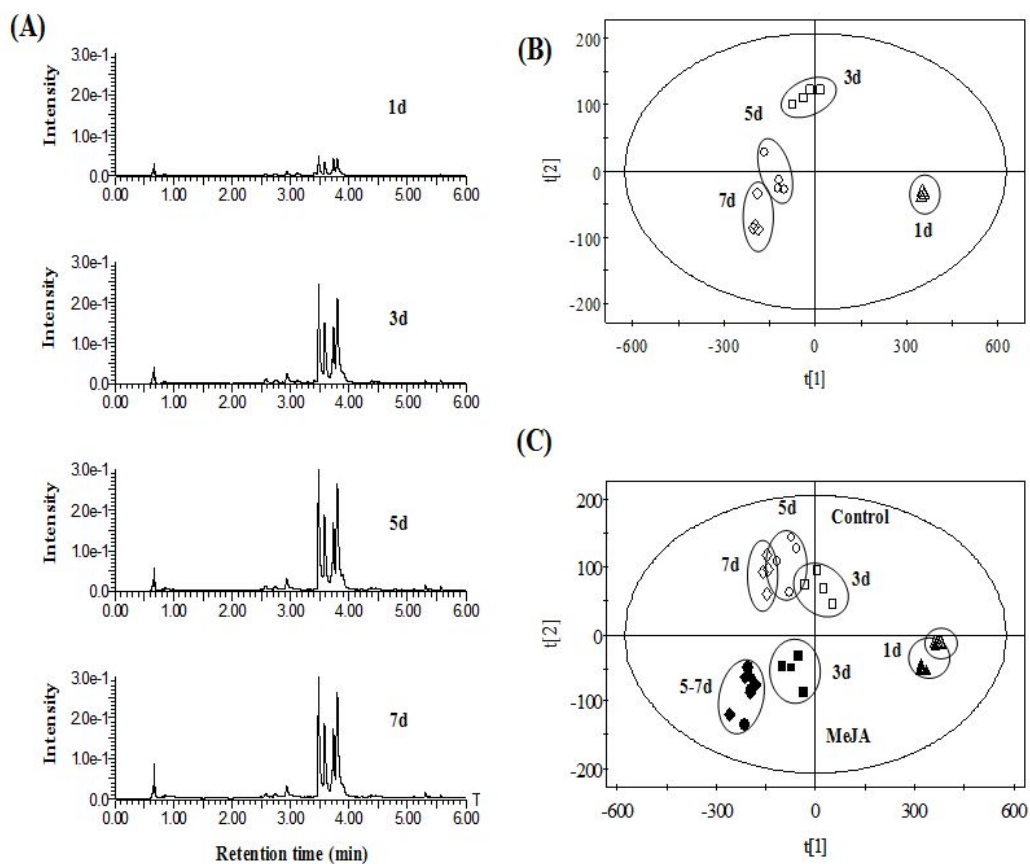


Fig. 134. UPLC-Q-TOF-MS base peak intensity (BPI) profiles of methanol-soluble metabolites of buckwheat sprout cultivated under dark condition for 1d, 3d, 5d and 7d.

(A), PLS-DA score plots of control sprout according to cultivation time (B), and the score plots of control and MeJA groups (C). The sprout metabolites were analyzed using an Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub> column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm)-UPLC-Q-TOF with gradient elution of acetonitrile containing 0.1% TFA. The Q-TOF was operated in ESI positive mode. All C<sub>18</sub>-ULPC analyses were replicated five times.

○ 재배기간 (밭아, 1, 3, 5 및 7일) 이 다른 메밀싹의 메탄올 추출물을 UPLC-Q-TOF MS 를 이용하여 분석하였다. 3일 이상 재배된 메밀싹에서 4개의 주 peak 들이 관찰되었다 (**Fig. 134 (A)**). 재배기간이 다른 시료들 간의 차이를 시각적으로 보여주기 위하여 Q-TOF MS 로 분석된 MS data 를 PLS-DA 분석하였다 (**Fig. 134 (B), (C)**). 1일 동안 재배된 메밀싹은 주요성분 1(t (1)) 에 의해 3일 이상 재배된 메밀싹과 분리되었으며 그 분리 간극은 재배기간이 증가할수록 좁아졌다 (**Fig. 134 (B)**). 또한 1일 이상 재배된 모든 싹에서 MeJA 처리 군은 무처리군과 주요성분 2 에 의해 뚜렷하게 구별되었으나 MeJA 처리구내에서 5일과 7일 재배된 시료의 차이는 관찰되지 않았다 (**Fig. 134 (C)**).

○ MeJA 처리군과 무처리군의 차이를 좀 더 조사하기 위하여 각각의 수확 시기별 (1, 3, 5, 7일) 로 그룹간의 차이를 PLS-DA score plot 에서 관찰하였다 (**Fig. 135 (A)~(D)**). 매 수확 시기별 PLS-DA 모델이 통계적으로 문제없이 잘 성립되었는지 확인하기 위해 PLS-DA parameter 를 분석한 결과 **Table 50** 에서 보여주는 바와 같이 data 들의 그림이 PLS-DA 상에서 잘 그려졌는지를 확인하는 R2X (cum) 와 R2Y (cum) 의 값은 모든 models 에서 약 0.535~0.675 및 약 0.992~0.998 값을 각각 보여 fitting 이 잘 되었음을 보여주고 있으며 model 의 예측능력을 보여주는 Q2 (cum) 의 값 또한 약 0.871~0.969 로 매우 높은 값을 보여주고 있다. 또한 overfit 이 되는지를 확인하기 위하여 permutation test (n=200) 을 갖는 5-fold cross validation 를 통해 R intercept 와 Q intercept 를 확인한 결과 각각 약 0.885~0.906 및 약 -0.062~0.288 을 보여 일부에서 overfit 현상을 보이기는 했지만 모든 models 에서  $p < 0.05$  을 보여 유의적인 차이를 보였다.

○ 그룹들 간의 차이에 관여하는 metabolites 를 찾기 위하여 p (1) 와 p (corr) (1) 을 이용하여 S-plots 를 작성하였다 (**Fig. 135 (E)~(H)**). S-plot 상에서 p (1) 와 p (corr) (1) 의 교차점과 멀리 떨어진 metabolites 가 그룹들 간의 차이에 주로 관여한다. 1, 3 및 5일 동안 재배된 메밀싹 model 에서 p (corr) 값이 positive 에 놓여있는 metabolites 은 주로 MeJA 처리에 의해 감소되는 경향을 보인 반면 negative 쪽은 증가하는 경향을 보였다. 그러나 7일 동안 재배된 시료의 model에서는 그와 반대로 나타났다. S-plots 상에 숫자로 표시된 metabolites 는 MS 로 동정되었으며 그들의 fold change 는 **Table 51** 에 정리하였다. 본 실험을 통해 420 개의 metabolites 가 UPLC-Q-TOF MS 에 의해 분석되었다. 이들 metabolites 중 chlorogenic acid, catechin, isoorientin, orientin, rutin, vitexin, quercitrin 이 MeJA 에 영향을 받은 주 metabolites 로 동정되었고 그들의 함량 변화는 무처리군에 대한 MeJA 처리군의 fold change 로 표시하였다.

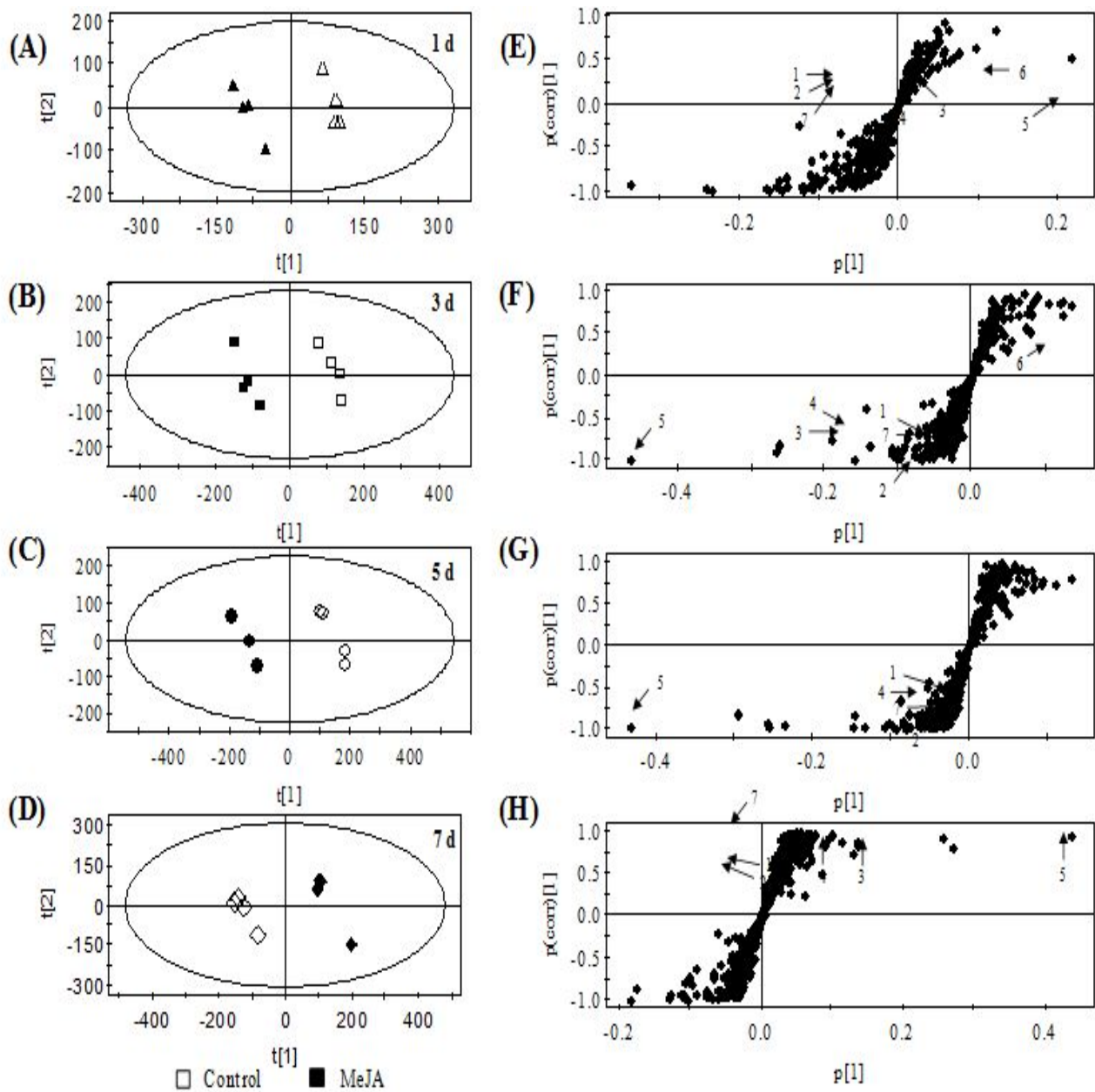


Fig. 135. PLS-DA score plots of 1d (A), 3d (B), 5d (C), and 7d (D) and their S-plots (1d, E; 3d, F; 5d, G; 7d, H).

The numbers for the metabolites are as given in Table 2 (LC-MS). The PLS-DA score plots showed significant separation between control and MeJA groups (A,  $p < 0.045$ ; B,  $p < 0.022$ ; C,  $p < 0.015$ ; D,  $p < 0.014$  by permutation test).

Table 50. Summary of parameters for assessment of the quality of PLS-DA models

models	No. <sup>a</sup>	R <sup>2</sup> X <sub>cum</sub> <sup>b</sup>	R <sup>2</sup> Y <sub>cum</sub> <sup>b</sup>	Q <sup>2</sup> Y <sub>cum</sub> <sup>b</sup>	Rintercept <sup>c</sup>	Qintercept <sup>c</sup>	P <sup>d</sup>
1d	2	0.535	0.993	0.871	0.906	-0.062	0.045
3d	2	0.568	0.992	0.925	0.952	0.288	0.022
5d	2	0.672	0.998	0.925	0.911	0.146	0.015
7d	2	0.675	0.995	0.969	0.885	0.104	0.014

<sup>a</sup>No. is the number of components.

<sup>b</sup>R<sup>2</sup>X<sub>cum</sub> and R<sup>2</sup>Y<sub>cum</sub> are the cumulative moleled variation in X and Y matrix, respectively, and Q<sup>2</sup>Y<sub>cum</sub> is the cumulative predicted variation in Y matrix.

<sup>c</sup>R and Q intercepts were obtained after permutation test (n=200).

<sup>d</sup>P is *p*-value obtained from cross validation ANOVA of OPLS-DA.

Table 51. Identification of buckwheat sprout metabolites analyzed by UPLC-Q-TOF MS and their fold change analysis

No. <sup>a</sup>	Identity	Exact mass (M+H)	Actual mass (M+H)	Mass error (mDa)	MS fragments [ESI <sup>+</sup> ]	Fold change (vs. control) <sup>b</sup>				VIP <sup>c</sup>			
						1d	3d	5d	7d	1d	3d	5d	7d
1	Chlorogenic acid	353.0873	353.0877	-0.4	191	1.72*	1.58*	1.81*	1.50*	0.33	0.54	0.62	0.50
2	Catechin	289.0712	289.0653	5.9	245,203,125	1.86*	2.34*	2.07*	1.04	0.73	1.30	0.58	0.30
3	Isoorientin	447.0927	447.0977	-5.0	357,327,297	1.51*	1.22*	1.25*	1.12*	2.88	3.44	1.33	5.12
4	Orientin	447.0927	447.0977	-5.0	357,327,297	1.57*	1.27*	1.32*	1.24*	2.57	3.22	1.87	4.39
5	Rutin	609.1456	609.1644	-18.8	300,179	1.63*	1.47*	1.59*	1.68*	9.02	12.32	13.97	12.54
6	Vitexin	431.0978	431.1027	-4.9	312,311,283	1.57*	1.08	1.15*	1.00	5.28	4.94	3.21	1.78
7	Quercitrin	447.0927	447.0963	-3.6	285,151	1.45*	1.44*	1.56*	1.21*	0.28	0.44	0.40	0.59

<sup>a</sup>No. was the number of metabolites marked in Fig. 135.

<sup>b</sup>Fold change was calculated by dividing the mean of normalized intensities of each metabolite from MeJA treated sprouts by the mean intensity of the same metabolite from control sprouts and the asterisk(\*) on the side of each fold change value indicated significant difference at *p*<0.05.

<sup>c</sup>VIP is variable importance in the project and its value of above 1.00 showing high relevance for explaining the differences of sample groups.

나. MeJA 처리에 의한 메밀싹의 total phenolic content와 항산화 효과에 미치는 영향

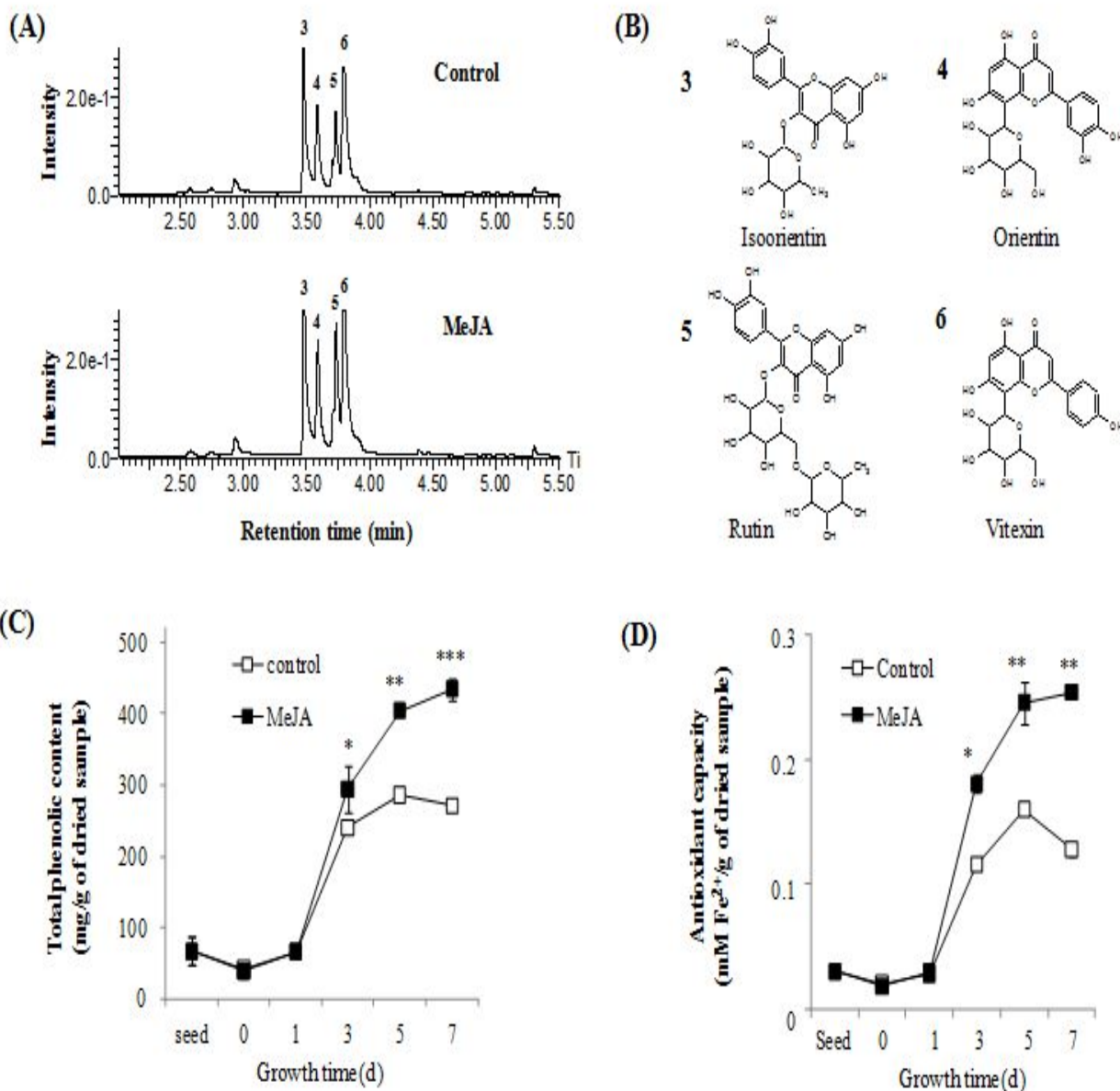


Fig. 136. UPLC-Q-TOF-MS BPI profiles of control and MeJA treated-sprout cultivated for 7 days.

(A), the chemical structures of major metabolites; isoorientin (3), orientin (4), rutin (5), and vitexin (6) (B), total phenolic contents of control and MeJA groups (C), and antioxidant capacity of both groups (D). Total phenolic content and antioxidant activity were determined by Folin-ciocalteu's reagent assay and FRAP assay, respectively.



○ MeJA 처리에 의해 이들 metabolites 의 함량이 약 1.15~2.34 배 증가하였다. 비록 catechin 과 chlorogenic acid 의 함량이 MeJA 에 의해 주목할 만한 변화를 보였지만 메밀삭에서 그들이 차지하는 비중이 너무 낮아 동정된 7 개의 metabolites 중 VIP 값 1.00 이상을 갖는 isorientin, orientin, rutin, vitexin 이 MeJA 처리군과 무처리군의 차이에 주로 관여하는 것으로 확인되었다. 특히 이들 4개의 주요 metabolites 중 루틴이 MeJA 처리에 의해 가장 영향을 많이 받아서 7 일 동안 재배된 메밀삭에서는 그 함량이 MeJA 처리에 의해 약 1.68 배 증가하였다 (**Fig. 136 (A)**). 메밀삭에 들어있는 total phenolic compound 함량은 재배 1일 이후에 급격하게 증가하였으나 3일 이후 더 이상의 증가는 관찰되지 않았다 (**Fig. 136 (C)**). 그러나 MeJA 를 처리한 메밀삭의 total phenolic compound 함량은 재배 7일 때까지 계속해서 증가하였으며 7일 동안 재배된 메밀삭에 들어있는 그 함량은 약 217 mg GAE/g of dried sample 로 동일기간동안 재배된 무처리메밀삭의 약 136 mg GAE/g of dried sample 보다 약 60% 증가한 것으로 관찰되었다. 항산화 효과도 total phenolic compound 의 변화와 매우 유사한 패턴으로 변하는 것을 관찰하였다 (**Fig. 136 (D)**). 재배 3일에 MeJA 처리구와 무처리구의 항산화 효과 차이가 관찰되기 시작하였고 가장 큰 차이는 7일 동안 재배된 메밀삭에서 관찰되었으며 MeJA 처리구의 항산화 능력 (약 25 mM Fe<sup>2+</sup>/g sample) 이 무처리구에 비해 약 2배 증가한 것으로 관찰되었다.

#### 다. 메밀삭 metabolites의 정성 정량 분석

○ 본 연구에서 exogenous MeJA 처리가 메밀삭 metabolites 의 정성 정량적 변화를 UPLC-Q-TOF MS 로 분석하였다. 다른 재배기간 (1, 3, 5 및 7일) 동안, 다변량 통계분석을 이용하여 MeJA 처리 메밀삭의 metabolite profiles 를 무처리군의 profiles 과 비교분석하였다. MeJA 처리가 수확한 무의 발아에 영향을 줬다는 연구결과와는 달리 메밀삭의 성장에는 어떠한 영향도 주지 않았음에도 불구하고 많은 metabolites 가 MeJA 처리에 의해 영향을 받았다 (**Fig. 134, 135**). MeJA 처리에 영향을 받은 많은 metabolites 중 7개의 metabolites (chlorogenic acid, catechin, isorientin, orientin, rutin, vitexin, quercitrin) 가 동정되었으며 이들 중 4개의 compounds (isorientin, orientin, rutin, vitexin) 가 암실조건에서 재배된 메밀삭의 주요 성분으로 동정되었다 (**Table 51**). 그러나 자연조건에서 재배된 메밀삭의 주성분 중 하나인 anthocyanin 은 암실조건에서 재배한 메밀삭에서는 관찰되지 않았다. 무순, 콩나물, 상추, 로즈베리의 경우와 유사하게 메밀삭의 경우도 재배기간에 관계없이 (1일 제외) MeJA 처리로 인해 phytochemical 의 함량이 증가하였다.

○ 본 연구에서 발굴된 메밀싹의 metabolites 을 토대로 하여 MeJA 처리에 의해 upregulated 되는 메밀싹의 주요 metabolites의 생성에 관여하는 phenylpropanoid pathway 를 도출하였다 (Fig. 137 (A)). 이 pathway 조절하는 효소인 phenylalanine ammonia lyase (PAL) 의 활성을 조사한 결과 (Fig. 137 (B)) 7일 동안 재배된 메밀싹에서 PAL 의 활성이 MeJA 처리에 의해 약 2배 증가하였다. 따라서 메탄올로 추출되어 나올 수 있는 메밀싹의 주요 성분들은 phenylpropanoid pathway 를 통해 생성이 되며 MeJA 처리에 의한 그들 함량은 증가하는 식물호르몬의 일종인 MeJA 가 airborne elicitor 로써 메밀싹에게 mimic stress 를 주었고 메밀싹은 MeJA 처리가 실제 stress로 착각하여 자기 방어기작을 구축하기 위하여 phenylpropanoid pathway 를 통해 방어기작에 관여하는 물질들을 많이 생성하려고 했기 때문이다. 이 과정에서 isorientin, orientin, rutin, vitexin 를 비롯한 관련 물질들의 함량이 증가하였다.

○ 비록 본 연구과제에서 항산화 효과 이외에는 증가된 metabolites 함량과 건강 기능성에 대한 연관성에 대해 연구하지 않았지만, MeJA 처리에 의해 증가된 주요 metabolites 의 건강 기능성에 대한 많은 임상 연구들의 결과들로 볼 때 MeJA 처리로 인해 메밀싹의 건강 기능성도 증가될 것으로 사료된다.

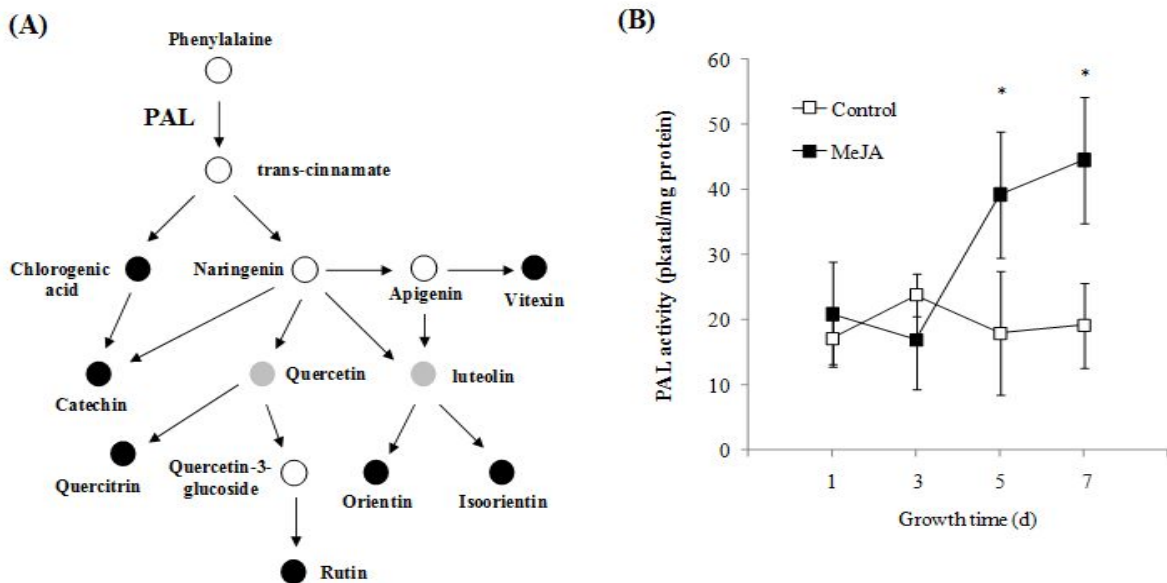


Fig. 137. Schematic diagram of phenylpropanoid pathway associated to produce buckwheat sprout phytochemicals (A) and PAL activity (B).

The metabolites analyzed by LC/MS are colored; black is for increased metabolites and open circle is for no detected metabolites. One katal was defined as the enzyme activity producing 1 mol of cinnamic acid equivalents per second.

## 2. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 *In vitro* 효능 평가

### 가. 적정 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름채소의 *In vitro* 효능 평가

#### (1) 재료

본 실험에 사용한 메밀은 강원도 평창군 봉평면에서 2009년에 재배된 종자를 구입하여 새 싹채배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 18°C에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리는 1차년도 연구결과 유효시료로 평가된 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군 3종에 대하여 MeJA 는 0.1 mM 의 농도로, 키토산은 30 cps 0.1% 의 농도로, MSM 은 0.05% 의 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다. 이들 유효시료의 재배일수에 따른 *in vitro* 효능 평가를 통한 최적 기능소재를 선정하고자 0일, 1일, 3일, 5일 및 7일 째의 시료를 채취하여 -70°C 의 온도에서 동결한 후 동결건조기를 이용하여 건조하였다. 건조시료는 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60 mesh (850 mm<sup>2</sup>) 표준망에 통과시켜 polyethylene bottle 에 담아 parafilm 으로 밀봉한 후 4°C 냉장고에 보관하면서 본 연구에 사용하였다.

#### (2) Methyl Jasmonate 처리 메밀싹기름채소 기능소재의 재배일수에 따른 *in vitro* 효능평가

##### (가) α-Amylase 활성 저해율

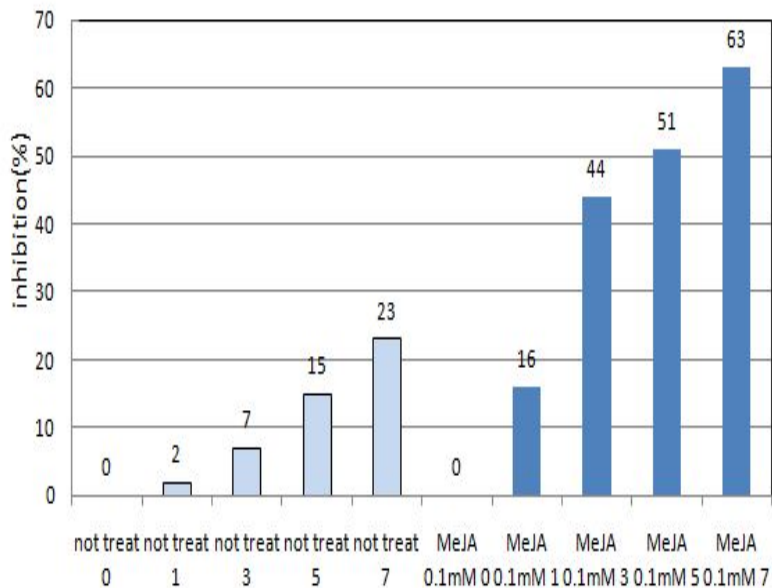


Fig. 138. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with MeJA against α-amylase.

(나) 전분가수분해율

2시간 동안의 전분가수분해율은 Fig. 139, 140 에서와 같이 무처리군의 경우 반응이 진행되는 동안 대조시료와 별다른 차이를 나타내지 않았으며, 처리군의 경우 재배 0일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 다소 낮은 것으로 나타났지만 유의한 수준은 아니었다. 재배 7일 시료의 경우 2시간 후의 전분가수분해 저해효과는 대조시료의 약 35.3 mg/mL 에 비하여 약 31.0 mg/mL 로 약 4.3 mg/mL 정도 낮은 것으로 나타났다. 한편 2시간동안의 전체적인 전분가수분해 정도를 나타내는 전분가수분해지수는 처리군의 경우 무처리군에 비하여 재배 3일째 부터 낮은 경향을 보였으며, 재배 7일 시료의 전분가수분해지수는 82로 재배 0일 시료에 비하여 약 16, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 약 13 정도 낮은 수준을 유지하였다 (Fig. 141).

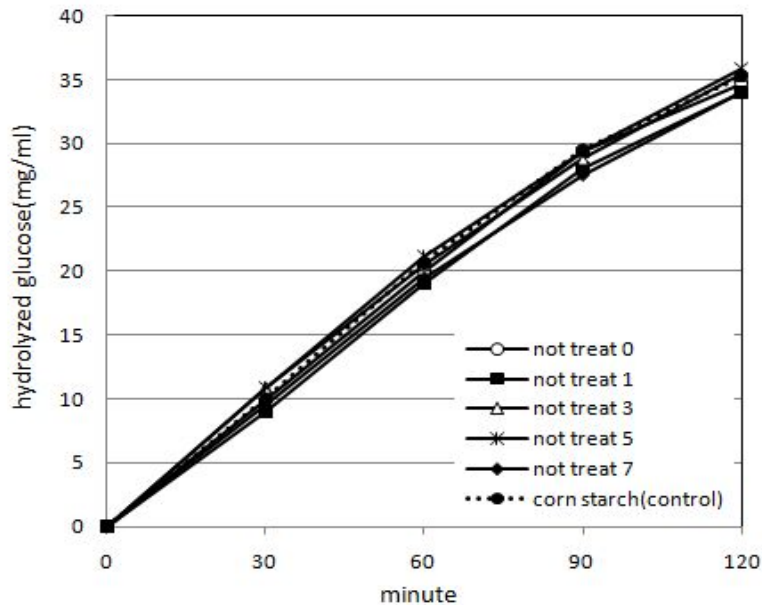


Fig. 139. *In vitro* rate of starch hydrolysis hydrolysis of buckwheat sprouts for 120 min.

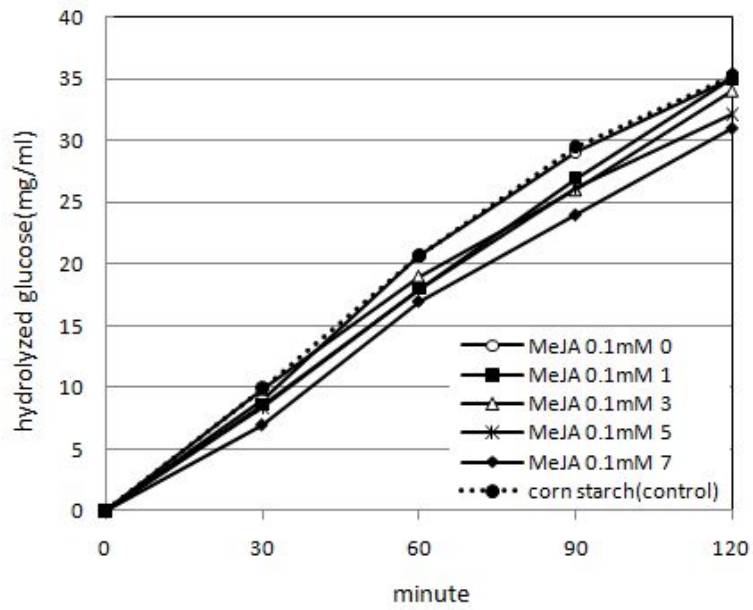


Fig. 140. *In vitro* rate of starch of buckwheat sprouts treated with MeJA for 120 min.

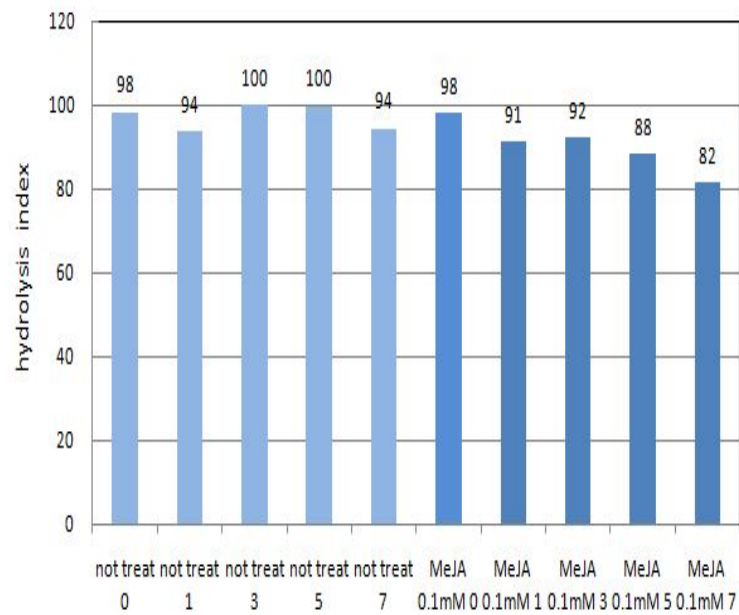


Fig. 141. Hydrolysis index for starch of buckwheat sprouts treated with MeJA.

(다)  $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율

$\alpha$ -Glucosidase 활성저해율은 Fig. 142 에서와 같이 무처리군의 경우 재배 5일까지 증가하다가 감소하는 경향이었으며, 처리군의 경우에는 재배일수에 비례적으로 증가하는 것으로 나타났다. 재배 3일째부터 급격히 증가하는 경향이였다. 전반적으로 무처리군에 비하여 처리군의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율이 높게 나타났으며, 특히 처리군의 경우 재배 0일 시료, 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료, 재배 7일 시료 순으로 각각 약 31.6%, 34.9%, 66.7%, 73.7% 및 75.1% 의 활성저해율을 나타내었으며, 재배 3일째부터 급격히 증가하는 경향을 나타내어  $\alpha$ -amylase 저해활성과 유사한 결과를 나타내었다. 처리군 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율은 처리군 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 42% 와 43%, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 각각 약 20% 와 21% 높게 나타났다.

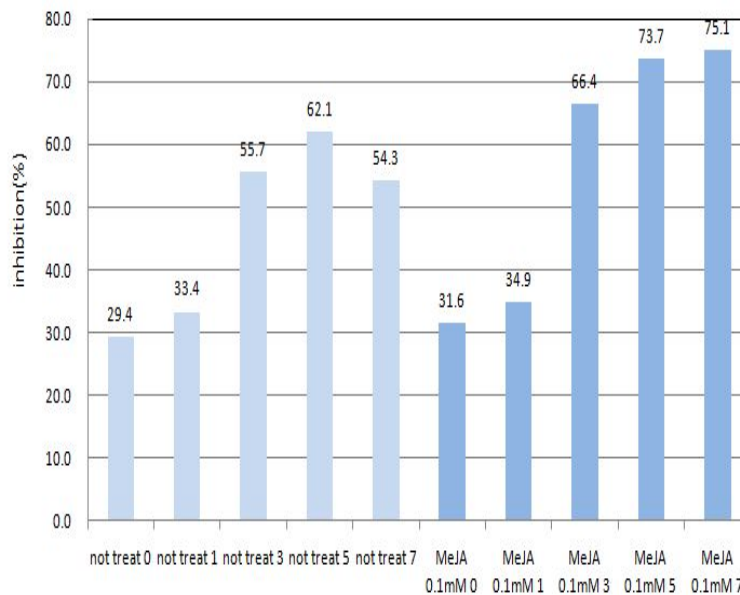


Fig. 142. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with MeJA against  $\alpha$ -glucosidase.

(라) ACE 활성 저해율

추출물의 ACE 활성저해율은 **Fig. 143** 에서와 같이 재배 3일째까지는 무처리군과 처리군 모두 별다른 차이를 보이지 않았으나, 재배 5일 째부터 무처리군에 비하여 처리군의 ACE 활성저해율이 급격하게 증가하는 것으로 나타났다. 무처리군과 처리군 모두 재배일수에 비례적으로 증가하는 경향이었으며, 특히 처리군의 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의 경우 각각 약 71.6% 와 77.8% 의 ACE 활성저해율을 나타내어 처리군 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 42.3% 와 48.5%, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 각각 약 19.6% 와 25.8% 높은 수준의 ACE 활성저해 효과를 나타내었다.

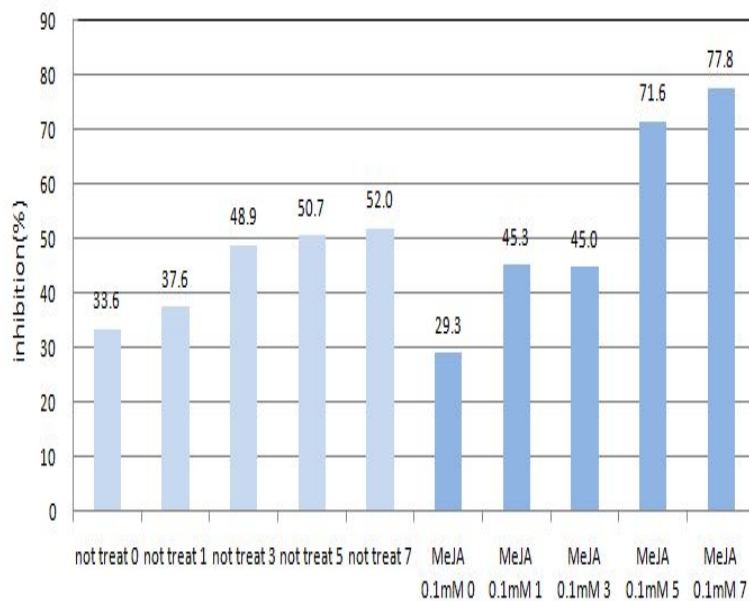


Fig. 143. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with MeJA against ACE.

(마) 담즙산흡수지연경향

48시간동안의 담즙산흡수지연 경향은 **Fig. 144** 과 **145** 에서와 같이 반응이 진행되는 동안 무처리군의 경우 재배 0일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 다소 낮은 경향을 보였으며, 처리군의 경우에는 재배 0일 시료와 재배 1일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 24시간 이후부터 유의하게 낮은 경향을 나타내었다. 처리군 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의 48시간 후의 담즙산흡수지연 효과는 각각 약 0.49 mM 와 0.50 mM 로 대조시료 약 0.68 mM, 재배 0일 시료 약 0.70 mM, 무처리군 재배 7일 시료 약 0.64 mM 에 비하여 약 0.2 mM 정도 낮은 결과를 보였다. 한편 48 시간 후의 담즙산 흡수 지연율은 **Fig. 146** 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 재배 5일째부터 급격하게 높은 경향을 보였으며, 재배 5일 시료와 재배 7일 시료의

담즙산흡수지연율은 각각 약 29% 와 27% 로 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 29% 와 27%, 무처리군 재배 5일 시료에 비하여 각각 약 14% 와 12% 높은 수준을 유지하였다.

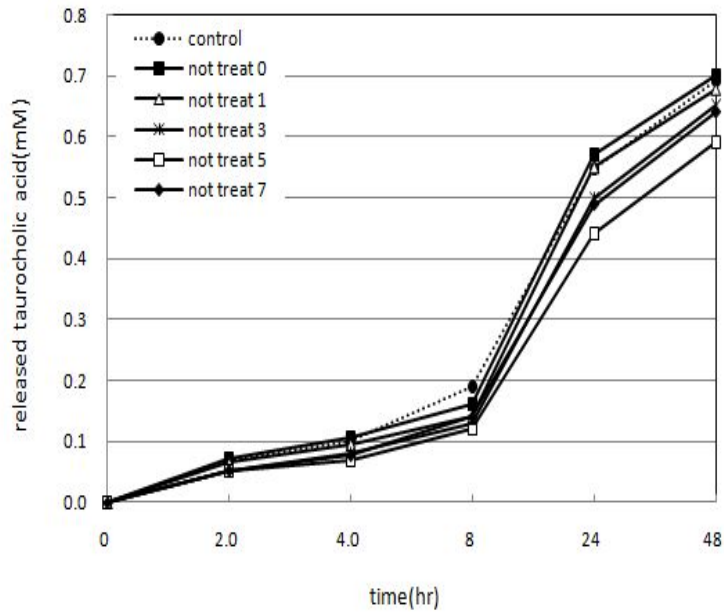


Fig. 144. Retarding effect of buckwheat sprouts on taurocholic acid movement.

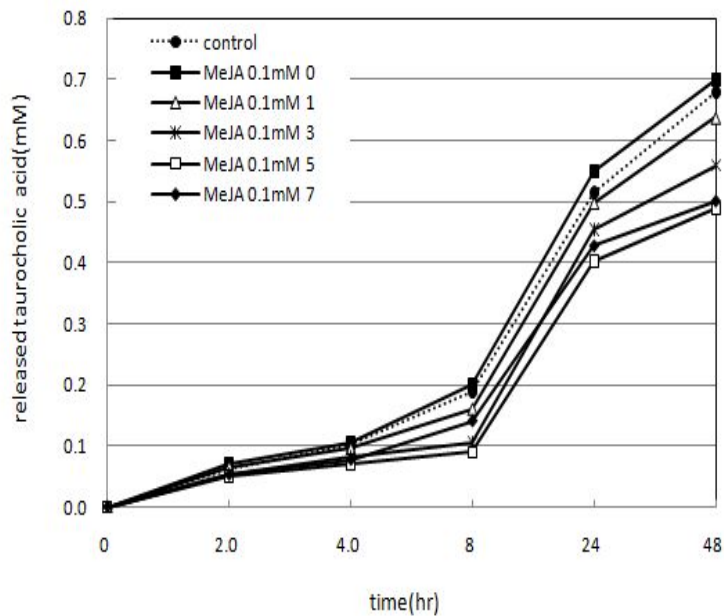


Fig. 145. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with MeJA on bile acid movement.



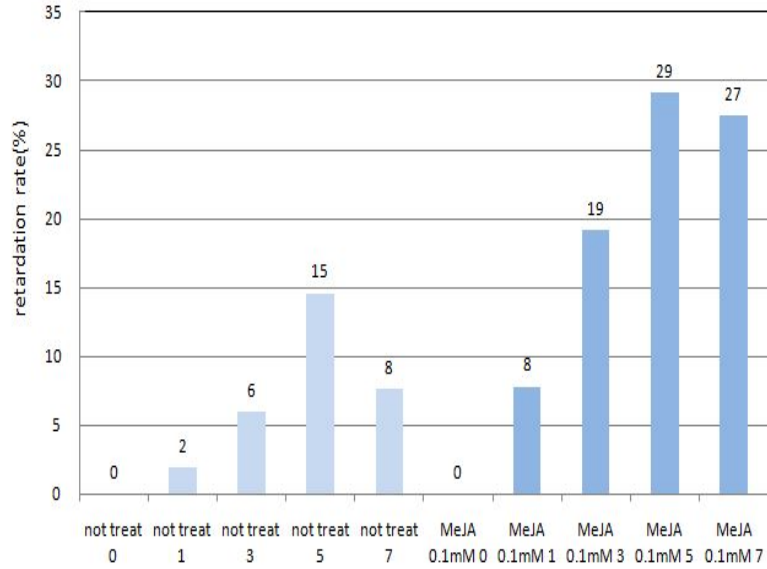


Fig. 146. Taurocholic acid retardation rates of buckwheat sprouts treated with and without MeJA.

(2) 키토산 처리 메밀싹기름채소 기능소재의 재배일수에 따른 *in vitro* 효능 평가

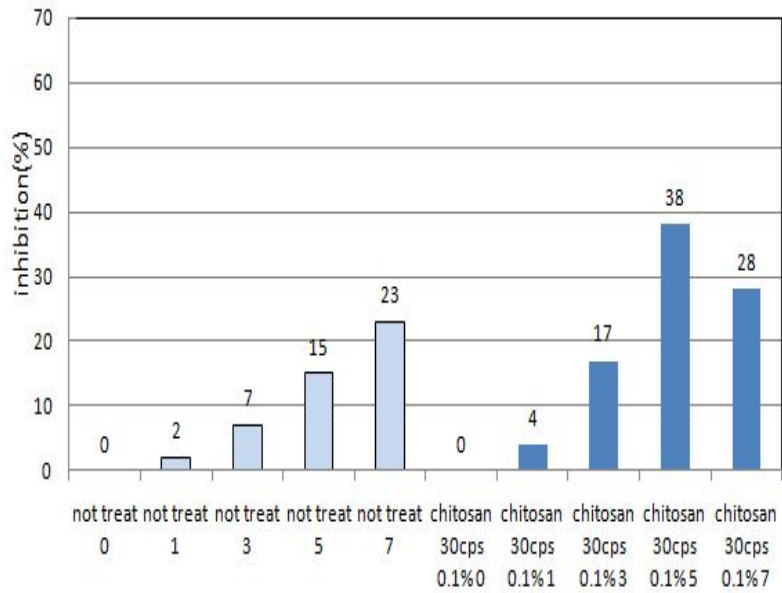


Fig. 147. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with chitosan against  $\alpha$ -amylase.

(가)  $\alpha$ -Amylase 활성저해율

$\alpha$ -Amylase 활성저해율은 Fig. 147 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 전반적으로 다소 높은 것으로 나타났으며, 처리군의 경우 재배 5일 쯤까지 증가하다가 7일째에 감소하는 경향을 보였다. 처리군의  $\alpha$ -amylase 활성 저해율은 재배 1일 시료 약 4%, 재배 3일 시료 약 17%, 재배 5일 시료 약 38%, 재배 7일 시료 약 28%로 재배 5일 시료가 가장 효과적으로 저해하는 결과를 보였다.

(나) 전분가수분해율

2시간동안의 전분가수분해율은 Fig. 148, 149 에서와 같이 무처리군의 경우 반응이 진행되는 동안 대조시료와 별다른 차이를 나타내지 않았으며, 처리군의 경우 대조시료에 비하여 다소 낮은 것으로 나타났지만 유의한 수준은 아니었다. 재배 7일 시료의 경우 2시간 후의 전분가수분해 저해효과는 0.1 mM Methyl Jasmonate 처리시료와 마찬가지로 대조시료의 35.3 mg/mL에 비하여 31.0 mg/mL로 4.3 mg/mL 정도 낮은 것으로 나타났다. 한편 2시간동안의 전체적인 전분가수분해 정도를 나타내는 전분가수분해지수는 Fig. 150 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 전반적으로 낮은 경향을 보였으며, 처리군 재배 7일 시료의 전분가수분해지수는 84로 재배 0일 시료, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 각각 10 정도 낮은 수준을 유지하였다.

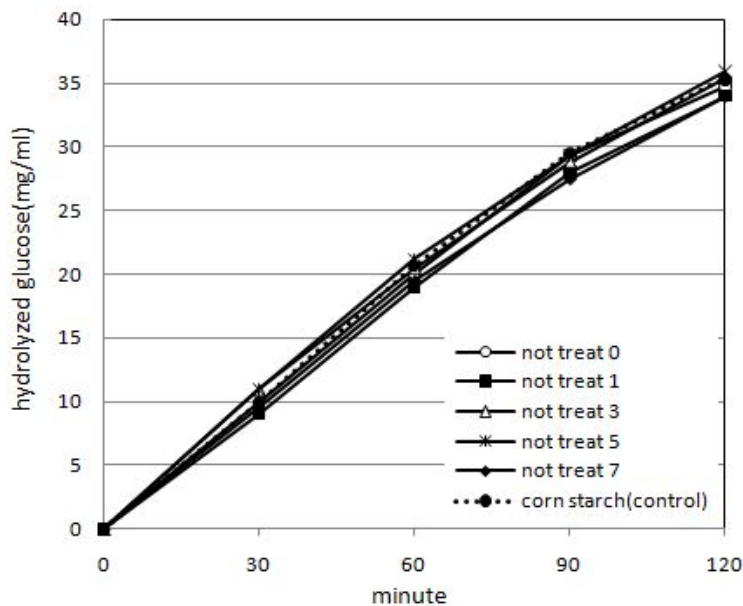


Fig. 148. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts for 120 min.

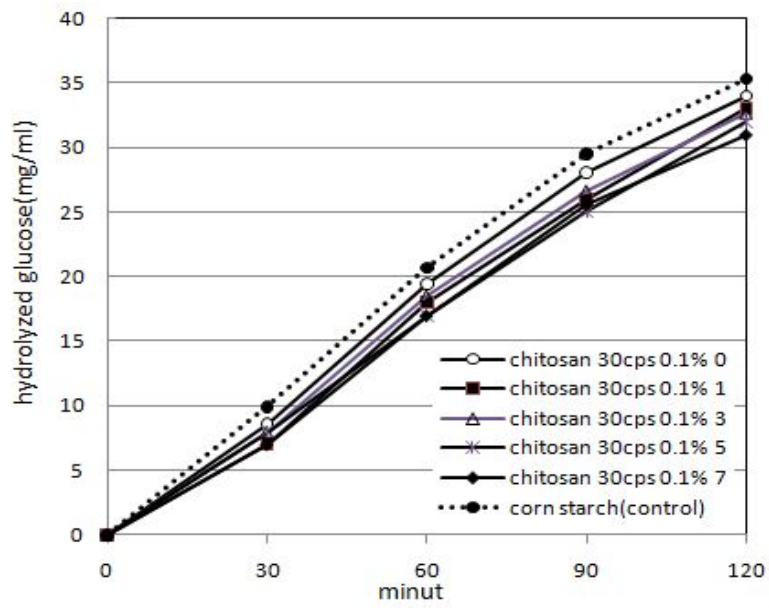


Fig. 149. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts treated with chitosan for 120 min.

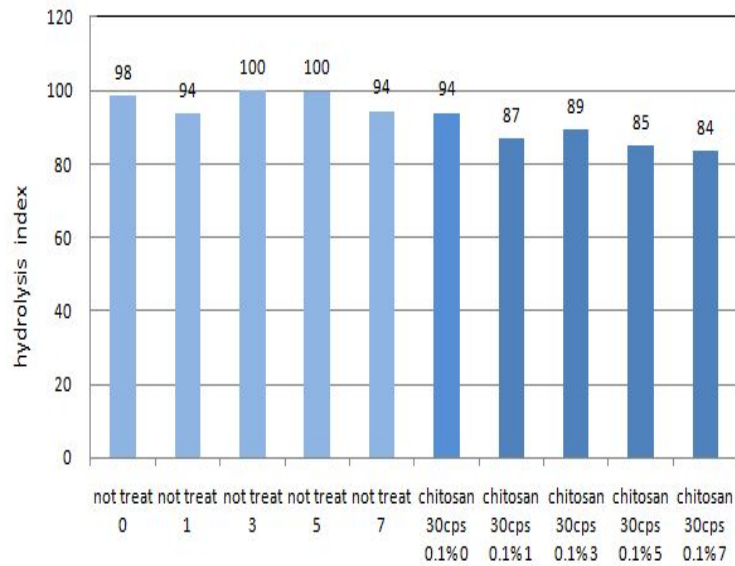


Fig. 150. Hydrolysis index for starch of buckwheat sprouts treated with chitosan.

(다)  $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율

$\alpha$ -Glucosidase 활성저해율은 Fig. 151 에서와 같이 무처리군과 처리군 모두 재배 5일까지는 증가하다가 재배 7일째에 감소하는 경향을 보였으며, 무처리군에 비하여 처리군의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율이 전반적으로 다소 낮은 것으로 나타났다.

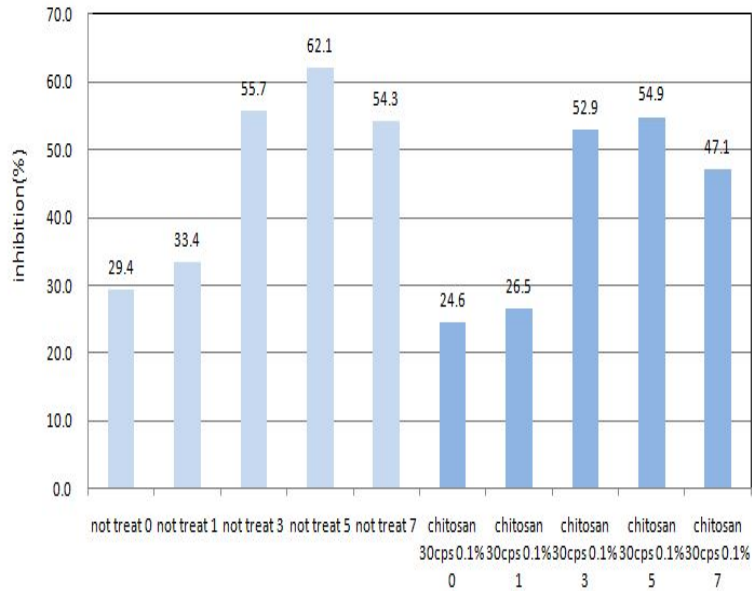


Fig. 151. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with chitosan against  $\alpha$ -glucosidase.

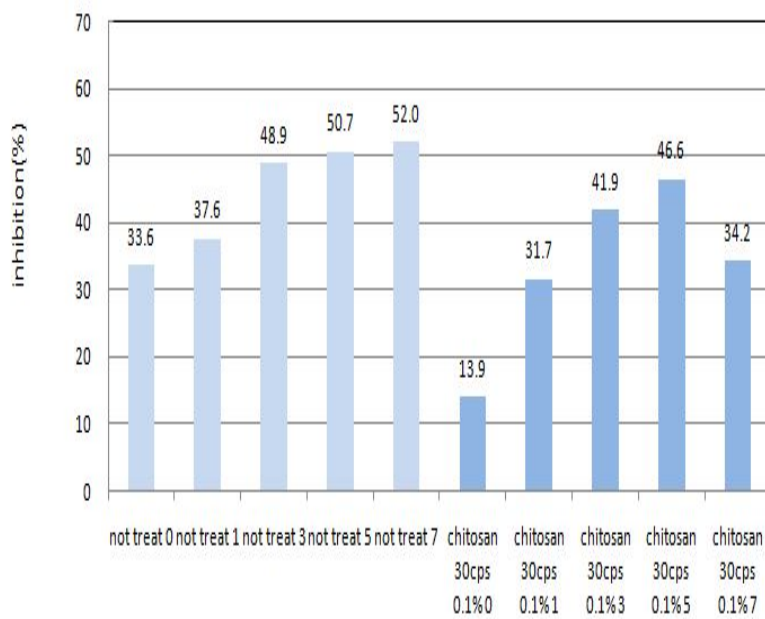


Fig. 152. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with chitosan against ACE.

(라) ACE 활성 저해율

ACE 활성 저해율은 Fig. 152 에서와 같이 무처리군의 경우 전반적으로 증가하는 경향이 있으며, 처리군의 경우 재배 5일째까지 증가하다가 7일째에 감소하는 경향을 나타내었다. 재배 일수에 따른 ACE 활성 저해율은 처리군에 비해 무처리군이 다소 높은 것으로 나타났다.

(마) 담즙산흡수지연경향

48시간동안의 담즙산흡수지연경향은 Fig. 153 과 154 에서와 같이 반응이 진행되는 동안 무처리군의 경우 재배 0일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 다소 낮은 경향을 보였으며, 처리군의 경우에는 재배 0일 시료와 재배 1일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 24시간 이후부터 다소 낮은 경향을 나타내었다. 처리군 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의 48시간 후의 담즙산 흡수 지연 효과는 각각 약 0.50 mM, 0.52 mM 로 대조시료 약 0.67 mM, 재배 0일 시료 약 0.62 mM, 무처리군 재배 7일 시료 약 0.64 mM 에 비하여 약 0.15 mM 정도 낮은 결과를 보였다. 한편 48 시간 후의 담즙산 흡수 지연율은 Fig. 155 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 재배 5일 쯤부터 높은 경향을 보였으며, 재배 5일 시료와 재배 7일 시료의 담즙산 흡수 지연율은 각각 약 27% 와 25% 로 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 16% 와 14%, 무처리군 재배 5일 시료에 비하여 각각 약 12% 와 10% 높은 결과를 나타내었다.

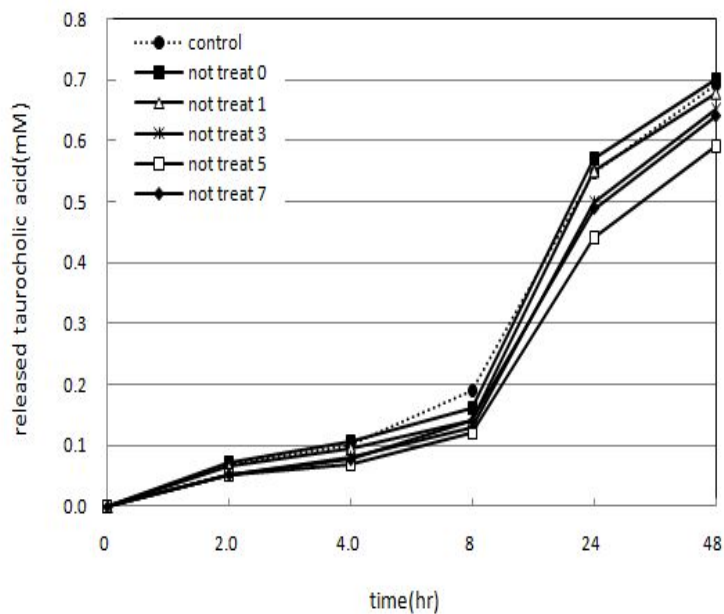


Fig. 153. Retarding effect of buckwheat sprouts on taurocholic acid movement.

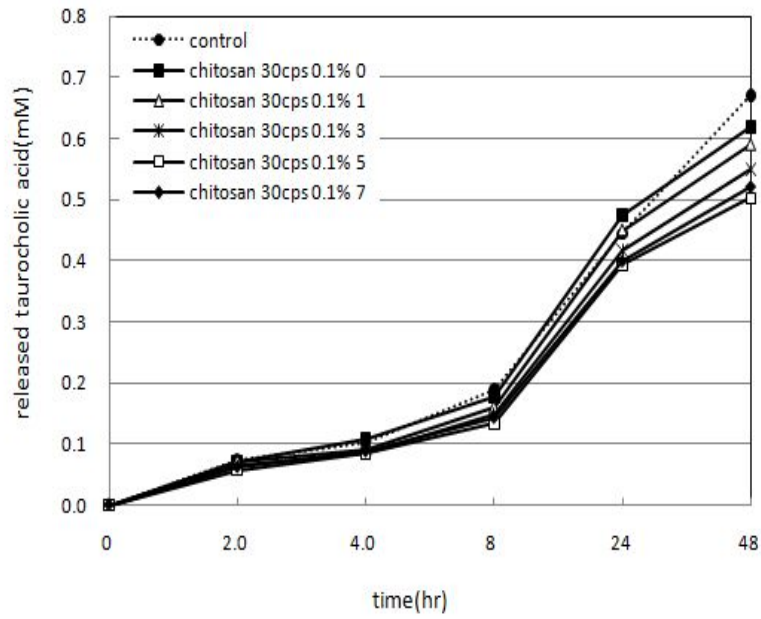


Fig. 154. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with MeJA on bile acid movement.

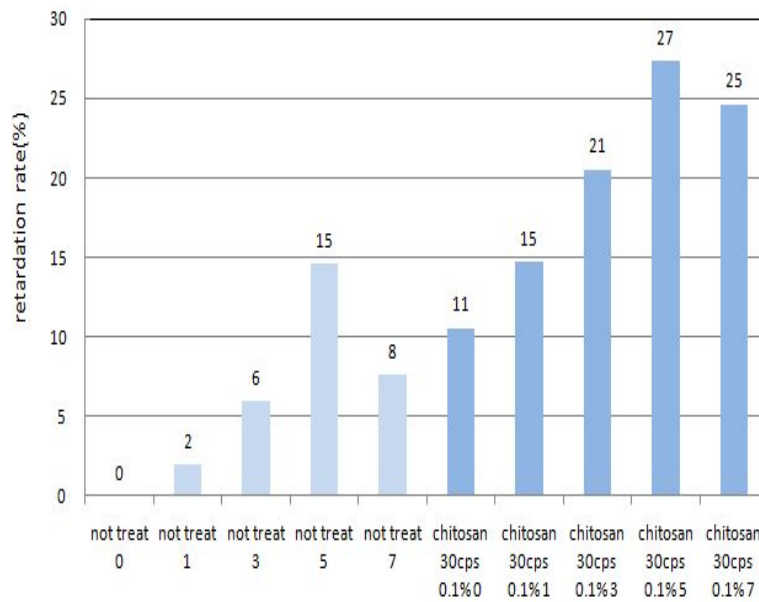


Fig. 155. Taurocholic acid retardation rates of buckwheat sprouts treated with and without chitosan.

(3) MSM 처리 메밀싹기름채소 기능소재의 재배일수에 따른 *in vitro* 효능 평가

(가) α-Amylase 활성저해율

α-Amylase 활성저해율은 Fig. 156 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 재배일수에 비례적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료, 재배 7일 시료 순으로 각각 약 8%, 29%, 40% 및 52% 의 α-amylase 활성저해율을 보였고, 재배 3일 쯤부터 증가하는 경향을 나타내었다. 처리군 재배 7일 시료의 α-amylase 활성저해율은 무처리군 재배 0일 시료에 비하여 약 44%, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 약 29% 높은 α-amylase 활성저해율을 나타내었다.

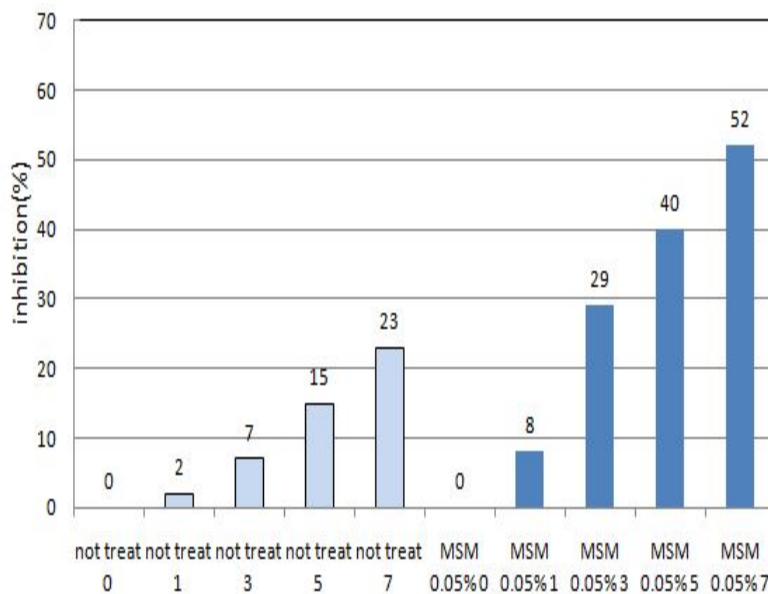


Fig. 156. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with MSM against α-amylase.

(나) 전분가수분해율

2시간동안의 전분가수분해율은 Fig. 157 과 158 에서와 같이 무처리군의 경우 반응이 진행되는 동안 대조시료와 별다른 차이를 나타내지 않았으며, 처리군의 경우 대조시료에 비하여 다소 낮은 것으로 나타났지만 유의한 수준은 아니었다. 재배 7일 시료의 경우 2시간 후의 전분가수분해 저해효과는 대조시료의 약 35.3 mg/mL 에 비하여 약 31.9 mg/mL 로 약 3.4 mg/mL 정도 낮은 것으로 나타났다. 한편 2시간동안의 전체적인 전분가수분해 정도를 나타내는 전분가수분해지수는 Fig. 159 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 전반적으로 낮은 경향을 보였으며, 처리군 재배 7일 시료의 전분가수분해지수는 약 84로 재배 0일 시료, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 각각 약 6과 10 낮은 결과를 나타내었다.

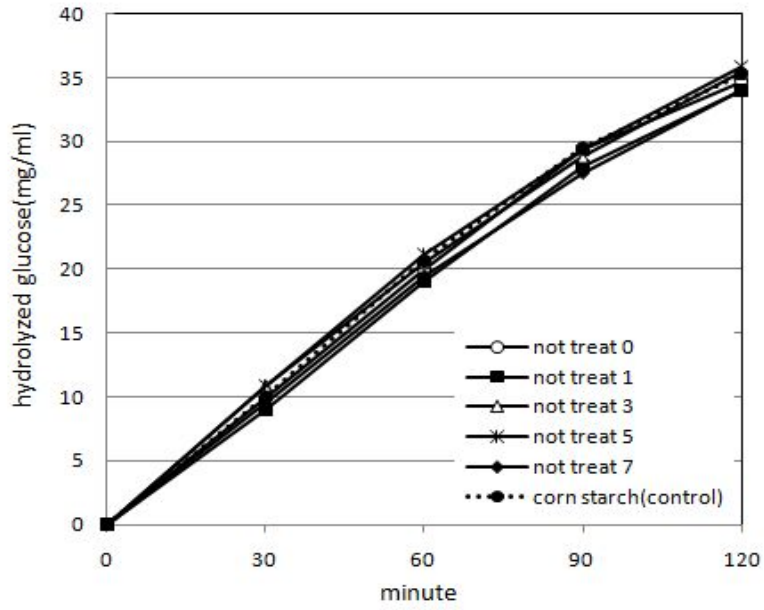


Fig. 157. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts for 120 min.

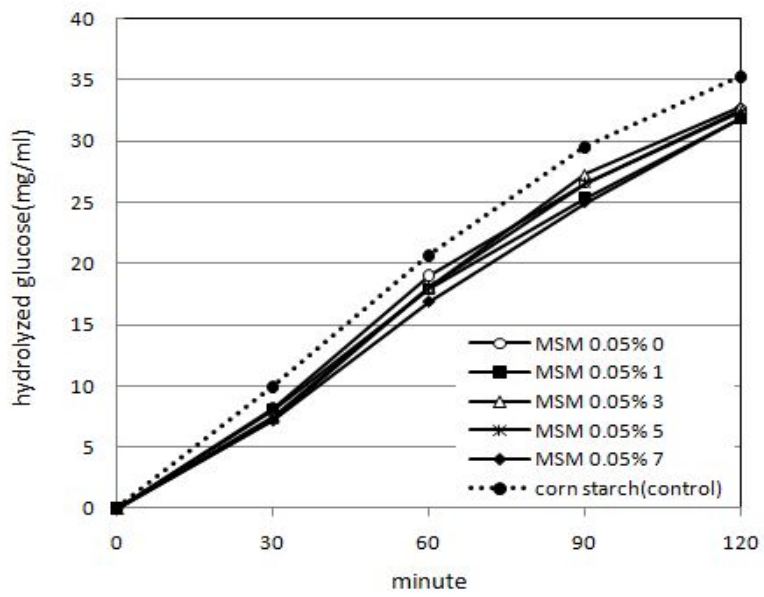


Fig. 158. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts treated with MSM for 120 m.



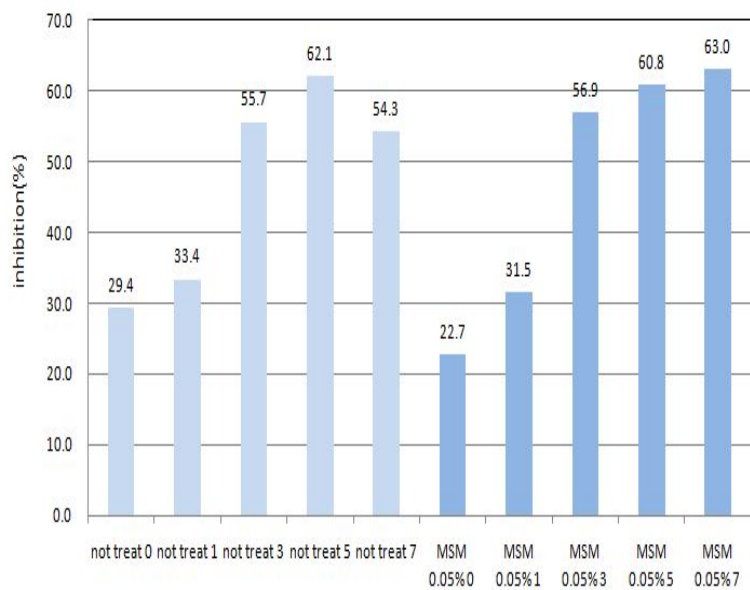


Fig. 159. Hydrolysis index for starch of buckwheat sprouts treated with MSM.

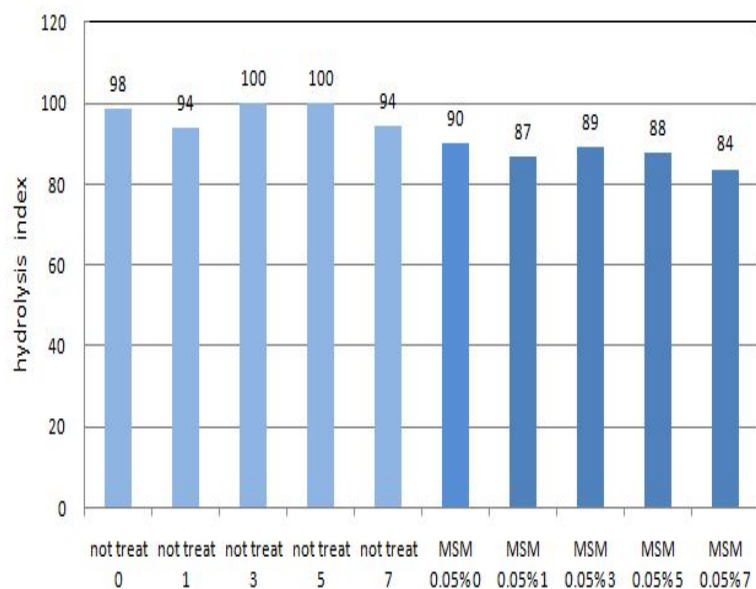


Fig. 160. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with MSM against  $\alpha$ -glucosidase.

(다)  $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율

$\alpha$ -Glucosidase 활성저해율은 Fig. 160 에서와 같이 무처리군의 경우 재배 5일까지 증가하다가 감소하는 경향이었으며, 처리군의 경우에는 재배일수에 비례적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 재배 3일째부터 급격히 증가하는 경향이였다. 전반적으로 무처리군에 비하여 처리군의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율이 높게 나타났으며, 특히 처리군의 경우 재배 0일 시료, 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료, 재배 7일 시료 순으로 각각 약 22.7%, 31.5%, 56.9%, 60.8% 및 63.0% 의 활성저해율을 나타내었으며, 재배 3일째부터 급격히 증가하는 경향을 나타내어 0.1 mM Methyl Jasmonate 처리시료의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성과 유사한 경향을 나타내었다. 처리군 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율은 처리군 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 38% 와 40%, 무처리군 재배 7일 시료에 비하여 각각 약 7% 와 9% 높게 나타났다.

(라) ACE 활성저해율

ACE 활성저해율은 Fig. 161 에 나타난 것과 같이 키토산 처리시료와 마찬가지로 재배 5 일째까지 증가하다가 7일째에 감소하는 경향을 나타내었다. 무처리군과 처리군 모두 재배 3일 째까지는 별다른 차이를 보이지 않았으나, 재배 5일째부터 무처리군에 비하여 처리군의 ACE 활성저해율이 증가하는 것으로 나타났다. 처리군의 재배 5일 시료, 재배 7일 시료의 경우 각각 약 63.8% 와 53.6% 의 ACE 활성저해율을 나타내어 처리군 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 33.8% 와 23.6% 높은 ACE 활성저해 효과를 나타내었다.

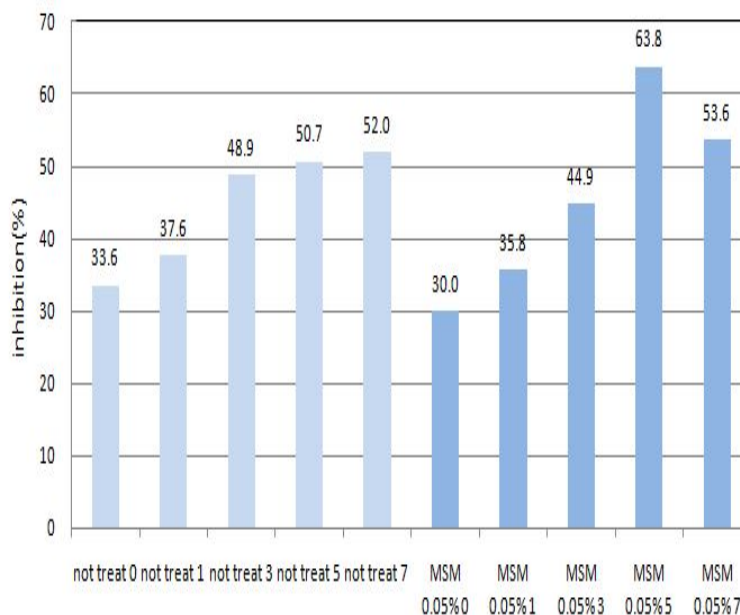


Fig. 161. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with chitosan against ACE.

(마) 담즙산흡수지연경향

48시간동안의 담즙산흡수지연경향은 Fig. 162, 163 에서와 같이 반응이 진행되는 동안 무처리군의 경우 재배 0일 시료를 제외하고는 대조시료에 비하여 다소 낮은 경향을 나타내었으며, 처리군의 경우에는 무처리군과 반응 경향은 유사하였으나 흡수지연 경향은 다소 낮은 것으로 나타났다. 한편 48시간 후의 담즙산흡수지연율은 Fig. 164 에서와 같이 처리군의 경우 무처리군에 비하여 재배 5일째부터 높은 경향을 보였으며, 재배 5일 시료와 재배 7일 시료의 담즙산흡수지연율은 각각 약 21% 와 18% 로 재배 0일 시료에 비하여 각각 약 18% 와 15%, 무처리군 재배 5일 시료에 비하여 각각 약 6% 와 3% 높은 것으로 나타났다.

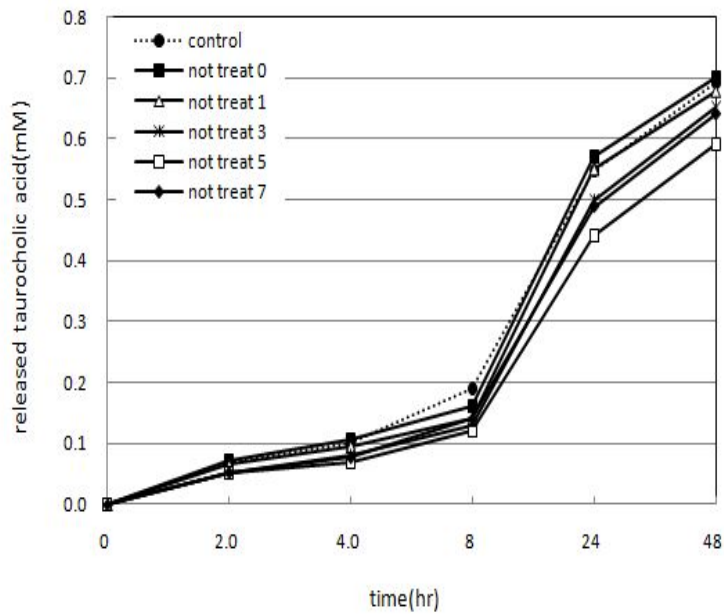


Fig. 162. Retarding effect of buckwheat sprouts on taurocholic acid movement.

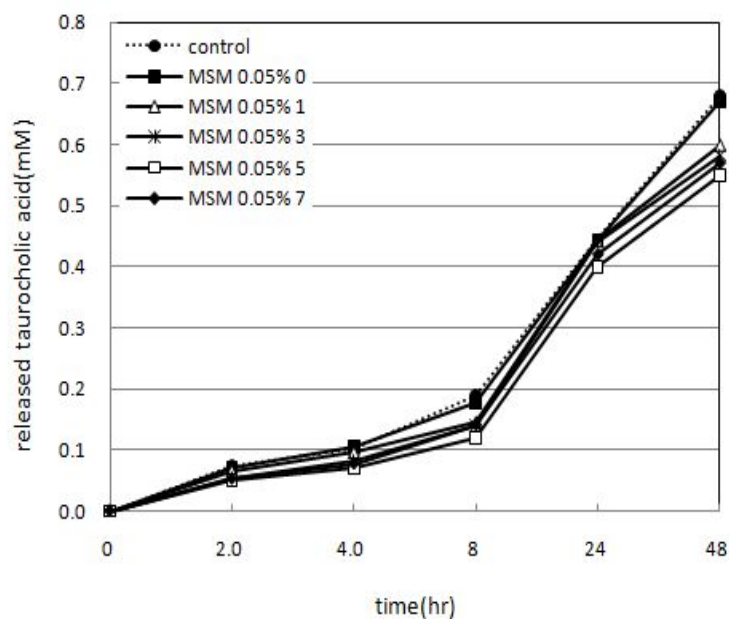


Fig. 163. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with MSM on bile acid movement.

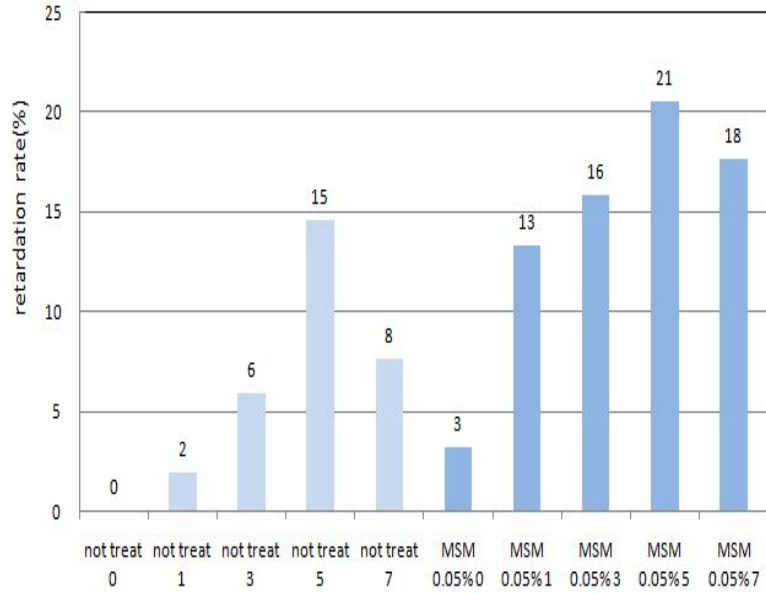


Fig. 164. Taurocholic acid retardation rates of buckwheat sprouts treated with and without MSM.

(4) 메밀싹기름채소 기능소재 3종의 재배일수에 따른 *in vitro* 효능 비교분석

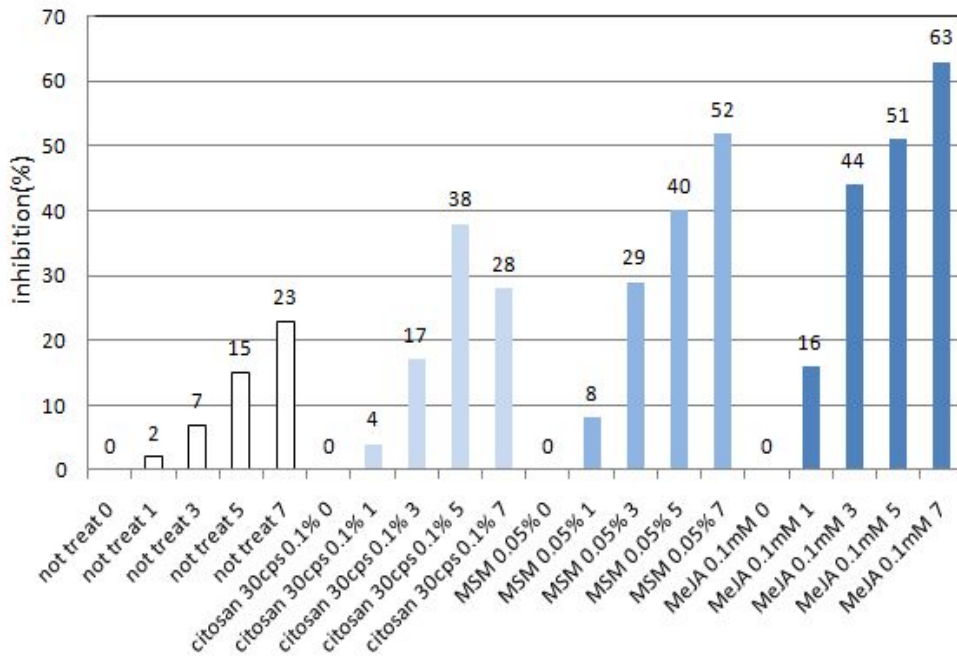


Fig. 165. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA against  $\alpha$ -amylase.

(가)  $\alpha$ -Amylase 활성저해율

$\alpha$ -Amylase 활성저해율은 Fig. 165 에서와 같이 MeJA 0.1 mM 처리군, MSM 0.05% 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, 무처리군 순으로 저해활성이 높은 것으로 평가되었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배 7일 시료가 약 63%의 저해활성으로 가장 효과적인 것으로 평가되었다.

(나) 전분가수분해율

2시간동안의 전분가수분해율은 Fig. 166 에서 보는바와 같이 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군이 무처리군과 비교하여 다소 낮은 것으로 나타났으며, 3종의 처리군은 재배일수와 무관하게 유사한 수준인 것으로 평가되었다. 반면 2시간동안의 전체적인 전분가수분해 정도를 나타내는 전분가수분해지수는 Fig. 167 에서와 같이 무처리군을 제외하고는 3종의 처리군 모두 재배일수에 따라 낮아지는 경향을 나타내었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배 7일 시료가 약 82로 보다 효과적인 것으로 평가되었다.

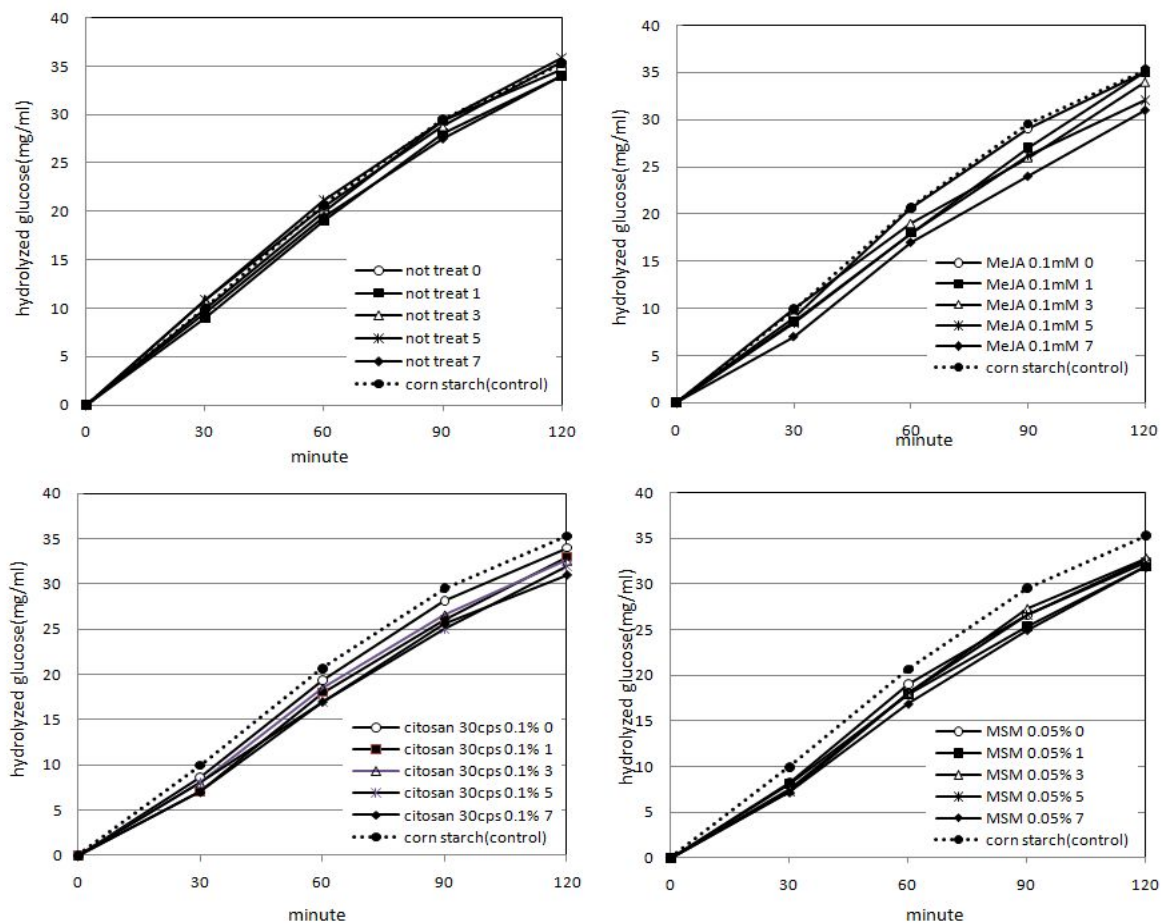


Fig. 166. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA for 120 min.

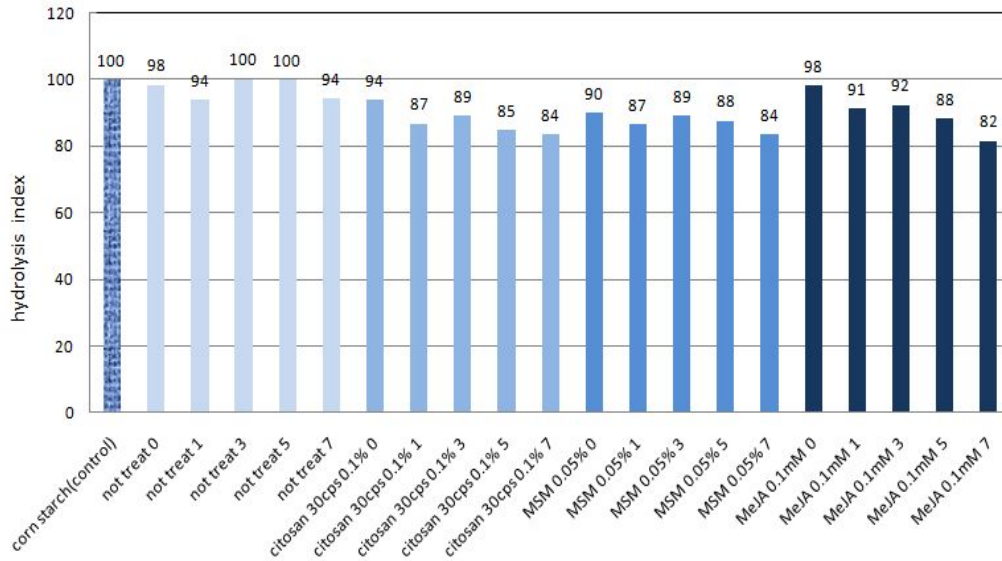


Fig. 167. Hydrolysis index for starch of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA.

(다)  $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율

$\alpha$ -Glucosidase 활성저해율은 Fig. 168 에서와 같이 MeJA 0.1 mM 처리군, MSM 0.05% 처리군, 무처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군 순으로 저해활성이 높은 것으로 평가되었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배 7일 시료의 경우 약 75.1% 로 가장 높은 저해활성을 나타내는 것으로 평가되었다.

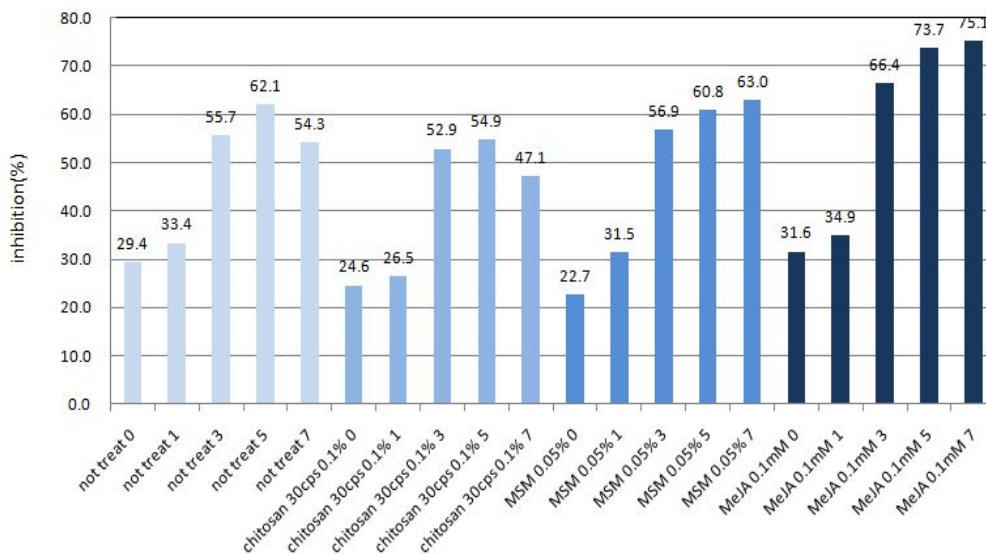


Fig. 168. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA against  $\alpha$ -glucosidase.

(라) ACE 활성저해율

ACE 활성저해율은 Fig. 169 에서 보는바와 같이 α-glucosidase 활성저해 패턴과 유사한 경향을 나타내어 MeJA 0.1 mM 처리군, MSM 0.05% 처리군, 무처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군 순으로 저해활성이 높은 것으로 평가되었으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배 7일 시료의 경우 약 77.8%로 가장 높은 ACE 활성을 저해하는 것으로 평가되었다.

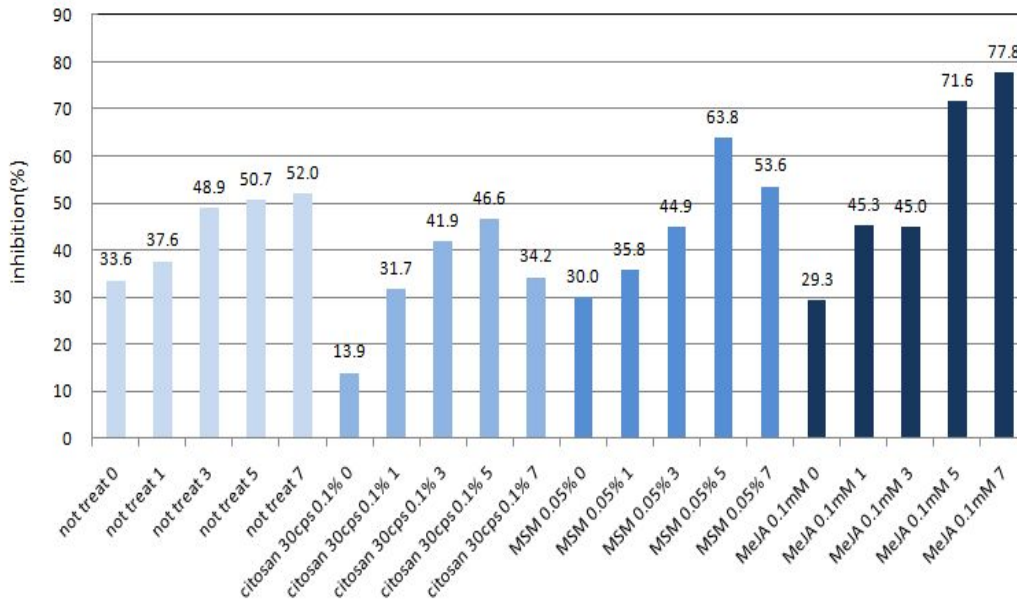


Fig. 169. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA against ACE.

(마) 담즙산흡수지연경향

48시간동안의 담즙산흡수지연 경향은 Fig. 170 에서 보는바와 같이 반응이 진행되는 동안 처리군과 무처리군 모두 큰 차이 없이 유사한 경향을 나타내다가 반응 48 시간 때에 MeJA 0.1 mM 처리군과 키토산 30 cps 0.1% 처리군이 MSM 0.05% 처리군과 무처리군에 비하여 흡수지연 경향이 다소 높은 것으로 나타났으며, 특히 MeJA 0.1 mM 처리군과 키토산 30 cps 0.1% 처리군의 재배 5일 시료와 재배 7일 시료가 흡수지연 효과가 큰 것으로 평가되었다. 한편 48시간 후의 담즙산흡수지연율은 Fig. 171 에서와 같이 3 종의 처리군과 무처리군 모두에서 재배 5일 쯤까지 증가하다가 7일 쯤에 낮아지는 경향을 나타내었으며, MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군, 무처리군 순으로 높은 경향인 것으로 평가되었다. 특히 MeJA 0.1 mM 처리군의 재배 5일 시료와 재배 7일 시료, 30 cps 0.1% 처리군의 재배 5일 시료가 각각 약 29%, 27% 및 27% 로 담즙산흡수지연효과가 큰 것으로 평가되었다.

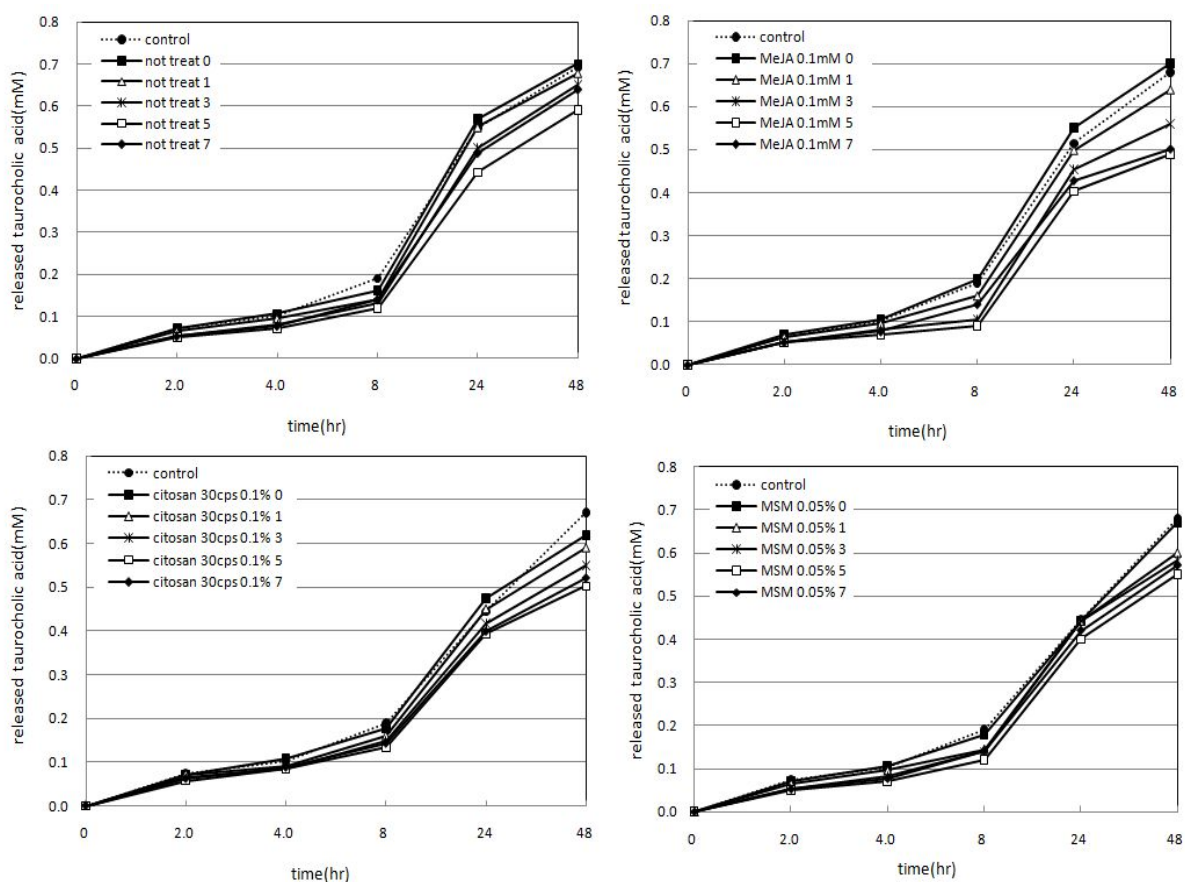


Fig. 170. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA on bile acid movement.

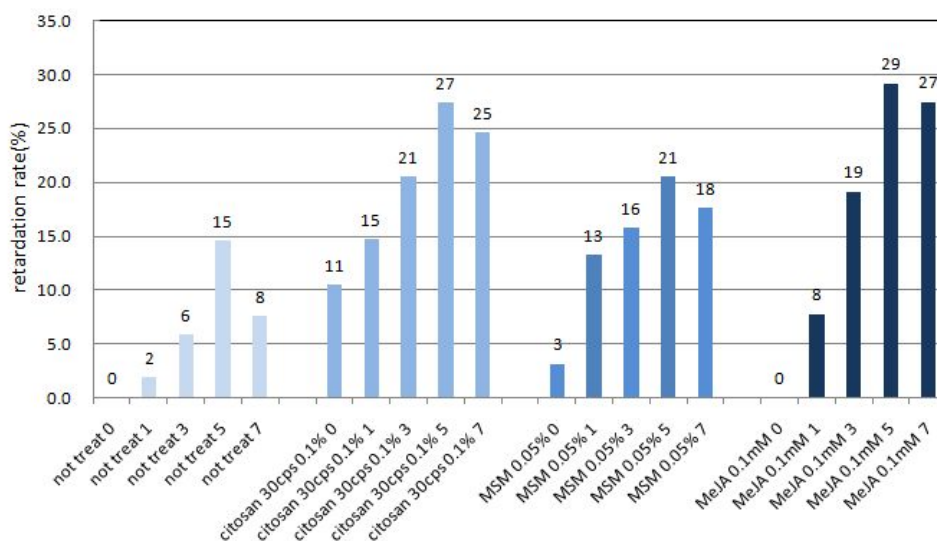


Fig. 171. Taurocholic acid retardation rates of buckwheat sprouts treated with and without chitosan, MSM or MeJA.



(바) 결론 및 요약

적정 elicitor 처리결과 유효시료로 평가된 MeJA 0.1 mM 처리군, 키토산 30 cps 0.1% 처리군, MSM 0.05% 처리군 3종의 기능소재 재배일수에 따른 *in vitro*  $\alpha$ -amylase 저해활성, 전분가수분해 저해특성, 전분가수분해지수,  $\alpha$ -glucosidase 저해활성, ACE 저해활성 및 담즙산 흡수지연 특성을 비교분석한 결과 0.1mM Methyl Jasmonate 처리군의 재배 7일 시료가 효능이 뛰어난 최적 소재로 판단된다.

나. 병행 elicitor 처리에 따른 메밀싹기름채소의 *In vitro* 효능 평가

(1) 재료

메밀싹기름채소에 대한 유효성분 및 *in vitro* 실험 결과 0.1 mM MeJA 로 처리한 메밀싹 기름채소가 chitosan 이나 MSM 처리구보다 *in vitro*  $\alpha$ -amylase 활성저해율, 전분가수분해율, HI (전분가수분해지수),  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율, ACE 활성저해율 및 담즙산흡수지연율이 높게 나타난 바 있다. 따라서 메밀싹기름채소의 기능성을 높이기 위해 메밀싹 재배 시 0.1 mM MeJA 처리에 병행처리로 1일 4시간동안 가시광선을 처리한 메밀싹 (MeJA + Light: ML) 과 여기에 10 mM NaCl 을 추가로 처리한 메밀싹 (MeJA + NaCl + Light: MNL) 을 재배하여 발아 후 1일, 3일 및 5일에 시료로 채취한 것을 이용하였다.

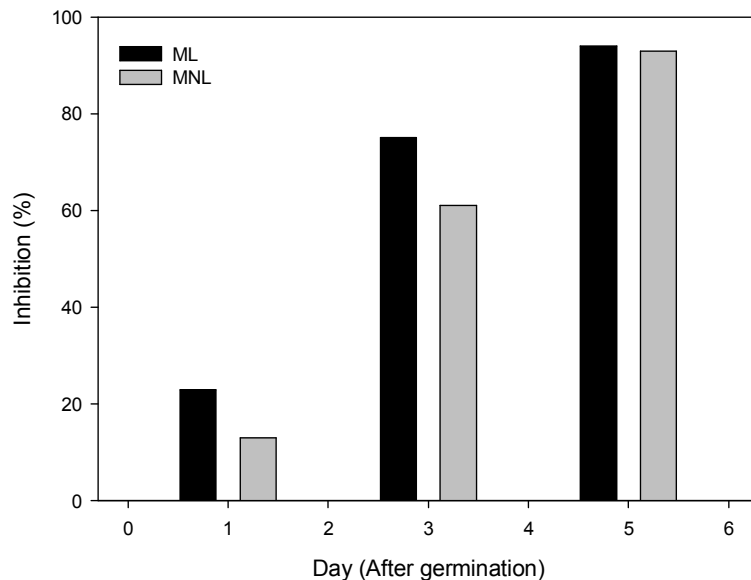


Fig. 172. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with ML and MNL against  $\alpha$ -amylase.

Treatment: ML: 0.1 mM MeJA, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

### (2) $\alpha$ -Amylase 활성저해율

처리를 달리한 메밀싹의  $\alpha$ -amylase 활성저해율은 Fig. 172 에서와 같이 두 가지 시료에서 모두 재배일수 증가에 따라 증가하였다. MeJA+Light (ML) 군의  $\alpha$ -amylase 활성저해율이 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군 보다 높아 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료 순으로 각각 약 23%, 75% 및 94%였다. 이는 같은 재배일수의 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군과 비교해 각각 약 77%, 23% 및 1% 높은 결과였다.

### (3) 전분가수분해율

처리를 달리한 메밀싹의 2시간 동안의 전분가수분해율은 Fig. 173 과 174 에서 나타내었다. MeJA+NaCl+Light (MNL) 군은 옥수수전분 대조군보다 약 5% 정도 낮은 값을 나타내었다. 메밀싹기름채소의 수확기간에 따른 처리구에서도 발아 1일 후에 비하여 3일과 5일에서 낮아지는 경향을 나타내었으나, 그 차이는 거의 나타나지 않았다. MeJA+Light (ML) 군에서도 옥수수전분 대조군에 비하여 발아 후 5일에서 약 15% 정도 낮은 값을 나타내었다. 수확기간에 따른 처리구별 차이는 뚜렷하지 않았지만, 발아 후 5일에서 가장 우수한 것으로 나타난 반면, 7일에서는 효과가 저하되는 것으로 나타났다. 전반적으로 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군에 비하여 MeJA+Light (ML) 군이 더 우수한 경향을 나타내었으나 그 값은 거의 유사한 것으로 나타났다.

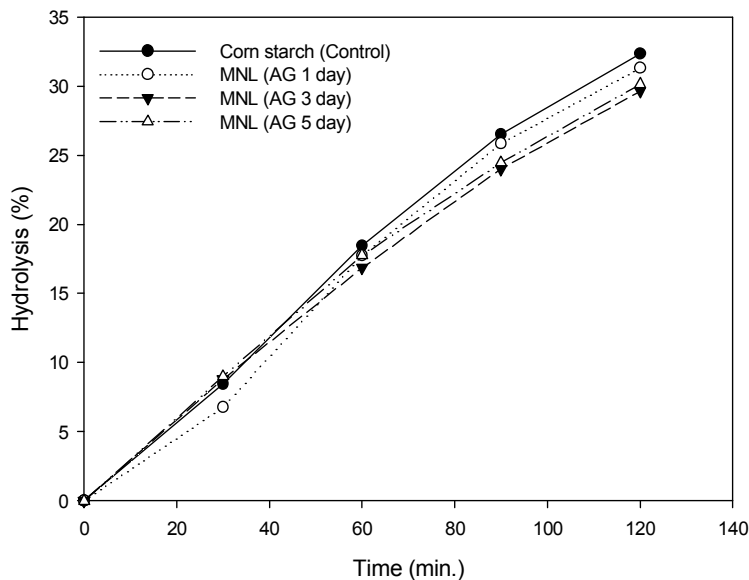


Fig. 173. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts treated with MNL for 120 min. Treatment: MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

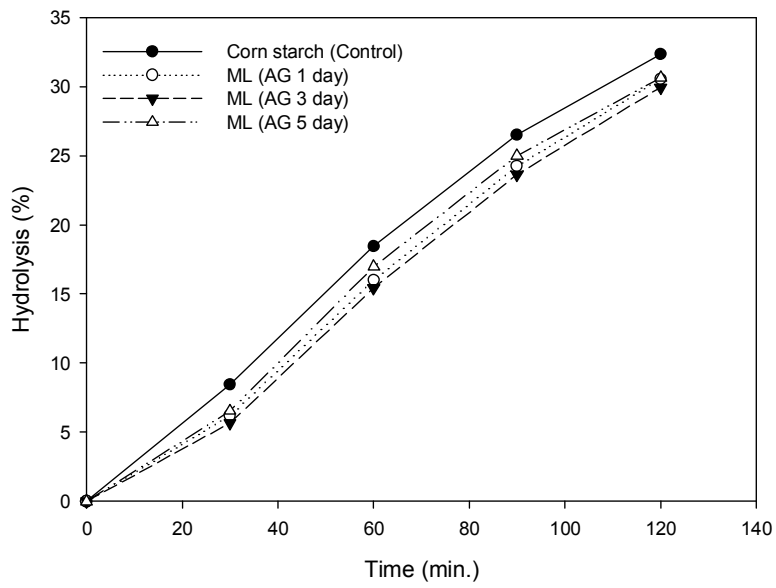


Fig. 174. *In vitro* rate of starch hydrolysis of buckwheat sprouts treated with ML for 120 min.  
Treatment: ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr

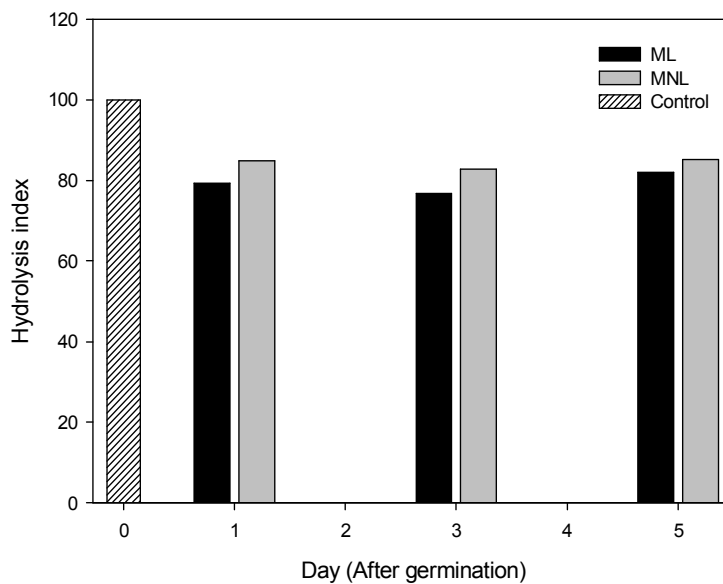


Fig. 175. Hydrolysis index for starch of buckwheat sprouts treated with ML and MNL.  
ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

#### (4) 전분가수분해지수

전분가수분해율을 직선식 아래 총면적을 구해 대조군의 면적과 비교한 전분가수분해지수 (hydrolysis index) 결과는 Fig. 175 와 같다. 옥수수전분인 대조군이 100일 때 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군 1일, 3일 및 5일은 각각 약 85, 83 및 83이였고 MeJA+Light (ML) 군 1일, 3일 및 5일은 각각 약 79, 77 및 82로 MeJA+Light (ML) 군 시료들이 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군의 시료들보다 약간 낮게 나타났으나 큰 차이는 아니었다. 이러한 결과는 elicitor 단독 처리구인 MeJA로 처리한 메밀싹 1일, 3일 및 5일 시료의 전분가수분해지수는 각각 약 91, 92 및 98로 MeJA+Light (ML) 군과 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군이 다소 낮아진 결과였다.

#### (5) $\alpha$ -Glucosidase 활성저해율

처리를 달리한 메밀싹의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율은 Fig. 176 과 같이 두 가지 시료에서 모두 재배일수 증가에 따라 증가하였다. MeJA+Light (ML) 군의  $\alpha$ -glucosidase 활성저해율이 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군 보다 높아 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료 순으로 각각 약 14%, 28% 및 56% 였다. 이는 같은 재배일수의 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군과 비교해 각각 약 40%, 47% 및 6% 높은 결과였다.

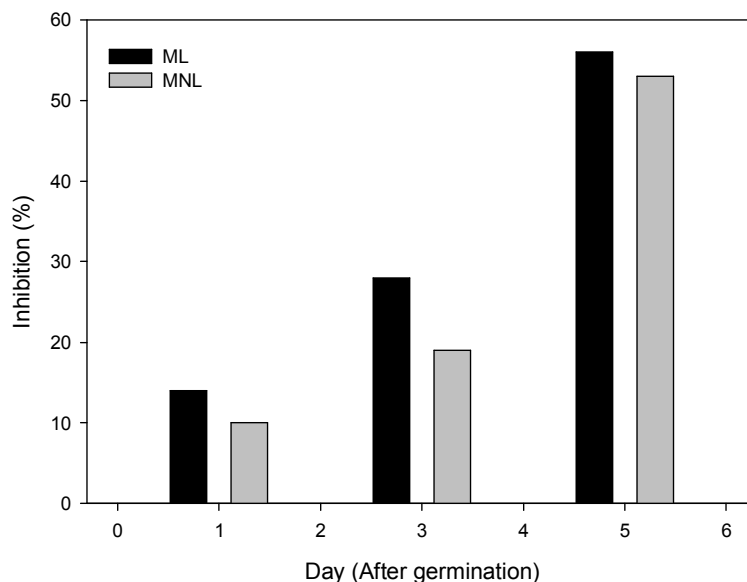


Fig. 176. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with ML and MNL against  $\alpha$ -glucosidase.

Treatment: ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

(6) ACE 활성저해율

처리 방법을 달리한 메밀싹 추출물의 ACE 활성저해율은 Fig. 177 에서와 같이 두 가지 시료에서 모두 재배일수 증가에 따라 증가하였다. MeJA+Light (ML) 군의 ACE 활성저해율이 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군 보다 높아 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료 순으로 각각 약 34, 48 및 72%였다. 이는 같은 재배일수의 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군과 비교해 각각 약 31, 30 및 41% 높은 결과였다. 이러한 결과는 elicitor 단독처리구인 MeJA 로 처리한 메밀싹 1, 3 및 5일 시료가 각각 45, 45, 72로 MeJA+Light (ML) 군과는 비슷한 결과이나 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군의 경우 MeJA 로 처리한 메밀싹보다도 약간 낮아진 경향을 보였다. MeJA+Light (ML) 군의 ACE 활성저해율이 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군 보다 높아 재배 1일 시료, 재배 3일 시료, 재배 5일 시료 순으로 각각 약 11%, 20% 및 22% 였다. 이는 같은 재배일수의 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군과 비교해 각각 약 83%, 43% 및 38% 높은 결과였다. Elicitor 단독 처리구인 MeJA 로 처리한 메밀싹 1일, 3일 및 5일 시료와 비교해 볼 때 MeJA+Light (ML) 군과는 비슷한 결과이나 MeJA+NaCl+Light (MNL) 군의 경우 MeJA 로 처리한 메밀싹기름채소보다도 약간 낮아진 경향을 보였다.

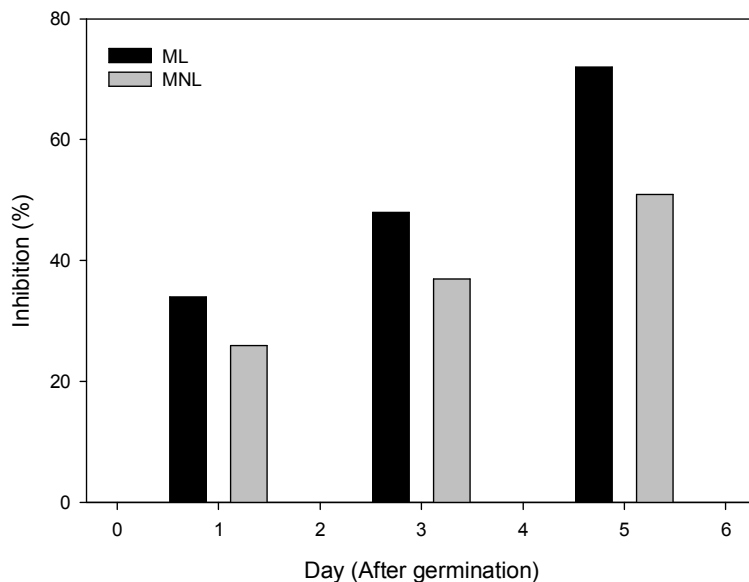


Fig. 44. Inhibitory effect of buckwheat sprouts treated with ML and MNL against ACE.

Treatment: ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

(7) 담즙산흡수지연 효과

처리방법을 달리한 메밀싹의 48시간 담즙산흡수지연효과는 Fig. 178, 179 와 같이 재배일 수 증가에 따라 증가하였으며 담즙산흡수지연효과는 2, 4 및 8시간보다 24 및 48시간에 더 큰 것으로 나타났다. MeJA+Light(ML)군의 담즙산흡수지연효과는 MeJA+NaCl+Light (MNL)군 보다 더 크게 나타났으며 시료들 간의 담즙산흡수지연효과를 비교하기 위해 48시간 값을 대조 구와 비교값은 Fig. 180 과 같이 두 가지 시료에서 모두 재배일수 증가에 따라 증가하였다.

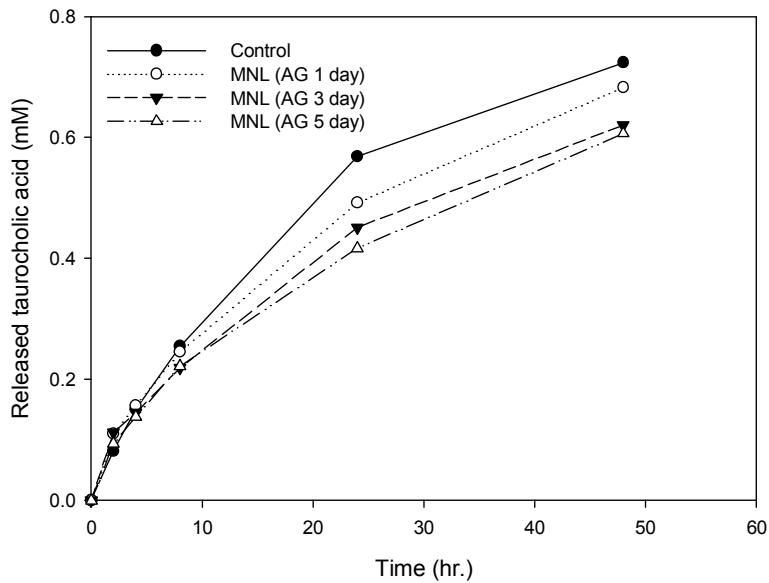


Fig. 178. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with MNL on bile acid movement. Treatment: MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

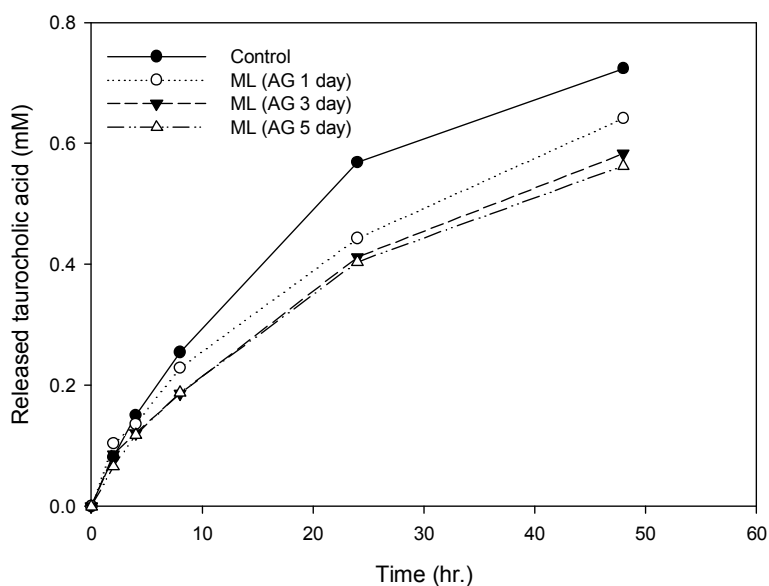


Fig. 179. Retarding effect of buckwheat sprouts treated with ML on bile acid movement. Treatment: ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr.

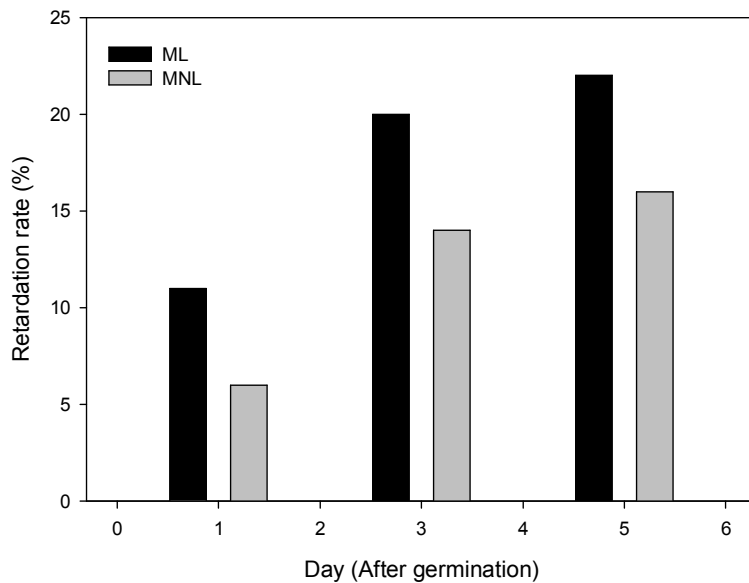


Fig. 180. Taurocholic acid retardation rates of buckwheat sprouts treated with ML and MNL.

Treatment: ML: 0.1 mM MeJA+Light 4 hr, MNL: 0.1 mM MeJA+10 mM NaCl+Light 4 hr.

### 3. 메밀씨 기름채소의 RAW 264.7 cell에 의한 항염증효과 조사

#### 가. 재료

본 실험에 메밀은 봉평에서 2008년에 재배된 종자를 구입하여 새싹채배기 (Mikrofarm, EasyGreen Co., MA, USA) 를 이용하여 1일 4회 (15분간) 분주하도록 설정한 후 7일간 일정 온도에서 성장시켰다. 성장 중 abiotic 처리로서 MeJA 를 0.1 mM 농도로 1일 1회 100 mL 씩 첨가적으로 분주하였다. 메밀새싹은 뿌리부분을 제외한 줄기이상의 부분을 절단한 후  $-70^{\circ}\text{C}$  의 온도에서 동결한 후 동결건조기를 이용하여 건조하고 blender (KA-2600, Kaiser, Korea) 로 분쇄한 후 60mesh ( $850\mu\text{m}^2$ ) 표준망에 통과시켜 추출 시료로 사용하였다.

#### 나. 결과 및 고찰

○ 메밀씨 기름채소의 항염증 효과를 확인하기 위해서 메밀씨 기름채소 추출물을 농도별 (10, 50, 100 및 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 로 처리하여 NO 의 생성 억제능을 확인하였으며 이때 이들 추출물의 세포독성에 대해서도 확인하였다. 대식세포는 생체 내에서 감염, 염증 등의 자극에 의하여 L-arginine을 nitric oxide synthase (NOS) 에 의해 대사하여 NO 를 생성하여 종양세포를 죽이거나 미생물에 의한 감염을 방어하여 생체를 지키는 중요한 역할을 하고 있다. NO 는 혈관

확장, 신경전달, 혈소판응집억제, 염증반응에 매개 등 매우 다양한 기능을 갖고 있으며, 또한 체내로 침입한 미생물 및 암세포에 대한 직접적인 살상기능을 갖고 있는 것으로도 알려져 있다. 반면 NO 는 NOS 의 효소 촉매작용을 통해 생성되는 자유라디칼로 혈압조절과 신경전달 매개체로 면역반응에 중추적 역할을 하지만, 지속적 과발현은 오히려 점막손상을 촉진하고, 그 결과 일부에서는 암 발생 등의 질환을 유도한다. 이처럼 염증과 암 사이의 연관성은 150년 전 부터 알려져 왔으며, 1863년 Virchow 는 만성염증이 발생한 부위에서 암이 발생하는 경향성이 높다고 보고하였다.

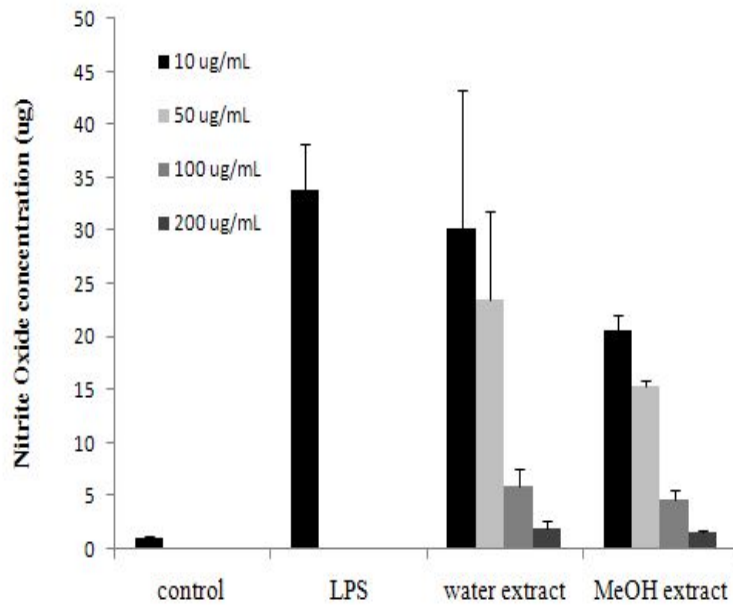


Fig. 181. Effect of buckwheat sprout extracts on nitriate oxide induced by LPS treatment.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

○ 활성산소 중 하나이며, 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO 생성에 각 추출물이 LPS 에 의해 활성화된 RAW 264.7 cell 로부터 NO 생성 억제작용과 cell viability 을 실험한 결과 Fig. 181 에서 보는 바와 같이 두 종류의 메밀싹기름채소 추출물에서 농도 의 존적으로 NO 생성을 억제시켜 200  $\mu$ g/mL 의 농도에서는 약 85% 이상 저해활성을 나타내었다. 저농도 (10~50  $\mu$ g/mL) 에서 물추출물보다는 MeOH 추출물이 더 효과가 있는 것으로 확인되었으나, 고농도에서는 유사한 저해활성을 나타내었다. 메밀싹기름채소의 메탄올 추출물과 열수 추출물에 대한 세포독성실험 결과 실험에 사용된 농도 내에서 어떠한 세포독성도 확인되지 않았으며 처리 시료의 농도가 높아질수록 LPS 에 의한 세포사멸이 억제되어 200  $\mu$ g/mL



의 농도에서는 메탄올 및 열수추출물에서 모두 대조구와 유사한 세포사멸 억제 효과를 나타내었다 (Fig. 182).

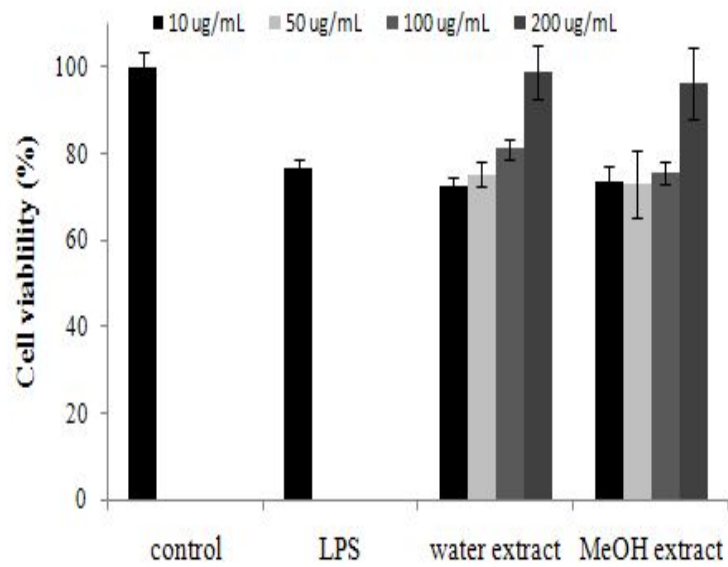


Fig. 182. Effect of buckwheat sprout extracts on cell viability.

All value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

#### 다. 결론 및 요약

실험 결과를 통해서 볼 때 메밀싹기름채소는 높은 항염증효과가 있는 것으로 확인되었으며 이러한 효과는 메밀싹기름채소에 존재하는 homoorientin, orientin, rutin, viotexin 등의 flavonoid 물질들 때문인 것으로 사료된다.

#### 4. 메밀싹기름채소 추출물에 의한 지방세포내 지방축적 저감 및 ROS (reactive oxygen species) 생성 억제능 평가

##### 가. 주요 성분 분석

메밀싹기름채소의 대조구와 0.1 mM MeJA 처리구의 추출물의 주요 성분들을 Table 52 과 같다. 추출물의 총 페놀 함량은 MeJA 처리구가 22.8 mg/g 로서 대조구에 비하여 약 58% 정도 높은 값을 나타내었고, 항산화 활성 (FRAP assay) 과 ORAC 값 (hydrophilic ORAC 값) 에서도 약 100% 이상 높은 활성을 나타내었다.

Table 52. Contents of antioxidant compounds and antioxidant effect of buckwheat sprout by treatment conditions.

Items	NBWE <sup>1)</sup>	TBWE <sup>2)</sup> (0.1 mM MeJA)	t-test
Total phenolics contents (mg/g)	14.42 ± 0.392 <sup>3)</sup>	22.86 ± 0.638	<i>p</i> <0.0001
FRAP Assay (mM Fe <sup>2+</sup> /g of dried sample)	0.0977 ± 0.0101	0.2026 ± 0.0293	<i>p</i> <0.0001
Hydrophilic ORAC Values (μM trolox)	60.58 ± 3.8305	103.36 ± 19.2331	<i>p</i> <0.05
Lipophilic	103.98 ± 5.12	102.48 ± 7.01	<i>p</i> <0.78
Total	164.56 ± 6.32	205.84 ± 25.75	<i>p</i> <0.054
Rutin content (mg/g)	2.0989 ± 0.2682	2.9925 ± 0.1121	<i>p</i> <0.0001

<sup>1)</sup>NBWE : non-treatment buckwheat sprout extract.

<sup>2)</sup>TBWE : treatment buckwheat sprout extract.

<sup>3)</sup>Each value is the mean ± standard deviation.

## 나. 시료의 세포독성

메밀싹기름채소 추출물 시료에 대한 독성을 평가하고자 10, 50 및 100  $\mu\text{g/mL}$  의 농도범위로 하여 세포독성을 측정한 결과 (Fig. 183) 메밀싹기름채소 추출물의 100  $\mu\text{g/mL}$  농도까지는 세포에 독성을 미치지 않는 것으로 나타났으며 대조군 (Control) 에 비하여 유의적으로 세포의 성장을 증가시키는 것으로 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 따라서 지방세포 분화 및 세포내 지방축적에 대한 시료의 효능평가는 10, 50 및 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 시행하였다.

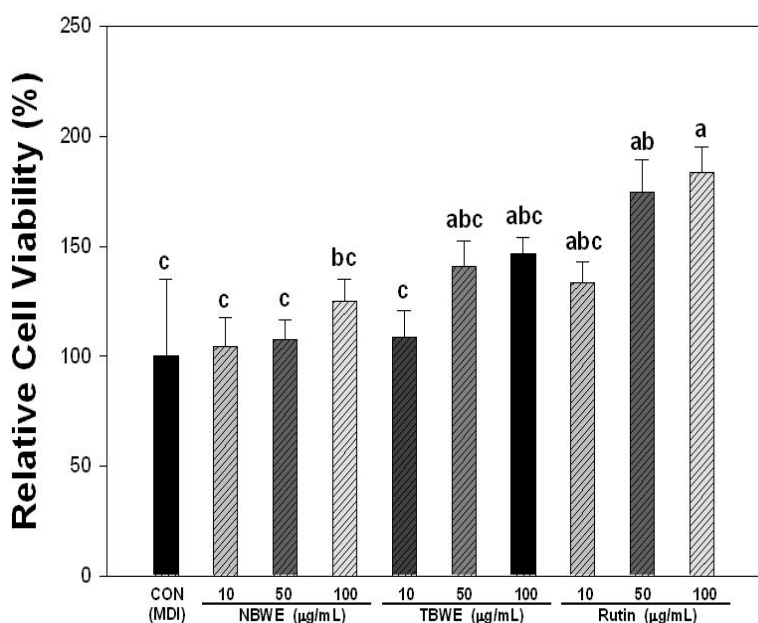


Fig. 183. Effect of buckwheat extracts sample on cell viability.

Cell viability was measured by XTT assay. The exponentially growing cells were plated into 96-well micro plates at a density of  $1 \times 10^6$  cells/well in DMEM/BS medium and incubated for 24h prior to treatment at  $37^\circ\text{C}$  in 5%  $\text{CO}_2$ . Cells were divided into a control group and a buckwheat sample groups at concentration indicated. Each value is the mean  $\pm$  standard deviation of the results from five different plates ( $n=5$ ) and is representative of results from at least two different experiments. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ).

#### 다. 지방세포 분화억제 효과 및 ROS 생성억제 효과

○ 3T3-L1 지방세포의 분화과정에서의 메틸싹기름채소 추출물들에 의한 세포 내 지방축적량과 ROS의 생성량을 비교한 결과는 Fig. 184 및 185 와 같다. 3T3-L1 전지방세포에 세포 분화 유도물질을 처리하고 메틸싹기름채소 추출물들을 각각 10, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  씩 처리하여 8일간 지방세포로 분화하였으며 분화된 지방세포에 축적된 지방의 함량은 Oil red O staining 방법을 이용하여 측정하였고 세포내 ROS 생성량은 NBT assay 방법을 이용하여 평가하였다.

○ 지방세포의 분화과정 동안, 대조군의 3T3-L1 세포에는 다량 lipid drop 을 세포내에 축적하며, ROS의 생성도 증가하는 것으로 나타났다. 메틸싹기름채소 추출물, 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물 및 루틴 (메틸싹기름채소 주요성분) 을 각각 10, 50 및 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리한 결과, 대조군에 비해 지방세포의 지방축적 및 ROS의 생성이 감소하는 경향을 나타내었다. 양성대조군 (positive control) 으로 사용된 trolox (100  $\mu\text{M}/\text{g}$ ) 는 지방세포 및 ROS 생성을 억제하는 것으로 나타났다. 한편, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 메틸싹기름채소 추출물, 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물 및 루틴의 지방축적 및 ROS를 비교한 결과, 대조군에 비해 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물을 처리한 지방세포의 lipid drop 및 ROS 생성의 억제능이 가장 강한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물에 함유되어 있는 페놀성 화합물들의 항산화효과에 기인된 것으로 사료된다. 본 연구에서 양성대조군으로 사용된 trolox 가 갖는 항산화력이 지방세포 내 활성산소의 생성을 억제하여 지방세포 분화를 유의적으로 감소시킨 결과와 유사한 경향을 보였다.

○ 최근, 항산화제에 의한 지방세포 내 ROS 저감 및 세포분화의 억제가 예방의학적 차원에서 항비만 활성화에 도움을 준다는 연구들이 보고된 바, 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물에 함유된 항산화성 페놀성 화합물들이 지방세포의 분화과정에서 여러 전사인자들의 발현을 조절하여 지방세포의 분화 및 ROS의 생성을 억제한 것으로 사료되었으며 본 연구에서는 메틸싹기름채소 추출물 및 0.1 mM MeJA 처리한 메틸싹기름채소 추출물의 항비만 활성화에 대한 mRNA 수준에서의 작용기작을 살펴보았다.

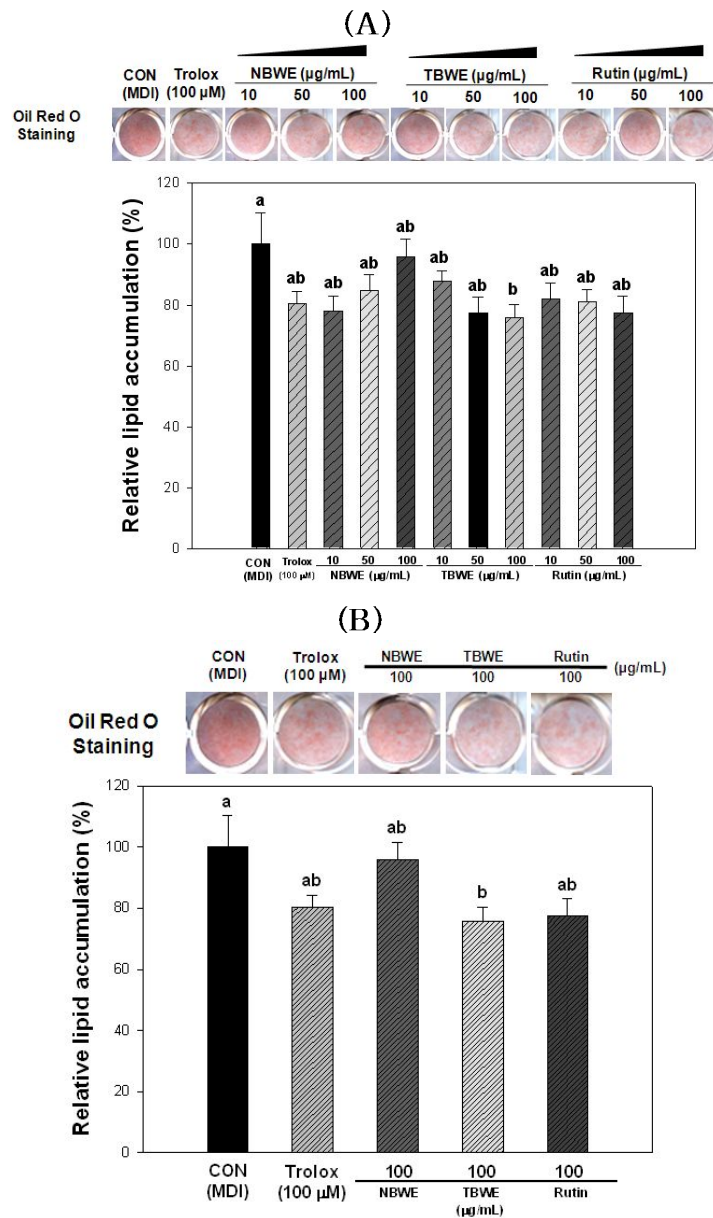


Fig. 184. Effect of buckwheat sprout extracts at various concentration (A) and at 100  $\mu$ g/mL (B) on lipid accumulation during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. Stained Oil red O (lipid accumulation) was dissolved and determined by absorbance at 490 nm. Each value is the mean  $\pm$  standard deviation of the results from six different plates (n=6) and is representative of results from at least two different experiments. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ).

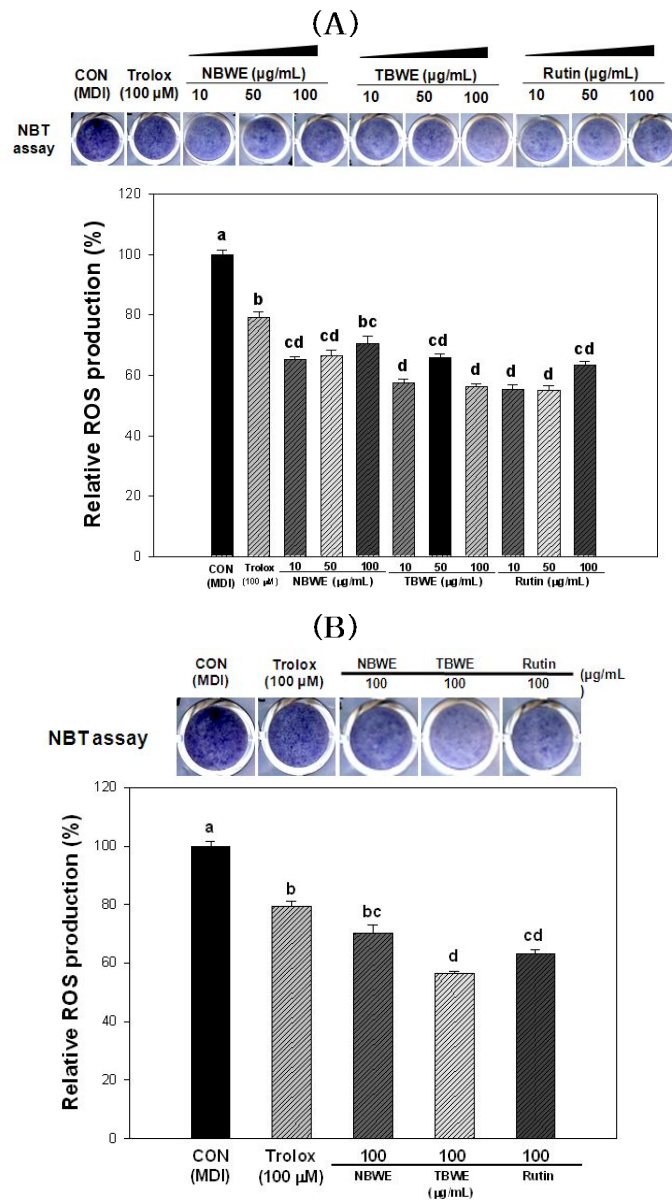


Fig. 185. Effect of buckwheat sprout extracts at various concentration (A) and at 100  $\mu$ g/mL (B) on ROS production during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes.

Dark-blue formazan (ROS production) was dissolved and the absorbance was determined at 570 nm. Each value is the mean  $\pm$  standard deviation of the results from six different plates (n=6) and is representative of results from at least two different experiments. Statistical analysis was performed using the one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ).

## 라. 주요 전사인자의 변화

○ 3T3-L1 세포내 지방축적 억제효과에 대한 작용기전을 알아보하고자 지방세포 분화와 연관된 전사인자인 C/EBP $\alpha$  (CCAAT/enhancer binding protein  $\alpha$ ) 및 타깃 유전자인 aP2 (adipocyte protein 2) 의 발현을 살펴본 결과 **Fig. 186** 과 같다. 메틸씩기름채소 추출물 및 0.1 mM MeJA 를 처리한 메틸씩기름채소 추출물을 처리한 지방세포의 C/EBP $\alpha$  및 aP2 mRNA의 발현은 점차 감소하는 경향을 나타낸 반면, 루틴을 처리한 지방세포의 C/EBP $\alpha$  및 aP2 mRNA 는 대조군과 유사한 발현 양을 나타내었다. 이러한 결과는 메틸씩기름채소 추출물 및 0.1 mM MeJA 를 처리한 메틸씩기름채소 추출물에 함유된 루틴은 지방세포 내 주요 전사인자의 발현에 영향을 미치지 못하였으며, 메틸씩기름채소 추출물 및 0.1 mM MeJA 를 처리한 메틸씩기름채소 추출물의 항비만 활성은 루틴의 작용기전과는 다른 것으로 사료되었다. 하지만, 0.1 mM MeJA 를 처리한 메틸씩기름채소 추출물에 의한 C/EBP $\alpha$  및 aP2 mRNA 의 억제효과는 lipid accumulation 및 ROS 생성 억제 효과와 마찬가지로 가장 강한 것으로 나타났다.

○ 한편, 세포내 cytosolic 에서 ROS 의 생성에 관여 NOX4 (NADPH oxidase 4) 및 NADPH 의 주요 공급원인 pentose phosphate pathway 의 first-rate limiting enzyme 인 G6PDH (glucose-6-phosphate dehydrogenase) 의 유전자의 발현양상을 살펴본 결과 (**Fig. 187**), C/EBP $\alpha$  및 aP2 mRNA 의 발현 양상과 마찬가지로 추출물의 농도가 증가함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 또한, 100  $\mu$ g/mL 농도에서 메틸씩기름채소 추출물, 0.1 mM MeJA 처리한 메틸씩기름채소 추출물 및 루틴의 NOX4 및 G6PDH 의 mRNA 의 발현 양상도 대조군에 비해 0.1 mM MeJA 처리한 메틸씩기름채소 추출물을 처리한 지방세포에서 가장 강한 발현 억제 효과를 보였다. 이러한 결과는 0.1 mM MeJA 처리한 메틸씩기름채소 추출물의 지방축적 및 ROS 생성억제 효능과 유사한 경향을 나타내었으며 양성대조군으로 사용된 trolox 보다도 뛰어난 효과를 갖는 것으로 나타났다.

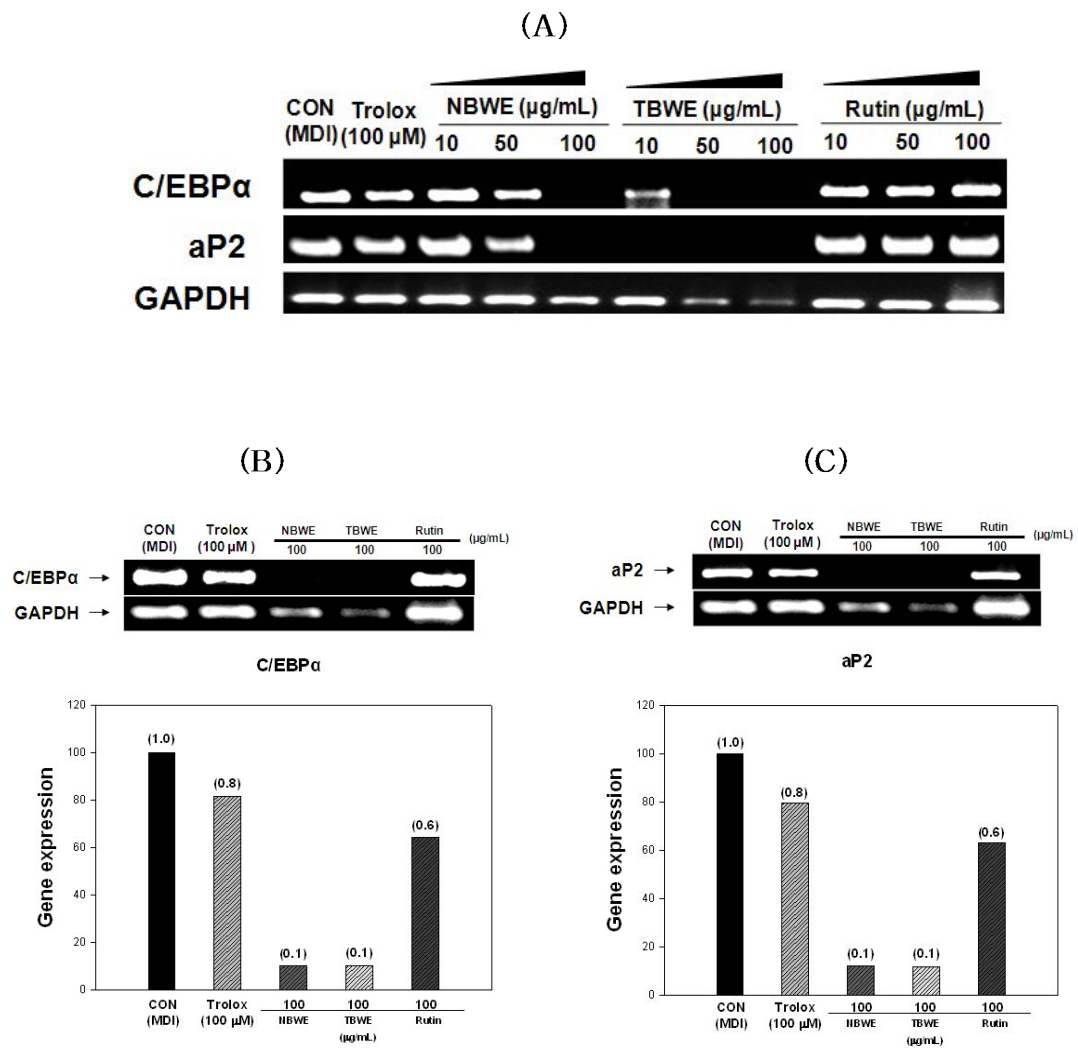


Fig. 186. Effect of buckwheat sprout extracts on the mRNA expression of C/EBP $\alpha$  and aP2. 3T3-L1 cells were differentiated in the presence of Trolox (100  $\mu$ M) and buckwheat sprout extracts (10, 50, and 100  $\mu$ g/mL) throughout differentiation. On day 8, total cellular RNA was extracted and subjected to RT-PCR. CEBP $\alpha$  and aP2 mRNA levels were quantified and normalized with GAPDH. The band intensities were measured using the Image J program.



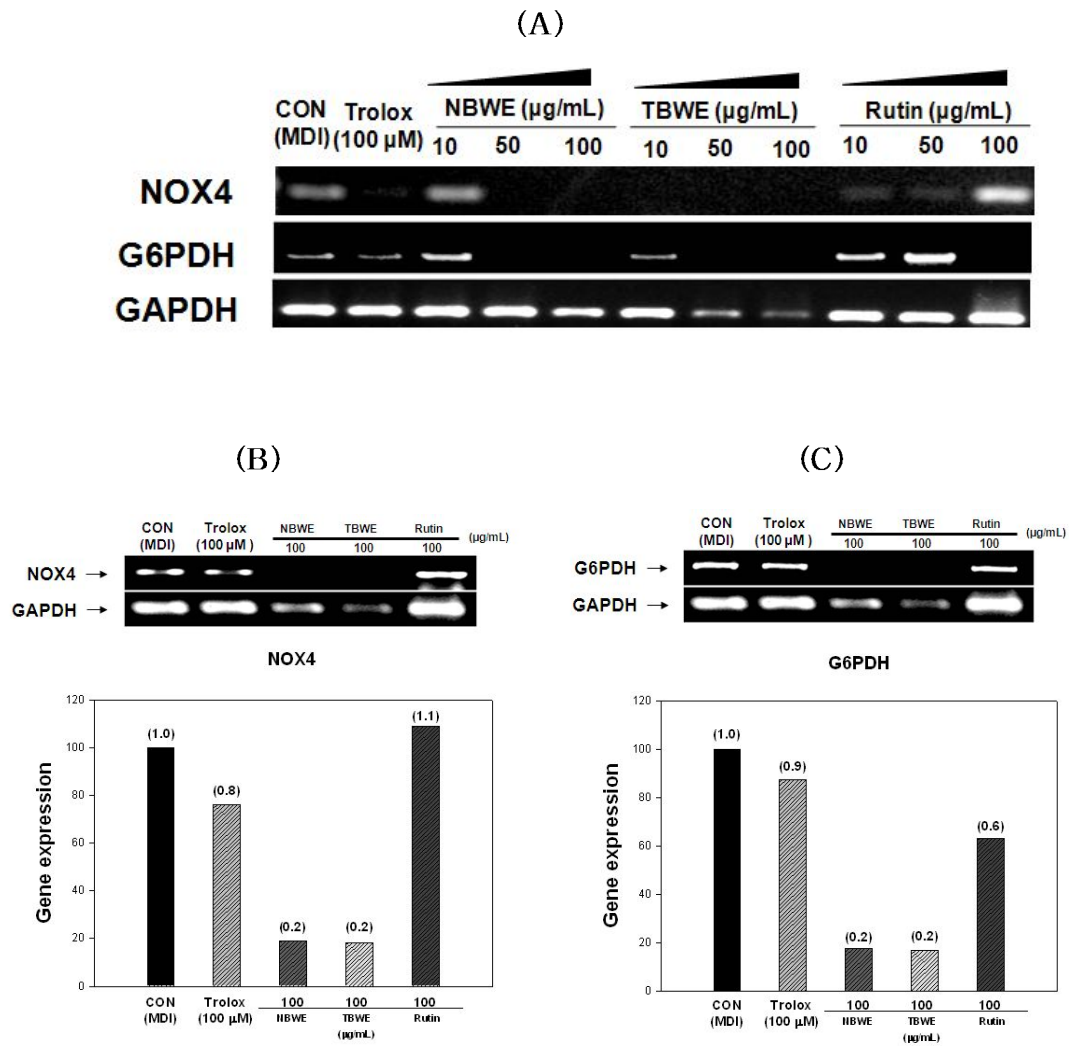


Fig. 187. Effect of buckwheat sprout extracts on the mRNA expression of NOX4 and G6PDH.

3T3-L1 cells were differentiated in the presence of Trolox (100 μM) and buckwheat sprout extracts (10, 50, and 100 μg/mL) throughout differentiation. On day 8, total cellular RNA was extracted and subjected to RT-PCR. NOX4 and G6PDH mRNA levels were quantified and normalized with GAPDH. The band intensities were measured using the Image J program.

#### 마. 항산화효소의 변화

○ 지방세포에는 과도하게 생성된 ROS 에 의한 산화적스트레스 (oxidative stress) 들은 인슐린저항성 유발에 의한 당뇨, 들연변이 유발에 의한 암 발생 등 수많은 질병들을 야기하는 주요 원인 중의 하나이다. 즉, 메밀싹기름채소 추출물들에 의해 과도하게 생성된 ROS 를 유의적으로 감소시킨다면, 비만으로부터 야기되는 여러 질병들을 예방의학적 차원에서 접근 가능하다.

○ 지방세포에서 생성되는 ROS 의 방어기작에 중요한 역할을 하는 항산화효소의 변화 양상을 살펴보고자, 세포내 Mn-SOD (Manganese-superoxide dismutase), Cu/Zn-SOD (Copper/Zinc-superoxide dismutase), Catalase 및 GPx (Glutathione peroxidase) 의 발현을 semi-quantitative RT-PCR 로 분석하였다. **Fig. 188** 및 **189** 은 이들 항산화효소에 대한 mRNA 발현을 나타낸 것으로서, 메밀싹기름채소 추출물을 처리한 세포에서 이들 항산화효소가 어느 정도 발현할 것이라는 예상과는 달리 대부분의 처리군에서 대조군과는 다른 양상을 보였다. 세포내에서 mitochondria 및 cytosolic 에서 생성된 superoxide 는 Mn-SOD 및 Cu/Zn-SOD 에 의하여 hydrogen peroxide 로 전환되고 이들 hydrogen peroxide 는 catalase 및 glutathione peroxidase 에 의한 물로 전환되어 세포내 산화적 스트레스부터 자유로워질 수 있다. 이들의 결과로 볼 때, 메밀싹기름채소 추출물에 의해 세포내 ROS 를 생성하는 NOX4의 유전자가 현저하게 감소하게 되고, 세포내 감소된 ROS 로 인한 항산화효소의 발현이 전체적으로 shutdown 된 것으로 사료되었다.

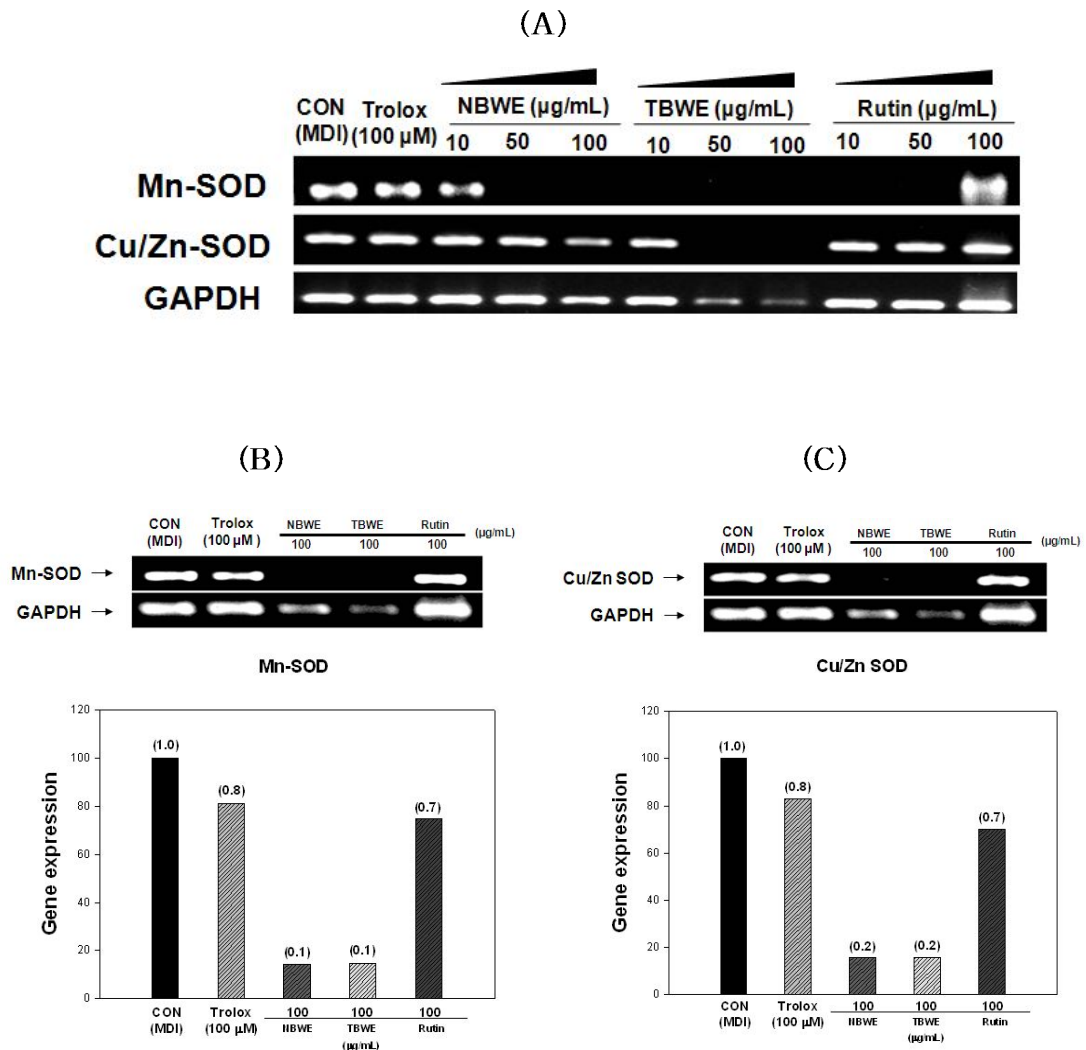


Fig. 188. Effect of buckwheat sprout extracts on the mRNA expression of Mn-SOD and Cu/Zn-SOD.

3T3-L1 cells were differentiated in the presence of Trolox (100 μM) and buckwheat sprout extracts (10, 50, and 100 μg/mL) throughout differentiation. On day 8, total cellular RNA was extracted and subjected to RT-PCR. Mn-SOD and Cu/Zn-SOD mRNA levels were quantified and normalized with GAPDH. The band intensities were measured using the Image J program.

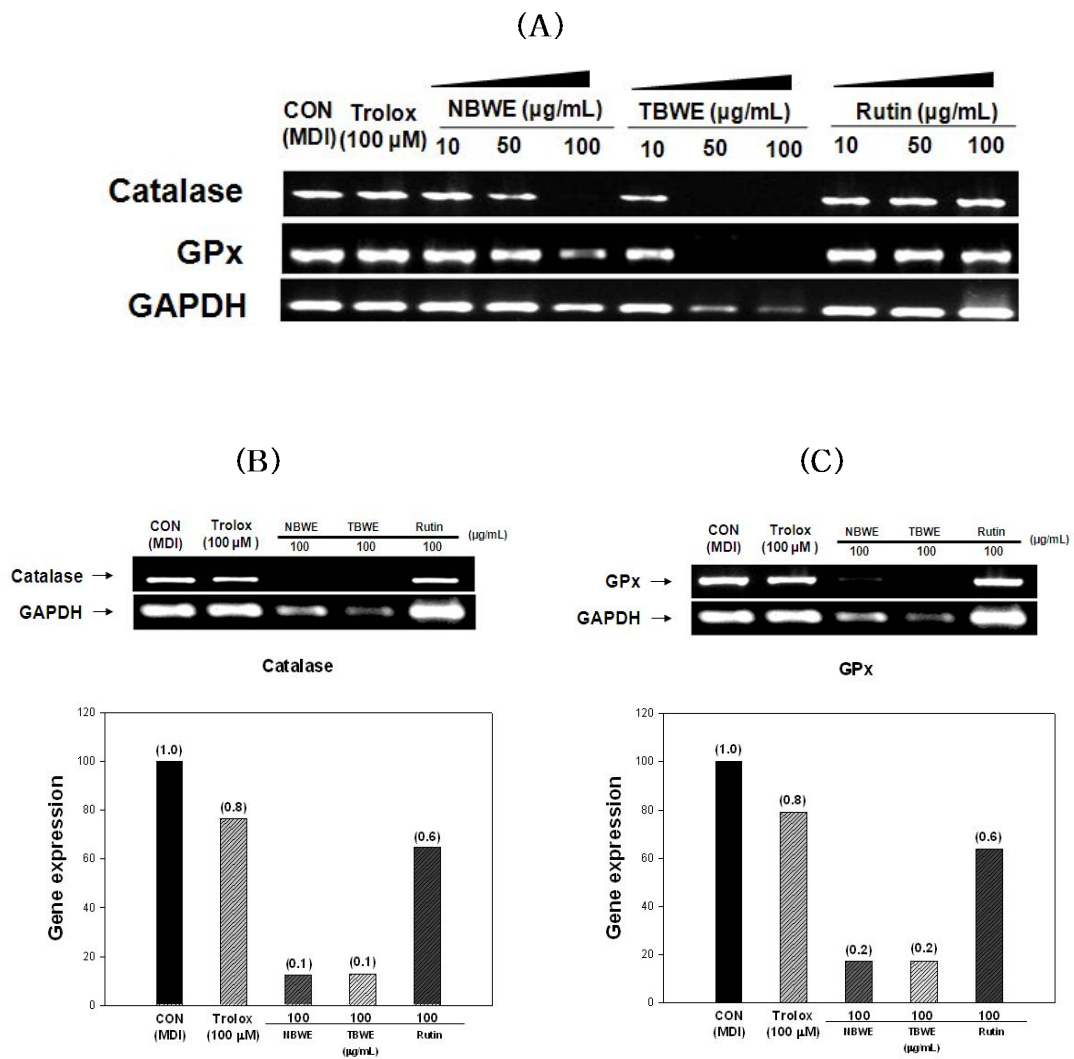


Fig. 189. Effect of buckwheat sprout extracts on the mRNA expression of catalase and GPx (glutathione peroxidase).

3T3-L1 cells were differentiated in the presence of Trolox (100 μM) and buckwheat sprout extracts (10, 50, and 100 μg/mL) throughout differentiation. On day 8, total cellular RNA was extracted and subjected to RT-PCR. Catalase and GPx mRNA levels were quantified and normalized with GAPDH. The band intensities were measured using the Image J program.

## 바. 요약 및 결론

이상의 결과로 요약해 볼 때, 0.1 mM MeJA 처리한 메밀싹기름채소 추출물은 3T3-L1 지방세포의 분화를 억제하여 세포내 지방축적을 감소시켰으며, 이와 연관된 세포내 주요 전사인자들의 발현을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 세포 내 ROS 의 생성에 관여하는 NOX4의 유전자를 감소시켜 ROS 에 의한 산화적 스트레스를 효과적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 한편, 메밀싹기름채소 추출물의 주요 활성성분 (major compounds) 인 루틴에 의한 효과는 미비하게 나타나 루틴이 외의 항산화성 페놀화합물들에 의한 항비만 활성이 나타나는 것으로 사료되었다. 향후 본 연구로부터 도출된 결과를 바탕으로 한 단백질 수준에서의 작용기전 연구 및 동물실험 등이 추후 연구되어야 할 것으로 판단된다.

## 5. 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 *in vivo* 고지혈증 개선 효과

### 가. 실험동물의 식이 섭취량, 체중증가량 및 사료효율

실험동물의 일일 평균 식이섭취량, 체중증가량 및 사료효율은 **Table 53** 과 같았다. 일일 평균 식이섭취량은 정상대조군에서 약간 많이 섭취한 경향을 보였으나 유의적인 차이는 아니었다. 일일체중증가량은 고지방대조군과 비교하여 정상대조군과 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 이 유의하게 낮았다. 사료효율은 고지방대조군과 비교하여 정상대조군이 유의하게 낮았으며 고지방실험군들 중에서는 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 이 낮은 경향을 보였다.

Table 53. Feed intake, body weight gain and FER of the experimental rats

Group	Feed intake (g/day) <sup>1)</sup>	Body weight gain (g/day) <sup>1)</sup>	FER <sup>1)2)</sup>
NC	19.85 ± 2.18	4.92 ± 0.66 <sup>b2)</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>b</sup>
HFC	18.75 ± 2.13	5.85 ± 0.80 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>
SC	17.94 ± 2.51	5.13 ± 0.76 <sup>ab</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>
SM	18.00 ± 1.55	5.51 ± 0.67 <sup>ab</sup>	0.31 ± 0.04 <sup>a</sup>
SMNL	18.02 ± 1.44	5.00 ± 0.62 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.04 <sup>ab</sup>
SME	18.08 ± 1.58	5.24 ± 1.00 <sup>ab</sup>	0.29 ± 0.04 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are Mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Feed Efficiency Ratio : Weight gain (g/day) divided by feed intake (g/day).

### 나. 실험동물의 장기무게

실험동물의 간장, 신장, 비장, 부고환지방 및 등지방 무게는 **Table 54** 와 같았다. 실험동물의 간장 무게는 고지방대조군과 비교해서 정상대조군이 유의하게 낮았으며 고지방실험군들 중에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 이 가장 낮은 경향을 보였다. 이러한 결과는 간장의 무게를 체중에 대한 백분율로 나타내었을 때에도 유사하게 나타났다. 신장, 비장, 부고환지방 및 등지방의 경우 각각을 무게와 체중의 백분율로 나타냈을 때 모든 실험군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 54. Organ weight, epididymal fat and retroperitoneal fat of the experimental rats

Group	Liver	Kidney	Spleen	Epididymal fat pad	Retroperitoneal fat pad
(g) <sup>1)</sup>					
NC	12.50 ± 4.03 <sup>b2)</sup>	2.19 ± 0.26	0.77 ± 0.19	1.90 ± 0.36	1.45 ± 0.39
HFC	17.79 ± 1.84 <sup>a</sup>	2.32 ± 0.15	0.85 ± 0.19	1.94 ± 0.32	1.36 ± 0.45
SC	18.76 ± 5.16 <sup>a</sup>	2.21 ± 0.24	0.76 ± 0.15	1.92 ± 0.40	1.57 ± 0.62
SM	19.51 ± 3.50 <sup>a</sup>	2.25 ± 0.16	0.81 ± 0.12	2.04 ± 0.38	1.66 ± 0.56
SMNL	15.86 ± 2.19 <sup>ab</sup>	2.15 ± 0.12	0.70 ± 0.06	1.73 ± 0.34	1.25 ± 0.30
SME	17.52 ± 3.06 <sup>a</sup>	2.23 ± 0.13	0.74 ± 0.18	1.69 ± 0.38	1.22 ± 0.45
(% of body weight) <sup>1)</sup>					
NC	3.78 ± 0.97 <sup>b2)</sup>	0.67 ± 0.05	0.23 ± 0.04	0.58 ± 0.09	0.47 ± 0.11
HFC	5.07 ± 0.46 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.24	0.24 ± 0.06	0.55 ± 0.06	0.38 ± 0.11
SC	5.60 ± 1.12 <sup>a</sup>	0.67 ± 0.04	0.23 ± 0.04	0.58 ± 0.10	0.47 ± 0.16
SM	5.68 ± 0.80 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.60 ± 0.11	0.48 ± 0.15
SMNL	4.84 ± 0.60 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.05	0.21 ± 0.01	0.53 ± 0.10	0.60 ± 0.11
SME	5.22 ± 0.77 <sup>a</sup>	0.67 ± 0.04	0.22 ± 0.06	0.50 ± 0.09	0.36 ± 0.13

<sup>1)</sup>Values are Mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among the groups by Duncan's multiple range test.

#### 다. 혈중 GOT, GPT, BUN 및 creatinine 농도

혈중 GOT, GPT, BUN 및 creatinine 농도는 **Table 55** 와 같았다. 혈중 간 기능 지표효소인 GOT, GPT 중에서 GOT 농도는 모든 실험군들에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 고지방대조군 및 고지방실험군들에서 정상대조군보다 증가하는 경향을 보였다. GPT 농도는 고지방대조군이 정상대조군보다 유의적으로 높았으며 메틸싹추출물군을 제외한 고지방실험군들에서 정상대조군보다 높은 경향을 보였다. GOT, GPT 활성은 고지방식, 알콜 등으로 지방간이 유발되었을 때나 간 독성물질에 의하여 혈중의 활성도가 높아지게 된다. 신장의 기능을 나타내는 혈중요소질소 (BUN) 와 creatinine 은 신장 기능에 장애가 있을 때 혈중 농도가 정상 범위 이상으로 증가한다. 본 연구에서 실험쥐의 혈중 BUN 농도는 메틸싹대조군에서 가장 낮았고 정상대조군에서 높았으나 모두 정상 범위 내에 있었다. Creatinine은 체내에서 에너지로 사용된 단백질의 노폐물로서 에너지로 사용된 후 혈중으로 유출되는 물질로 정상대조군에서 가장 높았으며 고지방대조군, 메틸싹대조군, MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 에서 유의하게 낮았으나 모두 정상 범위 내에 있었다.

Table 55. The levels of GOT, GPT, BUN and creatinine in the serum

Group	GOT (IU/L) <sup>1)</sup>	GPT (IU/L) <sup>1)</sup>	BUN (mg/dL) <sup>1)</sup>	Creatinine (mg/dL) <sup>1)</sup>
NC	73.0 ± 22.5	18.6 ± 4.2 <sup>b2)</sup>	14.9 ± 2.3 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.09 <sup>a</sup>
HFC	94.8 ± 33.8	39.4 ± 21.9 <sup>a</sup>	9.9 ± 1.2 <sup>cd</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>b</sup>
SC	81.1 ± 23.9	32.6 ± 16.3 <sup>ab</sup>	9.6 ± 2.2 <sup>d</sup>	0.19 ± 0.05 <sup>b</sup>
SM	81.4 ± 22.5	28.6 ± 13.9 <sup>ab</sup>	11.4 ± 1.4 <sup>bcd</sup>	0.23 ± 0.04 <sup>ab</sup>
SMNL	78.3 ± 16.4	27.1 ± 9.2 <sup>ab</sup>	12.6 ± 1.1 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.05 <sup>b</sup>
SME	79.8 ± 13.6	24.1 ± 6.7 <sup>b</sup>	11.6 ± 1.4 <sup>bc</sup>	0.20 ± 0.08 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

**라 혈중 총 단백질, albumin 및 혈당농도**

혈중 총 단백질, albumin 및 혈당농도는 **Table 56** 와 같았다. 혈중 총 단백질 및 albumin 농도는 모든 실험군들 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 공복 시 혈당농도는 모든 실험군들 중에서 MeJA 처리군 (SM) 에서 가장 낮은 수준이었으나 유의적인 차이는 아니었다.

Table 56. The levels of total protein, albumin and fasting glucose in the serum

Group	Total protein (g/dL) <sup>1)</sup>	Albumin (g/dL) <sup>1)</sup>	Glucose (mg/dL) <sup>1)</sup>
NC	3.56 ± 0.37	1.58 ± 0.16	99.3 ± 12.3
HFC	3.59 ± 0.22	1.45 ± 0.14	92.9 ± 17.7
SC	3.68 ± 0.71	1.45 ± 0.26	98.4 ± 22.9
SM	3.44 ± 0.21	1.36 ± 0.07	85.1 ± 9.6
SNML	3.51 ± 0.26	1.37 ± 0.16	102.6 ± 23.9
SME	3.54 ± 0.44	1.40 ± 0.19	91.9 ± 14.9

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

**마. 혈중 중성지질 및 유리지방산 농도**

혈중 중성지질 및 유리지방산의 농도는 **Table 57** 과 같았다. 혈중 중성지질 농도는 정상대조군과 비교해서 고지방대조군이 유의적으로 높았으며 메틸싹기름채소 실험군들은 모두 고지방대조군보다 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 혈중 유리지방산 농도는 정상대조군, 고지방대조군 및 메틸싹기름채소 실험군들 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 57. The levels of triglyceride and free fatty acid in serum of experimental rats

Group	Triglyceride (mg/dL) <sup>1)</sup>	Free fatty acid (μEq/L) <sup>1)</sup>
NC	30.5± 5.1 <sup>b2)</sup>	1.02±0.11
HFC	40.6±14.0 <sup>a</sup>	1.03±0.19
SC	35.4± 6.6 <sup>ab</sup>	1.11±0.16
SM	39.3± 7.4 <sup>ab</sup>	1.19±0.16
SMNL	32.0± 3.6 <sup>ab</sup>	1.12±0.19
SME	36.6± 7.9 <sup>ab</sup>	1.14±0.15

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different( $p<0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.



## 바. 혈중 콜레스테롤 농도

○ 혈중 총콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르 (cholesteryl ester: CE), 유리 콜레스테롤 (free cholesterol: FC) 및 CE/FC 비는 **Table 58** 과 같았다. 혈중 총콜레스테롤 농도는 실험군들 중에서 정상대조군이 가장 낮았으며 메밀싹대조군과 MeJA 처리군 (SM) 의 혈중 콜레스테롤 농도는 고지방대조군과 비교해서 각각 약 12% 와 7% 유의적으로 낮았다. 콜레스테롤 에스테롤 농도는 실험군들 중에서 정상대조군이 가장 낮았으며 메밀싹대조군과 MeJA 처리군 (SM) 의 혈중 콜레스테롤 농도는 고지방대조군과 비교해서 각각 약 13%와 12% 유의적으로 낮았다. 유리 콜레스테롤 농도는 정상대조군이 가장 낮았으며 고지방대조군과 메밀싹실험군들 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. CE/FC 비율도 고지방식이에 의해 증가하는 경향을 보였으며 메밀싹기름채소실험군들 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

○ LDL-콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도 및 동맥경화지수 (AI) 는 **Table 59** 와 같았다. 혈중 LDL-콜레스테롤 농도는 정상대조군이 실험군들 중에서 가장 낮았고 고지방대조군과 비교해서 메밀싹대조군과 MeJA 처리군 (SM) 이 각각 약 14% 와 10% 유의적으로 낮았다. HDL-콜레스테롤 농도는 정상대조군에 비해서 고지방군들이 낮았으며 고지방대조군과 비교해서 MeJA 처리군 (SM) 이 가장 높았으나 유의적인 차이는 아니었다. 동맥경화지수는 정상대조군에 비해 고지방군들에서 증가하였으며, 고지방대조군과 비교하여 MeJA 처리군 (SM) 과 메밀싹대조군이 각각 약 23% 와 17% 유의적으로 낮았다. LDL 은 혈청 콜레스테롤의 주된 운반형으로 고콜레스테롤을 섭취할 경우 혈청의 LDL 농도가 증가된다. 이러한 LDL-콜레스테롤 농도 증가는 심혈관계질환 발생율의 증가와 밀접한 관련성이 있다 (Bates 1979; William 등 1979; Gorden 등 1981). HDL-콜레스테롤은 콜레스테롤을 말초조직으로부터 간으로 이동시키며 혈관벽에 콜레스테롤 축적을 방지하는 항동맥경화 인자로 알려져 있다 (Castelli 등 1986). 고콜레스테롤 및 고지방식을 섭취시킨 본 실험의 경우 메밀싹대조군과 메밀싹 MJ 군에서 혈중 총콜레스테롤에스테르 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤농도가 감소하였고 HDL-콜레스테롤 농도가 증가하였으며 동맥경화지수로 보았을 때 그 효과는 메밀싹대조군보다 MeJA 처리군 (SM) 에서 더 큰 것으로 나타났다.

Table 58. The levels of total cholesterol, cholesteryl ester (CE), free cholesterol (FC) and CE/FC ratio in the serum

Group	Total cholesterol (mg/dL) <sup>1)</sup>	Cholesteryl ester (mg/dL) <sup>1)</sup>	Free cholesterol (mg/dL) <sup>1)</sup>	CE/FC <sup>1)</sup>
NC	64.6 ± 5.4 <sup>c2)</sup>	55.9 ± 4.1 <sup>c</sup>	8.6 ± 1.8	6.7 ± 1.10
HFC	102.6 ± 7.5 <sup>a</sup>	91.5 ± 5.0 <sup>a</sup>	11.1 ± 4.8	9.3 ± 3.22
SC	90.0 ± 11.4 <sup>b</sup>	79.8 ± 8.7 <sup>b</sup>	10.3 ± 3.0	8.3 ± 2.41
SM	95.2 ± 27.1 <sup>b</sup>	80.8 ± 20.5 <sup>b</sup>	14.4 ± 12.0	12.2 ± 13.9
SMNL	105.1 ± 20.2 <sup>a</sup>	91.1 ± 5.0 <sup>a</sup>	14.0 ± 4.7	6.9 ± 1.63
SME	102.7 ± 23.0 <sup>a</sup>	88.3 ± 20.2 <sup>a</sup>	14.4 ± 11.5	14.0 ± 19.4

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

Table 59. The levels of LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and AI in the serum

Group	LDL cholesterol (mg/dL) <sup>1)</sup>	HDL cholesterol (mg/dL) <sup>1)</sup>	AI <sup>1)3)</sup>
NC	42.3 ± 3.7 <sup>c2)</sup>	16.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.2 <sup>c</sup>
HFC	84.0 ± 8.0 <sup>a</sup>	10.6 ± 2.4 <sup>b</sup>	9.5 ± 4.0 <sup>a</sup>
SC	72.2 ± 12.0 <sup>b</sup>	10.8 ± 3.1 <sup>b</sup>	7.9 ± 3.1 <sup>b</sup>
SM	75.6 ± 25.5 <sup>b</sup>	11.8 ± 2.2 <sup>b</sup>	7.3 ± 2.7 <sup>b</sup>
SMNL	88.4 ± 21.3 <sup>a</sup>	10.3 ± 3.8 <sup>b</sup>	10.3 ± 3.9 <sup>a</sup>
SME	85.6 ± 21.4 <sup>a</sup>	8.6 ± 2.1 <sup>b</sup>	9.5 ± 2.1 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

<sup>3)</sup>Atherogenic Index = (total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol.

### 사. 간장의 지질 함량

간장의 지질 함량은 **Table 60** 과 같았다. 고지방식을 섭취한 실험군들은 정상대조군보다 유의적으로 간지질 함량이 높았으며, 고지방대조군과 비교해서는 MeJA 처리군 (SM) 과 메밀 싹대조군에서 각각 약 25% 와 19% 유의적으로 낮게 나타났다. 간장의 중성지질 함량도 정상대조군이 고지방대조군보다 유의적으로 낮았으며, 고지방대조군과 비교해서는 MeJA 처리군 (SM) 과 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 에서 각각 약 26% 와 15% 유의적으로 낮게 나타났다. 간장의 총 콜레스테롤 함량은 정상대조군과 비교하여 고지방군들에서 증가되었으며, 고지방대조군과 비교해서는 MeJA 처리군 (SM), 메밀싹대조군, MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 에서 각각 약 24%, 23%, 및 17% 유의적으로 낮게 나타났다. 고지방 식이를 섭취할 경우 간장의 지질은 미처 대사되지 못하고 간에 쌓이게 되는데 이러한 상황에서 본 실험의 시료인 메밀싹의 섭취는 간의 지질 함량을 낮추는 것으로 나타났으며, 그 효과는 MeJA 처리군 (SM) 에서 가장 크게 나타났다.

Table 60. The levels of total lipid, TG and total cholesterol in the liver

Group	Total lipid (%) <sup>1)</sup>	TG (mg/g) <sup>1)</sup>	Total cholesterol (mg/g) <sup>1)</sup>
NC	5.22 ± 1.43 <sup>c2)</sup>	5.9 ± 1.0 <sup>d</sup>	1.20 ± 0.18 <sup>c</sup>
HFC	34.27 ± 4.13 <sup>a</sup>	26.3 ± 2.7 <sup>a</sup>	14.21 ± 1.40 <sup>a</sup>
SC	27.93 ± 5.78 <sup>b</sup>	23.2 ± 3.8 <sup>ab</sup>	11.00 ± 0.87 <sup>b</sup>
SM	25.76 ± 7.43 <sup>b</sup>	19.5 ± 3.7 <sup>c</sup>	10.80 ± 1.75 <sup>b</sup>
SMNL	29.12 ± 5.08 <sup>ab</sup>	22.3 ± 2.3 <sup>bc</sup>	11.84 ± 0.90 <sup>b</sup>
SME	30.42 ± 5.69 <sup>ab</sup>	23.5 ± 3.4 <sup>ab</sup>	13.30 ± 1.38 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p < 0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

### 아. 분변의 무게 및 지질 함량

○ 실험동물의 분변 건조무게 및 총 지질 함량은 **Table 61** 와 같았다. 실험동물의 일일 분변 건조무게는 모든 실험군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 정상대조군이 가장 적고 MeJA 처리군 (SM) 이 다소 많았다. 분변의 총 지질은 퍼센트 함량인 경우와 하루에 배설된

분변의 총 지질량으로 볼 때 정상대조군이 유의적으로 낮았으며 고지방섭취군들 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 식이 중에 같은 양의 식이섬유를 함유하더라도 고지방군들의 경우 지방의 흡수율이 낮았기 때문으로 사료된다.

○ 실험동물의 변중 중성지질 및 콜레스테롤 함량은 **Table 62** 와 같았다. 분변 1 g 중의 중성지질 함량은 실험군들 중에서 정상대조군에 가장 적었으며 모든 메밀싹군들은 고지방대조군보다 많았고 이중에서 MeJA 처리군 (SM) 은 고지방대조군 보다 약 21% 유의적으로 많았다. 이를 하루에 배설한 변의 양으로 계산해 보아도 같은 결과를 나타냈다.

○ 분변 1 g 중의 콜레스테롤 함량은 정상대조군보다 고지방군들이 훨씬 많았으며 고지방대조군과 비교해서 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 이 약 15% 유의적으로 많았다. 이를 하루에 배설한 변의 양으로 계산해 보면 고지방대조군과 비교해서 MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 과 MeJA 처리군 (SM) 이 각각 약 15%와 11% 유의적으로 많았다. 식이로 섭취한 지질 중 흡수되지 못한 지질은 분변으로 배설되는데 식이성분 중에서 식이섬유가 분변으로 배설하는 지질의 양에 영향을 미친다고 보고되었다 (Yang 등 1996). 이러한 분변을 통한 지질 배설작용은 불용성 다당보다는 점성이 있거나 gel을 형성하는 수용성 다당에서 더 크게 일어나며 이는 장관에서 중성지방, 콜레스테롤 및 담즙산과 직접 결합하여 이들의 배설을 증가시키고 결국 혈액 및 간장의 중성지질 및 콜레스테롤 저하 효과를 나타낸다고 하였다 (Vahouny 등 1980; Kang 등 1994; Yang 등 1996).

○ 실험 결과, MeJA 처리군 (SM) 은 다른 메밀싹대조군, MeJA, NaCl, Light 병행처리군 (SMNL) 보다 혈중 총콜레스테롤, 에스테르 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 간의 중성지질과 콜레스테롤 저하작용이 더 큰 것으로 나타났는데 이는 분변으로 배설하는 콜레스테롤 및 중성지질 양이 증가되었기 때문인 것과 연관되는 것으로 사료된다. 메밀싹추출물군의 경우 MeJA 처리군 (SM) 과 같이 Methyl Jasmonate 로 처리한 메밀싹으로부터 추출한 것이었으나 고지방대조군에 첨가한 양이 너무 적었기 때문에 혈중콜레스테롤이나 간지질의 저하효과가 나타나지 않은 것으로 생각된다. 최근 증가되고 있는 고콜레스테롤혈증 및 동맥경화를 예방하고 회복하는데 Methyl Jasmonate 처리된 메밀싹은 기능성 재료로서 그 활용도를 넓힐 수 있을 것으로 생각된다.

Table 61. The fecal dry weights and total lipid in the feces

Group	Fecal dry weight (g/day) <sup>1)</sup>	Fecal total lipid <sup>1)</sup>	
		(%, dry wt)	(g/day, dry wt)
NC	1.41 ± 0.12	3.56 ± 0.96 <sup>b2)</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>b</sup>
HFC	1.72 ± 0.25	10.07 ± 0.91 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.03 <sup>a</sup>
SC	1.74 ± 0.22	10.83 ± 1.16 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>a</sup>
SM	1.80 ± 0.25	10.31 ± 0.33 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>a</sup>
SMNL	1.78 ± 0.24	10.86 ± 0.47 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>a</sup>
SME	1.68 ± 0.19	10.05 ± 1.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.03 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p<0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

Table 62. The TG and cholesterol in the feces

Group	Fecal TG <sup>1)</sup>		Fecal cholesterol <sup>1)</sup>	
	(mg/g)	(mg/day)	(mg/g)	(mg/day)
NC	1.88±0.07 <sup>c2)</sup>	2.98±0.51 <sup>c</sup>	2.32±0.35 <sup>c</sup>	3.68±0.88 <sup>c</sup>
HFC	1.95±0.15 <sup>c</sup>	3.37±0.63 <sup>bc</sup>	16.50±1.95 <sup>b</sup>	28.55±6.21 <sup>b</sup>
SC	2.12±0.15 <sup>b</sup>	3.68±0.46 <sup>ab</sup>	16.88±1.64 <sup>ab</sup>	29.15±2.78 <sup>ab</sup>
SM	2.28±0.19 <sup>a</sup>	4.09±0.61 <sup>a</sup>	17.63±1.49 <sup>ab</sup>	31.79±5.71 <sup>a</sup>
SMNL	2.23±0.13 <sup>ab</sup>	3.97±0.64 <sup>ab</sup>	18.37±12.94 <sup>a</sup>	32.85±6.54 <sup>a</sup>
SME	2.16±0.06 <sup>ab</sup>	3.64±0.49 <sup>ab</sup>	17.54±1.60 <sup>ab</sup>	29.4±3.91 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

<sup>2)</sup>Values within the same column with different alphabets are significantly different ( $p<0.05$ ) among groups by Duncan's multiple range test.

## 6. UPLC-Q-TOF MS 를 이용한 메밀싹기름채소 처리 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석

### 가. 메밀싹기름채소 처리 고지방식이 유도 비만 쥐의 혈청 대사체 분석

○ 고지방 식이를 통해 비만을 유도한 쥐에 다양하게 재배한 메밀싹을 공급한 후 혈청 대사체를 분석한 결과 **Fig. 190** 과 같은 mass profiles 를 얻었다. 모든 실험군에서 특이적인 mass profiles의 변화는 관찰되지 않았다.

○ UPLC-Q-TOF MS 를 이용해 분석한 270 개의 대사체를 다변량 통계분석 방법인 PLS-DA를 통해 분석한 결과 **Fig. 191~193** 과 같다. 정상식이 (lean), 고지방식이 (obese), 고지방식이에 무처리 메밀싹 (CS) 와 NaCl 와 MeJA 혼합처리군, MeJA 처리군, 메밀싹 추출물 처리군을 각각 비교한 결과 비만군이 다소 뒤는 시료가 있기는 하지만 정상군과는 주요 성분 1 (t (1)) 과 2 (t (2)) 을 기준으로 서로 분리되는 것이 관찰되었다. 무처리 메밀싹 처리군, MeJA 단독 처리군과 비만군은 서로 분리되지 않은 것으로 보아 무처리 메밀싹과 MeJA 단독 처리를 통해 재배한 메밀싹의 경우 비만에 어떠한 효과도 없는 것으로 관찰되었다. 그러나 NaCl 와 MeJA 혼합처리를 통해 재배한 메밀싹과 메밀싹 추출물의 경우 정상군에 근접한 것으로 보아 비만에 어느 정도 효과가 있는 것으로 확인되었다. 처리군 별 PLS-DA 모델이 통계적으로 문제없이 잘 성립되었는지 확인하기 위해 PLS-DA parameter 를 분석한 결과 **Table 63** 에서 보여주는 바와 같이 data 들의 그림이 PLS-DA 상에서 잘 그려졌는지를 확인하는 R2X (cum) 와 R2Y (cum)의 값은 항비만 효과가 있었던 NaCl 와 MeJA 혼합처리군과 메밀싹 추출물 처리군 models 에서 약 0.621과 0.628, 약 0.570과 0.579 값을 각각 보여 fitting 이 잘 되었음을 보여주고 있으며 model 의 예측능력을 보여주는 Q2 (cum) 의 값 또한 약 0.329와 0.309로 나쁘지 않은 값을 보여주고 있다. 또한 overfit 이 되는지를 확인하기 위하여 permutation test (n=200) 를 갖는 7-fold cross validation 를 통해 R intercept 과 Q intercept 를 확인한 결과 각각 약 0.389 와 0.359, 약 -0.185 와 -0.204 을 보여 전혀 overfit 이 일어나지 않은 것으로 확인되었다. 그러나 MeJA 처리구인 경우 R2X (cum) 와 R2Y (cum) 의 값은 약 0.503 와 0.298, R intercept 과 Q intercept 값은 약 0.227 과 -0.100 으로 나쁘지 않지만 Q2 (cum) 값의 경우 약 0.078 로 매우 낮게 나와 시료간의 분리가 제대로 이루어지지 않았음을 보여주고 있다 (**Table 63**).

○ 그룹의 차이에 관여하는 물질을 확인하기 위하여 UPLC-Q-TOF MS 를 이용해 분석한 270개의 대사체들 중 유의적으로 차이 ( $p < 0.05$ ) 가 있는 86개 대사체들이 그룹간의 차이에 관여하는 물질들로 분석되었으나 이들 중 8개의 대사물질들 (Arginine, valine, carnitine, proline,

nicotinamide, phenylalanine, lysophosphatidylcholine (LysoPC) 18:2, LysoPC 18:1) 만이 동정되었다. Arginine, carnitine, proline, phenylalanine 인 경우 고지방 식이에 의해 그 함량이 감소하는 경향을 보였으나 항비만 효과를 보인 NaCl 와 MeJA 혼합처리군과 메밀싹 추출물 처리군에 의해 대부분 정상 수준으로 회복되는 것으로 확인되었다. 그러나 고지방 식이에 의해 함량이 증가되었던 valine, nicotinamide, LysoPC 18:2, LysoPC 18:1 의 경우 NaCl 와 MeJA 혼합처리군과 메밀싹 추출물 처리군에서도 정상수준으로 감소하지 않고 더 증가하는 경향을 보였다 (Table 64).

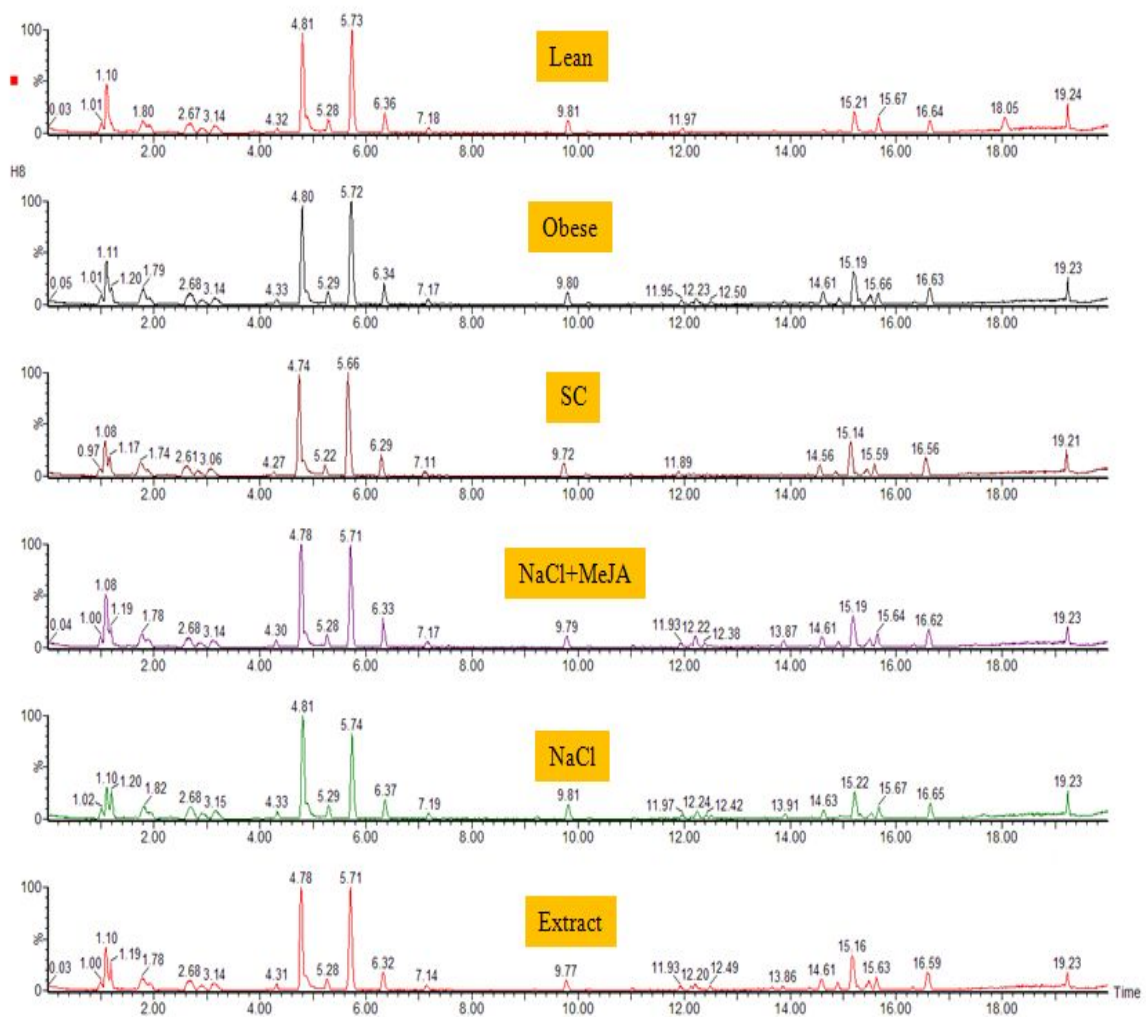


Fig. 190. UPLC-Q-TOF MS base peak intensity (BPI) profiles of serum metabolites of rat fed on normal or high-fat diet with the sprout extract or various buckwheat sprouts cultivated with/without MeJA or/and NaCl.

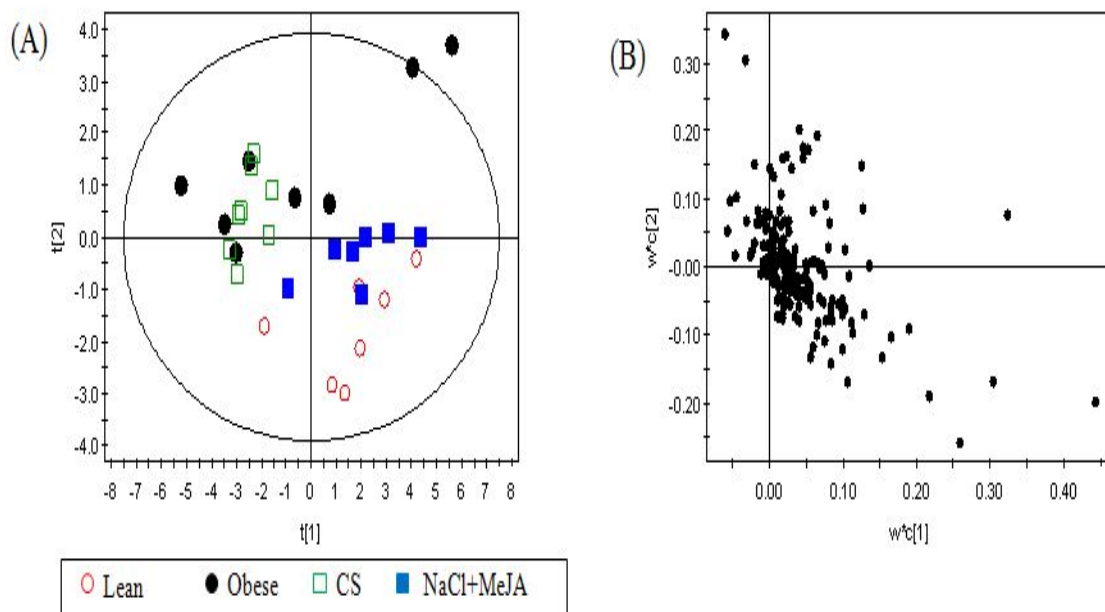


Fig. 191. PLS-DA score and loading plots of serum metabolites of rat fed on normal (lean) or high-fat diet (obese) with buckwheat sprouts cultivated with MeJA and NaCl (NaCl+MeJA).

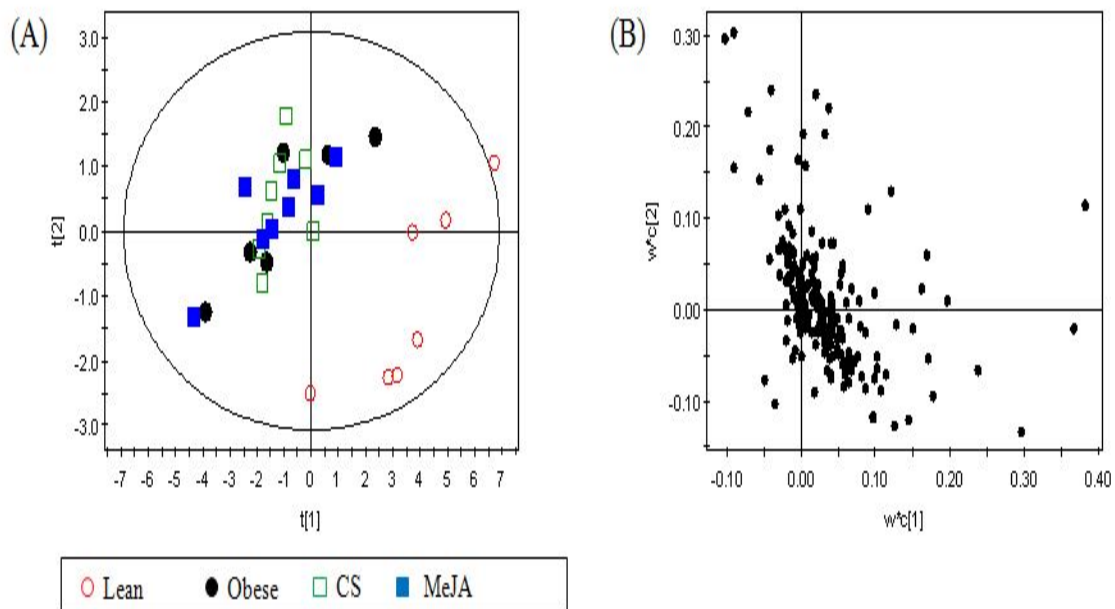


Fig. 192. PLS-DA score and loading plots of serum metabolites of rat fed on normal (lean) or high-fat diet (obese) with buckwheat sprouts cultivated with MeJA (MeJA).



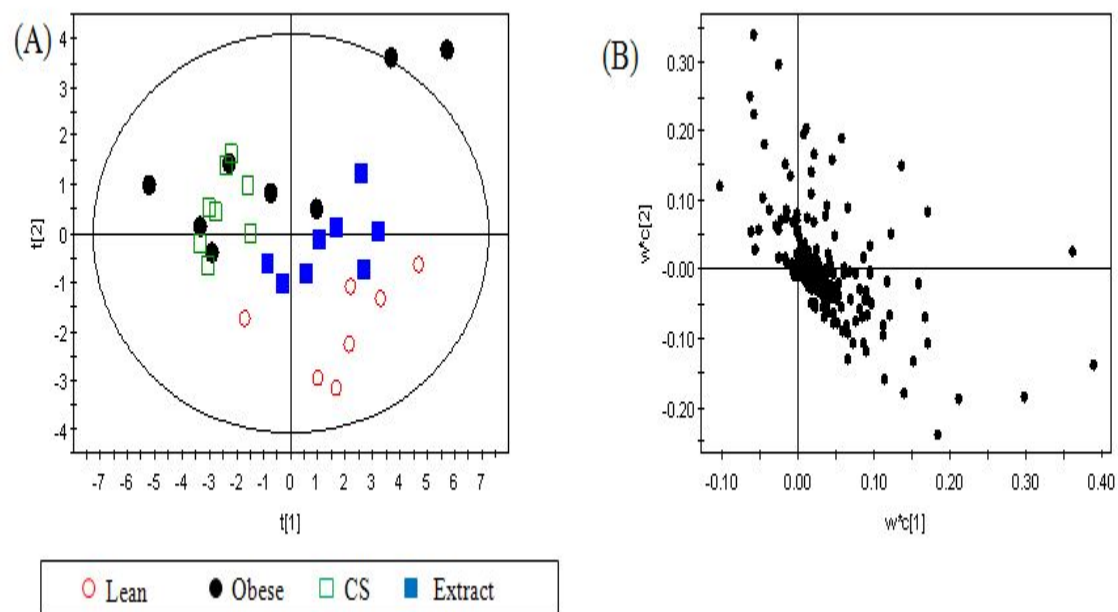


Fig. 193. PLS-DA score and loading plots of serum metabolites of rat fed on normal (lean) or high-fat diet (obese) with the sprout extract (extract).

Table 63. Summary of parameters used for assessing the quality of PLS-DA models

model	no.	R2X (cum)	R2Y (cum)	Q2 (cum)	R intercept	Q intercept
NaCl+MeJA	3	0.621	0.57	0.329	0.389	-0.185
MeJA	2	0.503	0.298	0.078	0.227	-0.100
Extract	3	0.628	0.579	0.309	0.359	-0.204

Table 64. Identification of serum metabolites analyzed by UPLC-Q-TOF MS and their fold-change analysis

No.	identity	exact mass (M+H)	actual mass (M+H)	mass error (mDa)	MS fragments	fold change (vs. lean)			
						Obese	CS	NaCl+MeJA	Extract
1	L-Arginine	175.1195	175.1201	-0.6	116, 70	0.61	0.62	1.01	0.92
2	L-valine	118.0868	118.0867	0.1	70, 58	1.16	1.03	1.47	1.51
3	carnitine	162.113	162.1134	-0.4	123, 103, 85, 60	0.40	0.55	0.27	0.84
4	L-proline	116.0712	116.0714	-0.2	70, 58	0.81	0.70	1.01	1.05
5	Nicotinamide	123.0558	123.0568	-1	106, 95, 80	1.12	1.62	2.58	2.54
6	L-phenylalanine	166.0868	166.0871	-0.3	120, 103, 93	0.69	0.73	1.07	0.97
7	LysoPC(18:2)	520.3403	520.3407	-0.4	504, 184, 104, 86	1.48	1.45	1.52	1.64
8	LysoPC(18:1)	522.356	522.3567	-0.7	341, 184, 104, 86	7.20	7.04	9.58	11.87

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 제 1 절 목표 달성도

본 연구는 국내 메밀싹기름채소의 수요창출을 확대시키기 위하여 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 메밀싹기름채소에 기능성을 향상시킬 방안으로 식물 방어 기작을 이용한 처리방법을 개발하여 고기능성의 메밀싹기름채소를 생산할 수 있는 기술을 개발하고, 기능성 메밀싹기름채소에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 지질대사 관련 개선 효과를 조사하고자 하였다. 또한 메밀싹기름채소의 기능성분을 추출하여 식품소재로서 활용성을 높이고자 소재제품을 개발코자 수행하였다. 본 연구의 효율적 수행을 위하여,

○ 1차년도에서는 고기능성 싹기름채소를 생산하기 위한 elicitor를 이용한 기능성 증진 효과에 따른 생산공정별 처리조건조사에 관하여 주력함으로써 본 재배 제조기술의 기술적 초기조건을 설정함과 동시에, 기능성 소재의 식품소재화를 위하여 대상 기능성 성분의 기술적 자료를 축적하였으며,

○ 2차년도에서는 1차년도의 연구결과에 대한 적용시험 등을 반복 수행하여 보완·수정함과 동시에 elicitor의 적정 처리조건 및 상호 병행처리 조건을 설정하여 3차년도의 적용실험을 위한 기술을 확립함과 동시에 기능성 성분의 추출 조건 설정 및 분리 기술을 구축하였다.

○ 3차년도에서는 현장 적용을 위한 기술적인 보완 및 반복 실험을 통하여 신뢰성을 높이고 고기능성 메밀싹기름채소의 유통실험 안정성을 평가함과 동시에 분말식품소재제품의 개발을 위하여 메밀싹기름채소의 기능성분에 대한 정제 분말 제조와 알긴산 및 emulsion 비드를 개발하여 소재식품으로서 가능성을 확인하였다. 이와 더불어, 기능성 증진 싹기름채소에 대한 지질대사 개선 효능을 *in vitro*와 *in vivo* 상에서 평가하였다.

○ 뿐만 아니라, 고기능성 메밀싹기름채소의 기존 제품과의 차별화를 위하여 metabolomics를 통한 메밀싹기름채소의 대사기전 구명 연구를 수행하였으며, 메밀싹기름채소 추출물에 대한 세포 실험을 통하여 세포독성 및 비만관련 대사 기전에 대한 연구를 추가적으로 수행하였다.

그 결과 elicitor를 단독 또는 병행 처리한 고기능성 메밀싹기름채소 재배 기술 확립, 메밀싹기름채소의 유효성분 추출조건 설정, 식물방어기작을 이용한 메밀싹기름채소의 기능성 평가 확

립, 메밀싹기름채소를 이용한 수용성 페놀 물질 개발, 및 알긴산 비드, emulsion 비드의 제조를 통하여 메밀싹기름채소의 고기능성 신선편이 제품에 대한 개발 가능성과 이를 소재로 한 식품 소재에 대한 다양한 응용 가능성을 확인함으로써 당초 계획에 따른 연구목표를 달성하였다.

## 제 2 절 관련 분야에의 기여도

본 연구는 국내 메밀싹기름채소의 수요창출을 확대시키기 위하여 친환경농법으로 재배·생산되고 있는 메밀싹기름채소에 기능성을 향상시킬 방안으로 식물 방어 기작을 이용한 처리방법을 개발하여 고기능성의 메밀싹기름채소를 생산할 수 있는 기술을 개발하고, 기능성 메밀싹기름채소에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 상에서 지질대사 관련 개선 효과를 조사하고자 하였다. 또한 메밀싹기름채소의 기능성분을 추출하여 식품소재로서 활용성을 높이고자 소재제품을 개발하였다. 이와같은 개발 기술이 관련 분야에 기여하는 바는 다음과 같다.

○ 국내에서 최근 웰빙에 대한 관심이 높아지면서 싹기름채소 및 어린잎 채소에 대한 각종 식품들이 높은 관심을 받고 있다. 하지만, 통상적으로 이러한 싹기름채소 또는 어린잎 채소에 존재하는 유효성분인 폴리페놀 성분들의 함량은 제한적인 상황이었다. 싹기름채소 및 어린잎 채소의 폴리페놀 함량을 증가시키기 위한 일반적인 수단이 유전적인 종자변형 또는 품종개량을 통해서 이루어지고 있다. 이에 반하여 식물방어기작을 이용한 적절한 재배 조건의 설정을 통해서 이러한 유전적인 변형없이 기능성을 높일 수 있는 기술로서 판단된다. 특히, 메밀싹기름채소는 단위 면적당 성체에 비하여 폴리페놀 함량 및 유효성분이 증가되고, 생육기간 또한 7일 이내로 다량의 생산이 가능함으로써 메밀싹기름채소의 맛과 색상 등에서 일정한 품질을 유지하면서 기능성만 증가된 제품 생산이 가능하게 되는데 대하여 본 기술개발이 크게 이바지하였다.

그 밖에도 본 연구에 의한 관련 분야의 기대효과를 정리하면 다음과 같다.

### 1. 기술적 측면

- 고기능성 싹기름채소 생산공정기술 개발기술력 제공
- 싹기름채소의 기능성을 이용한 식품소재화기술 제공
- 기능성 소재화를 통한 식품소재의 부가가치 제고기술 제공
- 기능성 식품 소재화를 통한 가공식품의 활용도 증진을 위한 기술 확보
- 식물방어기작을 이용한 기능성 증진 기술에 대한 기초자료 확보
- 식물방어기작 처리에 대한 대사기전 기초자료 확보

## 2. 경제·산업적 측면

- 국내 싹기름채소를 이용한 고기능성 싹기름채소의 개발로 인한 외국산 수입 싹기름채소의 대체 및 농가 소득 증대
- 고기능성 싹기름채소 개발로 싹기름채소 품종 개량에 대한 기간 비용 감소
- 고기능성 싹기름채소 개발로 싹기름채소에 대한 소비자들의 구매력 증대 및 국민 식생활 개선에 기여
- 국내 소비자 기호에 적합한 국내 싹기름채소에 대한 고기능화로 국내시장 활성화에 기여

# 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

## 제 1 절 연구개발 성과

### 1. 실용화·산업화 계획(기술실시 등)

- 기술이전 협의중: 에드팜 영농조합법인(참여기업)
  - 이전기술명 : 기능성 메밀새싹 재배기술 등

### 2. 기술지도 : 2개 업체

- 에드팜 영농조합법인 : 기능성 증진을 위한 메밀새싹 재배기술 등
- 두피밀식품 : 메밀싹기름채소 재배, 생산기술 등

### 3. 특허 : 2건

출원된 특허의 경우					등록된 특허의 경우				
출원연도	특허명	출원인	출원국	출원번호	등록연도	특허명	등록인	등록국	등록번호
2010	기능성 물질의 함량이 증진된 식물체의 재배방법	임정호 외 6명	대한민국	10-2010-0034981(2010. 04. 25.)					
2011	메밀싹기름채소 유래 천연 향산화물질을 포함한 조성물 제조	임정호 등	대한민국	2011년 출원 준비중					

### 4. 논문게재 성과 : 6건

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2008	이산화염소수 및 구연산처리에 따른 무 새싹과 종자의 미생물 제어 효과	박기재	임정호	김범근, 김중찬, 정진웅, 정승원	한국식품저장유통학회지	15(5)	국내	비SCI
2009	반응표면분석법에 의한 메밀 새싹 기능성분의 추출 조건 최적화	박기재	임정호	김범근, 정진웅, 김중찬, 이명현, 조영심, 정희용	한국식품저장유통학회지	16(5)	국내	비SCI
2011	Metabolomic analysis of phenolic compounds in buckwheat(Fagopyrum esculentum M.) sprouts treated with methyl jasmonate	김현진	임정호	박기재	J. Agric.Food Chem	59	국외	SCI

게재연도	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2011	Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds, PAL, rutin and antioxidant activity in buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> M.) sprouts	임정호	김현진	박기재, 김범근, 정진웅	FSB	투고중	국내	SCI
2011	The effect of salt in irrigation water on nutritional quality of buckwheat sprouts	김현진	임정호	박기재, 정진웅, 김범근	J. Agric.Food Chem	투고중	국외	SCI
2011	Buckwheat sprout extract inhibit adipocyte differentiation and ROS production in 3T3-L1 cells	이옥환	임정호	박기재, 김범근	Phytotheraphy Research	투고중	국외	SCI

5. 학술 대회 발표 성과 및 계획 : 8건

발표연도	논문명	저자			학술지명	국내외 구분
		주저자	교신저자	공동저자		
2009	Phenolic contents and enzyme inhibitory activities in buckwheat sprout( <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) in response to abiotic stresses	정희용	임정호	김현진, 박기재, 김범근, 김종찬, 정진웅, 정승원	제1차 국제메밀썩실포지움 (9월)	국내
2009	Metabolomic analysis of buckwheat sprout treated with methyl jasmonate	김현진	임정호	박기재, 김범근, 정진웅	제30회한국식품저장유통학회(11월)	국내
2009	Phenolic contents of buckwheat sprouts at different development stages depending on abiotic stresses	임정호		김현진, 박기재, 김범근, 정진웅, 김종찬	제30회한국식품저장유통학회(11월)	국내
2010	The effect of methyl jasmonate on phenolic compounds, rutin, PAL and antioxidant activity in buckwheat sprouts	임정호	이명현	박기재, 김범근, 정진웅, 김현진	International buckwheat research association (7월)	국외
2010	The Effect of Salt Stress on Phenolic Compounds, Rutin, PAL and Antioxidant Activity in Buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> Mönch) Sprouts	임정호	김현진	박기재, 김범근, 정진웅	제31회한국식품저장유통학회(9월)	국내
2010	The Effect of Methyl Jasmonate on Phenolic Profiles and Antioxidant Capacity of Buckwheat ( <i>Fagopyrum esculentum</i> Mönch) Sprouts	임정호	김현진	박기재, 김범근, 정진웅	제1차 International Congress on Food Technology(11월)	국외
2011	메밀썩채소의 루틴 및 항산화활성 증기를 위한 열화물과 MeJA의 병행처리 효과	조영심	임정호	박기재, 정진웅, 김범근	제5회한국냉동공학술대회(3월)	국내
2011	Effect of combined treatment MeJA, NaCl and light in enhancing antioxidant activities of Buckwheat sprouts	조영심	임정호	박기재, 정진웅, 김범근	제78차한국식품과학회(6월)	국내

## 6. 인력 양성 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
3	1			2		3			3

## 제 2 절 연구개발 결과 활용 계획

본 연구과제에서는 식물방어기작을 이용하여 메밀싹기름채소의 유효활성성분인 페놀 및 루틴의 함량을 효과적으로 향상시킬 수 있었다. 메밀싹기름채소는 신선한 상태 그대로 섭취하는 경우가 많으며, 본 연구성과를 활용하여 메밀싹기름채소를 재배 한다면 아무런 처리도 하지 않은 것에 비해 2배 이상 활성성분이 증가된 메밀싹기름채소를 재배/유통 할 수 있을 것이다. 또한 유효성분 함량이 증가된 메밀싹기름채소를 추출 및 정제과정을 통하여 메밀싹기름채소 유래 수용성페놀물질로 만들어 식품 소재로서의 활용이 가능할 뿐만 아니라 이를 이용해 알긴산 비드 등 다양한 제품으로 응용이 가능할 것이다.

위의 내용을 바탕으로 메밀싹기름채소로부터 페놀 및 루틴 등의 유용성분 함량을 증가시키는 방법에 대해 특허 1건을 출원하였고 메밀싹기름채소의 최적 추출방법 및 응용분야에 대한 국내논문 2편을 투고하였으며, 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소의 metabolomic 분석관련 국외논문 1편을 투고하였다. 또한, 유용성분 증진에 따른 메밀싹기름채소의 비만 억제 효과 관련 내용으로 국외논문 2편을 투고 중에 있으며, 지질대사 개선 메밀싹기름채소 제조방법 관련 특허 출원도 진행 중에 있다.

본 연구를 통해서 메밀싹기름채소를 비롯한 싹기름채소에 대한 식물방어기작 및 소재화 기술을 적용하고 유효 활성성분을 향상시킨다면 싹기름채소 및 관련 식품산업의 다양한 제품으로 적용 될 수 있을 것이라 여겨진다. 이에 본 연구에서 제시된 결과를 적용한 고기능성 메밀새싹의 재배와 상업화가 가능할 것으로 보이며, 시스템적인 처리 시설에 대한 보완 검토가 이루어지고, pilot scale의 실용화에 대한 연구가 차후 진행되어 기업형에 최적화공정이 확보된다면 보다 다양한 기술의 접목이 가능할 것으로 판단된다. 또한, 본 기술의 활용을 위해 참여기업 뿐만 아니라 메밀싹기름채소 재배업체, 싹기름채소 재배업체 등에서 많은 관심을 보이고 있어 개발기술에 대한 검토, 평가 및 협의를 통하여 기술을 이전하고자한다.

본 연구에서 , 추출물의 다양한 제품화에 대한 편의성 또한

연구수행 결과, 예상 활용분야는 다음과 같다.



○ 논문 투고

: 염화물처리에 따른 메밀싹기름채소의 영양성분 증폭효과에 관한 논문 투고

: Abiotic or biotic 복합 처리에 따른 메밀싹기름채소의 유효성분 증폭효과에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소의 루틴 및 항산화활성 증가를 위한 염화물과 MeJA의 병행처리 효과에 관한 논문 투고

: 식물방어기작을 적용한 메밀싹기름채소를 식이에 의한 *in vivo* 상에서의 지질 개선 효과에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소를 식이에 의한 *in vivo* 상에서의 지질개선 효과에 대한 metabolomics 분석에 관한 논문 투고

: 메밀싹기름채소 유래 천연 항산화물질을 포함한 조성물 제조에 관한 특허 출원

○ 메밀싹기름채소 등 싹기름채소류 수확 산지 및 베이비 채소 수확 산지 등

○ 싹기름채소 시스템 설계 및 제작업체

○ 천연 기능성 소재 산업

○ 유효 활성성분이 향상된 싹기름채소의 공급으로 인한 고품질/차별화 상품

○ 기능성 증진 싹기름채소의 brand화

○ 고품질의 싹기름채소 이용 제품 제조와 다양한 소재 제품의 활용한 기능성 식품화

○ 국내 천연물 유래 기능성 소재 개발업체 등

○ 새싹채소 시제품에 대한 자료를 통한 새싹채소 생산 업체를 대상으로 제품의 우수성에 대한 홍보를 통해 생산자 단체 등의 새싹채소 업체 등에 적극적으로 홍보할 방안임

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

### 해 외 출 장 보 고 서

#### I. 출장개요

##### 1. 출장목적

- 1st International Congress on Food Technology 2010 학술대회 참가 및 학술발표

2. 출장기간 : 2010. 11. 1(월) ~ 11. 7(일) / 4박7일

3. 출장지 : 터키, 안탈리아

##### 4. 출장자

- 임정호(산업지원본부 선임연구원)

#### II. 주요 활동 사항

##### 1. 학술발표

○ 포스터 발표 : 1건

- 4일(P.M. 13:30 ~ 14:15) : Poster Session 3; Fruits & Vegetable Science. Thursday, Nov 04, 2010; 13<sub>30</sub>-14<sub>15</sub>

Poster No	Pano no	Presenter	Title of Presentation
P467	3 154	Jeong-Ho Lim	The effect of methyl jasmonate on phenolic profiles and antioxidant capacity of buckwheat sprout

##### 2. 학회개요

- 1th International Congress on Food Technology은 기초식품영양, 응용식품공학, 식품가공 공학자 등이 참여한 학회임
- 식품기술관련 전문가들이 참석하여 정보 공유가 이뤄지고, '세계의 변화에 식품 과학 및 기술의 혁신'에 대한 주제로 식량 문제, 식품 기술의 강화 등에 대한 논의가 이루어짐
- 중동지역에서의 식품과학기술 성향과 기술 및 최근 관심분야와 중동 지역의 식품과학 진

행 정도에 대한 정보를 알 수 있는 학회임.

- 식품의 주제별 발표는 원료 및 첨가물, 전통음식과 기능, 식품화학, 생명공학, 영양과 건강, 포장기술 및 저장, 미생물학, 안전 및 법규 등에 대한 전반적인 관심도에 대한 현황을 볼 수 있는 학회임

### 3. 학술회의 참석



**TUESDAY, NOVEMBER 02**  
Registration : 13<sup>30</sup> - 18<sup>30</sup>  
Welcome Cocktail 19<sup>30</sup> - 21<sup>30</sup>

**WEDNESDAY, NOVEMBER 03**  
Registration : 08<sup>30</sup> - 09<sup>30</sup>

**Opening Session : 09<sup>30</sup> - 10<sup>30</sup>**

- Prof. A. Kadri HALKMAN; Head of the Association of Food Technology, Turkey
- Prof. İsafil KURTCEPHE; Rector of Akdeniz University, Turkey
- Prof. Walter SPIESS; IUFOSI Representative
- İsmail MENLİK; Federation of Food and Drink Industry Associations of Turkey
- Mehdi EKER; Minister of Agriculture and Rural Affairs, Turkey (In the Event of His Honoring)

Opening Concert: Halk & Yildan

**Coffee Break : 10<sup>30</sup> - 11<sup>00</sup>**

**Technical Session 1A – 11:00 to 12:30**  
**Functional and traditional foods, Nutrition and health**

- Chair:**  
-Prof. Muhtarrem Certei; Akdeniz University, Turkey  
-Prof. Átila KISS; Eszterhazy Károly University; Hungary
- Prof. Eugenia BEZIRTOĞLU (Invited Speaker); Democritus University of Thrace, Greece
  - Probiotics and the intestinal microflora overtime and space
  - Barg Yalınkılıç; Atlatik University, Turkey
  - The use of orange fiber in sucuk production
  - Prof. Vijay JAYASENA; Curtin University of Technology, Australia
  - Lupin incorporated novel healthy foods as a solution to obesity and malnutrition
  - Özlem BAYKUL; Danone Türkiye, Turkey
  - Functional foods & Health benefits

**Technical Session 1B – 11:00 to 12:30**  
**Food chemistry, biochemistry and physics**

- Chair:**  
-Prof. Murat BALABAN; Alaska University, USA  
-Prof. Scottwat BENJAKUL; Prince of Songkla University, Thailand

**Technical Session 2B : 09<sup>30</sup> - 10<sup>30</sup>**  
**Food ingredients and additives**

- Chair:**  
-Prof. Artemis KARAAİL; Yeditepe University, Turkey  
-Prof. Suhaila MORAMED; Putra Malaysia University, Malaysia
- Prof. Ünran UYGUN (Invited Speaker); Hacettepe University, Turkey
  - Food safety aspects of food colours
  - Prof. Nelsa ABBAS HEGAZY; National Research Center, Egypt
  - Physicochemical, sensory and functional properties of wheat-dum fruit flour composite cakes
  - Meryem GÖKSEL; Erciyes University, Turkey
  - Production of dietary fiber from orange albedo and using in mayonnaise as model food
  - Cem KÖYLÜOĞLU; DSM, Turkey
  - How can we "health" you?

**Coffee Break : 10<sup>30</sup> - 11<sup>00</sup>**

**Technical Session 2C : 11<sup>00</sup> - 12<sup>30</sup>**  
**Cereal science and technology**

- Chair:**  
-Prof. İsmail H. BOYACI; Hacettepe University, Turkey  
-Dr. Kristina KUKUROVA; VUP Food Research Institute, Slovak Republic
- Prof. Stanley CALVIN (Invited Speaker); Bake Tran, UK
  - Applications of baking technology for delivering health benefits
  - Sasu KIJORANTA; University of Helsinki, Finland
  - Effects of process parameters and addition of brewer's spent grain on the properties of barley-based extrudates
  - Dr. Kaori FUJITA; National Food Research Institute, Japan
  - Prediction for degrees of Fusarium mycotoxin in wheat using excitation - emission matrix
  - Aslı KAYIRI; UNO, Turkey
  - Towards a better-nourished Turkey

**Technical Session 2D : 11<sup>00</sup> - 12<sup>30</sup>**  
**Food packaging technologies and storage**

- Chair:**  
-Prof. Tamer BAYSAL; Ege University, Turkey  
-Assoc. Prof. Abdolrasoul OROMIHEIE; Iran Polymer and Petrochemical Institute, Iran
- Assoc. Prof. Zehra AYHAN (Invited Speaker); Mustafa Kemal University, Turkey
  - Potential applications of nanotechnology in food packaging
  - Amir MOUSAVI K.; Islamic Azad University, Iran
  - Study on effect of PET pieces and storage conditions on fatty acids profile and some quality indexes of common oils in Iran
  - Doğan ERBERK; ASD-Packaging Manufacturers Association, Turkey
  - New trends in packaging industry
  - Tuba ALİM; TetraPak, Turkey
  - Aspic Packaging

**Lunch Break : 12<sup>30</sup> - 13<sup>30</sup>**

**Poster Session 03 : 13<sup>30</sup> - 14<sup>15</sup>**

- Prof. Harun PARLAR (Invited Speaker); Technical University Munich, Germany
- Isolation of biological active compounds from useful food and pharmaceutical matrices using tweezing adsorptive bubble separation (TABS)
- Prof. Jamilah BAKAR; Putra Malaysia University, Malaysia
- The rheological and gelling behavior of Tilapia surimi with added sago starch
- Assoc. Prof. Abdalbasit Adam MARIOD; Sudan University of Science & Technology, Sudan
- Preparation and characterization of gelatine from two Sudanese edible insects
- Asist. Prof. Hilar ŞAHİN; Akdeniz University, Turkey
- Techniques for detection of food aroma compounds

**Lunch Break : 12<sup>30</sup> - 13<sup>30</sup>**

**Poster Session 01: 13<sup>30</sup> - 14<sup>15</sup>**

**Technical Session 1C : 14<sup>15</sup> - 15<sup>45</sup>**  
**Food microbiology and biotechnology**

- Chair:**  
-Prof. Alberto MAS; Rovira i Virgili University, Spain  
-Prof. Eugenia BEZIRTOĞLU; Democritus University of Thrace, Greece
- Prof. Rijckelt BEUMER (Invited Speaker); Wageningen University, Netherlands
  - How to prevent foodborne disease
  - Prof. Dilek HEPERKAN; Istanbul Technical University, Turkey
  - Characteristics of fungal flora after harvesting and their effects of mycotoxin contamination in dried figs (The Mould Symposium)
  - Dr. Seniz KARABAYIKLI; Ege University, Turkey
  - Antimicrobial effect of sour pomegranate sauce on 'XISIR'; A traditional appetizer
  - Dr. Ash İŞÇİ; Ankara University, Turkey
  - Bioethanol production potential of Turkey as an alternative fuel from agricultural residues: A review

**Technical Session 1Da : 14<sup>15</sup> - 15<sup>00</sup>**  
**Regulations**

- Chair:**  
-Prof. Feramuz ÖZDEMİR; Akdeniz University, Turkey  
-Prof. Vijay JAYASENA; Curtin University of Technology, Australia
- Güher ÇELTEK; Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Turkey
  - Food safety in Turkey in the process of negotiations with the EU
  - Dr. İsmail MERT; Consultant; Federation of Food and Drink Industry Associations of Turkey
  - Turkish Food Regulations

**Technical Session 1Db : 15<sup>00</sup> - 15<sup>45</sup>**  
**Maillard and Nanotechnology Group**

- Chair:**  
-Prof. Monika PISCHETSRIEDER; University of Erlangen, Germany  
-Prof. Vural GÖKMEN; Hacettepe University, Turkey
- Dr. Richard H. STADLER; Nestle Research Center, Switzerland
  - Process-induced food contaminants: Progress in mitigation and challenges ahead
  - Dr. Francisco J. MORALES; Spanish National Research Council (CSIC), Spain
  - An update on Melanoidins Research

**Coffee Break : 15<sup>45</sup> - 16<sup>15</sup>**

**Technical Session 2E : 14<sup>15</sup> - 15<sup>45</sup>**  
**Fruits and vegetable science and technology**

- Chair:**  
-Prof. Rusly ABDUL RAHMAN; Putra Malaysia University, Malaysia  
-Prof. Sedat VELİOĞLU; Ankara University, Turkey
- Prof. Murat BALABAN (Invited Speaker); Alaska University, USA
  - Dense phase carbon dioxide non-thermal processing of beverages
  - Dr. Jorge E. LOZANO; Piaquiqui (Uns-Conicet), Argentina
  - Respiration rate of red delicious apples under aerobic conditions: Influence of storage temperature
  - Cam BALTACIOĞLU; Middle East Technical University, Turkey
  - Use of Jerusalem artichoke as a potato substitute in chips products
  - Mustafa ASPARUK; MEYED, Turkey
  - Fruit-full Turkey

**Technical Session 2F : 14<sup>15</sup> - 15<sup>45</sup>**  
**Dairy science and technology**

- Chair:**  
-Prof. Celaslettin KOÇAK; Ankara University, Turkey  
-Prof. Georgehe MARIA; University Polytechnic of Bucharest, Romania
- Dr. Zeynep USTUNOL (Invited Speaker); Michigan State University, USA
  - Yogurt fortification with predigested, germinated whole soybean powder for enhanced therapeutic benefits
  - Prof. Helmut MAYER; University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Austria
  - Extended shelf life (ESL) milk - valuable dairy product or milk with excessive heat load?
  - Mariam ALMARDANOVA; Almaty Technological University, Kazakhstan
  - Manufacturing of Kazakh national dairy products
  - Gülay ÖZCAN; SETBIR, Turkey
  - World and Turkish dairy industry: Today and future prospects

**Coffee Break : 15<sup>45</sup> - 16<sup>15</sup>**

**Technical Session 2G : 16<sup>15</sup> - 17<sup>45</sup>**  
**Meat science and technology**

- Chair:**  
-Prof. Mükannem KAYA; Atlatik University, Turkey  
-Prof. Serpil ŞAHİN; METU, Turkey
- Prof. Friedrich-Karl LÖCKE (Invited Speaker); University of Applied Sciences, Germany
  - Microbiology and the consumer - Recent developments
  - Ebru BAYRAK; Selçuk University, Turkey
  - Use of natural antioxidants in meat products
  - Prof. Meltem SERDAROĞLU; Ege University, Turkey
  - Strategies of improving healthier meat products
  - Milek US; National Feed Meat Council, Turkey
  - Turkey and world meat outlook: Current situation and prospects

**Technical Session 2H : 16<sup>15</sup> - 17<sup>45</sup>**  
**Lipid science and technology**

- Chair:**  
-Prof. Aziz TEKİN; Ankara University, Turkey  
-Dr. Assan OSPANOV; Almaty Technological University, Kazakhstan

**Technical Session 1E : 16<sup>15</sup> - 17<sup>45</sup>**  
**Food microbiology and biotechnology**

- Chair:**  
-Prof. Rijckelt BEUMER; Wageningen University, Netherlands  
-Prof. Dilek HEPERKAN; Istanbul Technical University, Turkey
- Asist. Prof. Birca MERCANOĞLU TABAN; Gazi University, Turkey
  - Evaluation of PCR and real-time PCR methods for rapid detection of foodborne pathogens
  - Ceyda GÜROL; Yeditepe University, Turkey
  - Elimination of bacteria in milk by plasma corona discharge technology
  - Dilek B. YAMAN; Aybak Natura, Turkey
  - Qualitative detection of genetically modified organisms in foods by real time PCR
  - Selin KALKAN; Çukurova University, Turkey
  - Bio-control of some food-borne pathogenic bacteria by bacteriophage

**Technical Session 1F : 16<sup>15</sup> - 17<sup>45</sup>**  
**Maillard and Nanotechnology Group**

- Chair:**  
-Dr. Richard H. STADLER; Nestle Research Center, Switzerland  
-Dr. Francisco J. MORALES; Spanish National Research Council (CSIC), Spain
- Prof. Monika PISCHETSRIEDER; University of Erlangen, Germany
  - Chemistry and analysis of sugar degradation reactions
  - Prof. Eyal SHIMONI; Israel Institute of Technology, Israel
  - From molecular complexes to continuous nanostructuring of microparticle encapsulated nutrients
  - Prof. Vincenzo FOGLIANO; University of Naples, Italy
  - Strategy for new functional products using encapsulation technology
  - Prof. Vural GÖKMEN; Hacettepe University, Turkey
  - Effects of nanoencapsulated ingredients on food quality

**Poster Session 02 : 17<sup>45</sup> - 18<sup>30</sup>**

**THURSDAY, NOVEMBER 04**

**Technical Session 2A : 09<sup>00</sup> - 10<sup>30</sup>**  
**Food legislation**

- Chair:**  
-Prof. Aziz EKŞİ; Ankara University, Turkey  
-Dr. Carmen DIAZ-AMIGO; Eurofins Scientific Group, Germany
- Patek ATAMAN (Invited Speaker); UCTEA Chamber of Food Engineers, Turkey
  - Food legislation approach in Turkey
  - Nergis ÖZBAĞ; Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Turkey
  - The integration of Turkey to EFS Activities
  - Dr. Bert POPPING; Eurofins Scientific Group, UK
  - Allergen thresholds in legislation - Is it making the food safer?
  - Dr. Hasan ALKAN; Gamma Pak, Turkey
  - Food irradiation technology, legislation and application in Turkey

-Prof. Heinz-Dieter ISENGARD (Invited Speaker); University of Hohenheim, Germany

- Control of the degradation of frying fats during usage
- Dr. Karamatollah HEZAEI; Tehran University, Iran
- Parameters affecting the enzyme-assisted extraction of vegetable oil
- Onur KETENOĞLU; Ankara University, Turkey
- Usage of dietary nano fibers in food emulsions
- Mein YURDAGÜL; MUMSAD, Turkey
- Turkish margarine industry: From past to present

**Poster Session 04 : 17<sup>45</sup> - 18<sup>30</sup>**

**Get-together Reception & Gala Dinner 19<sup>00</sup> - 20<sup>30</sup>**

**FRIDAY, NOVEMBER 05**

**Technical Session 3A : 09<sup>00</sup> - 10<sup>30</sup>**  
**Food engineering**

- Chair:**  
-Prof. Spasenja MILANOVIĆ; Novi Sad University, Serbia  
-Dr. Junichi SUGIYAMA; National Food Research Institute, Japan
- Prof. Gyula VATAI (Invited Speaker 1); Corvinus University of Budapest, Hungary
  - Concentration of aroma and vitamin rich fruit juices by complex membrane technology
  - Prof. Hao FENG (Invited Speaker 2)
  - University of Illinois at Urbana, USA
  - Ultrasound technology in food processing and preservation
  - Assoc. Prof. Dr. Gülgün Y. TIRYAKI; Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Turkey
  - Potential applications of HS-SFME/GC in oxidized vegetable oils
  - Dr. Malaine MOHAMEDI; University Ibn Zohr, Morocco
  - Detection of accidental fish delecting using non-destructive ultrasonic technique

**Technical Session 3B : 09<sup>00</sup> - 10<sup>30</sup>**  
**Food safety**

- Chair:**  
-Prof. Sagarika EKANAYAKE; Institute of Sri Jayewardenepura, Sri Lanka  
-Dr. Elzbieta Okuszk WALCZAK; University of Fermentation Technology & Microbiology, Poland
- Dr. Vijay JUNEJA (Invited Speaker) USDA-ARS, USA
  - Food safety issues/challenges in the 21<sup>st</sup> century and the application of predictive microbiology
  - Dr. Aija MELNGALE; Food Safety, Animal Health and Environmental Scientific Institute, Latvia
  - Implementation of food safety legislation in catering establishments in Latvia
  - Dr. Carmen DIAZ-AMIGO; Eurofins Scientific Group, Germany
  - New gluten labeling - How safe are celiac sufferers?
  - Dr. Soheyl ESKANDARI; Food & Drug Laboratory and Research Center, Iran
  - International trade and food safety of hormone residues in foodstuffs

**Coffee Break : 10<sup>30</sup> - 11<sup>00</sup>**

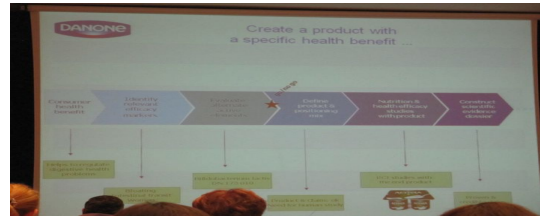
**Poster Session 05 : 11<sup>00</sup> - 11<sup>45</sup>**  
**Best Poster Announcement & Closing Session : 11<sup>45</sup> - 12<sup>30</sup>**

- 접촉인물 : 1th International Congress on Food Technology Scientific Program 관련 식품연구원자 다수

#### 4. 학술대회 주요내용

##### ○ Technical session 및 Forum

Technical session은 A~G로 구분되며 영양·기능성식품의 개발에서부터 식품화학, 식품 미생물, 나노기술, 식품첨가물, 식량과학, 식품포장 및 저장, 신선과채류 유통기술, 유제품 과학기술, 지질과학, 식품안전성 등에 대한 다양한 연구결과 및 업체들의 정보를 접할 수 있었음을 보고함



- 이번 학회 forum의 주요 주제중 하나인 식품포장의 기술동향과 관련하여 나노기술의 접목을 통해 보다 안전하고 높음 품질의 제품 유지기술에 대한 주제발표가 있었으며, 이러한 기술을 접목한 주스 및 신선채소류에 대한 다양한 정보를 제공하였음. 현행 국내의 포장 연구진행 방향과 유사한 흐름을 가지고 있으며, 타 연구영역의 공유를 통해 다양한 활용성을 증대 시키고 있음을 보고함

- technical session 중 비파괴 살균(방사선조사)에 대하여 1999년에 법적인 마련을 통하여 방사선 조사가 터키에서 상업적으로 진행되고 있으며, 처리 품목을 7 group으로 구분하여 최적 조건 하에서 이를 진행하도록 하고 있음을 보고함. 터키에서 방사선조사 물량은 5년평균 3,576 톤/1년 정도이며 매년 증가하는 경향을 나타내고 있으며, 향신료 및 건조제품에 대한 조사 역할이 강조되고 있음을 보고함.

- 그 외, Danone의 건강기능식품에 대한 연구 방향과 제품화에 대한 시각에 대한 보고와 인체의 미생물오염에 대한 환경 및 식품적 측면에서의 다양한 실험 결과에 대한 논의 등 다양한 시각에서의 식품기술 및 평가에 대한 기술적 관점이 있음을 보고함

P467 [4일(P.M. 13:30 ~ 14:15)]

## THE EFFECT OF METHYL JASMONATE ON PHENOLIC PROFILES AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF BUCKWHEAT SPROUT

In this study it was shown that buckwheat sprout treated with methyl jasmonate (MeJA) synergistically enhanced the accumulation of phenolic compounds. The efficacy of spray of MeJA various concentrations and intensities during germination and growth of buckwheat sprout was assessed. Spray application of 0.1 mM MeJA at germination, or day 1 of growth was minimally effective resulting in approximately 5% increase in total phenolics and antioxidant activity (AOA). Treatment on each of the 3 days and 5 days of growth increased total phenolics by 40%. Results indicated that abiotic stress-induced phenolic compounds activity were dependent upon MeJA concentrations and exposure intensity. The total phenolics correlated with AOA. In addition, stresses affected the phenolic profiles. The different proportions of homoorietin, orientin, rutin and vitexin, for each stress, influenced the specific AOA of the phenolic profiles. The rutin was mostly affected by the methyl jasmonate treatment compared to vitexin, homoorientin or orientin. Exposure to combined abiotic stresses could provide more AOA to buckwheat sprout and be a less expensive alternative to genetic modifications and breeding programs.

### ◆ Introduction

In recent years, increasing attention has been paid by consumers to the health and nutritional aspects of horticultural products. Fruits and vegetables contain high levels of biologically active components that impart health benefits beyond basic nutritional value.

Buckwheat(*Fagopyrum esculentum* Moench) is not a cereal but is usually grouped with cereals due to its ways of cultivation and utilization. Buckwheat has been used both as a food and a traditional medicine. Buckwheat is abundant in nutrients, such as protein, amino acids, and minerals. Buckwheat is cited as an origin plant of rutin, which is a kind of flavonol glycoside compounds used in preventing edema, haemorrhagic diseases, and

stabilizing high blood pressure due to its effectiveness in controlling blood vessel.

Methyl jasmonate (MeJA) is a substance used in plant defense and also under early research for cancer treatment in humans. Plants produce methyl jasmonate in response to many biotic and abiotic stresses, which build up in the damaged parts of the plant. Jasmonates act as signaling compounds for the production of phytoalexins. Methyl Jasmonate is a group of plant stress natural hormones. In previous studies, methyl jasmonate have been considered as powerful inducers in many various plants.

The objective of the study was to examine the effect of MeJA treatment at different concentrations and intensities on the content of rutin and total phenolic, and antioxidant activity (AOA) of buckwheat sprouts.

## ◆ Results

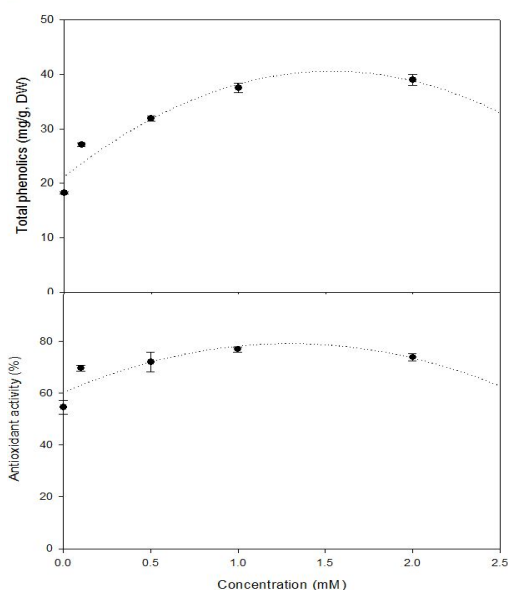


Fig. Total phenolics (mg/g, DW) and antioxidant activity (%) of buckwheat sprouts treated with various methyl jasmonate concentrations. Data represent mean  $\pm$  standard deviation of three replications, on a dry basis.

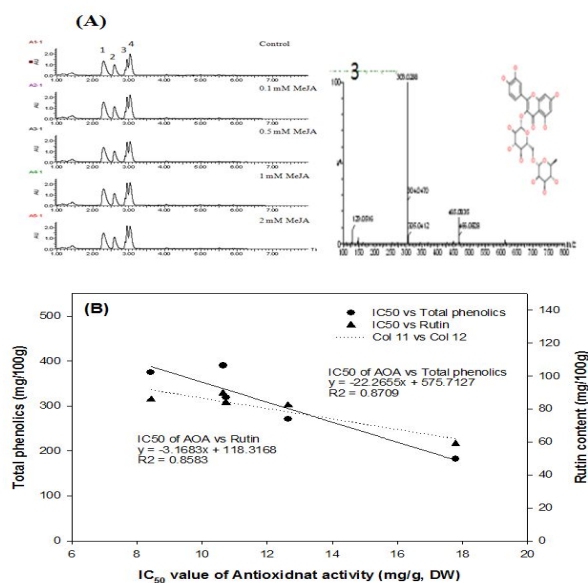


Fig. (A) UPLC chromatogram profiles and mass spectrum of phenolic compounds identified of extracts of buckwheat sprouts treated with various MeJA concentrations and from buckwheat sprouts. (B) Correlations between IC<sub>50</sub> value of AOA and total phenolics (left y axis) and rutin content (right y axis) for buckwheat sprouts.

(1: homoorietin, 2: orentin, 3: rutin, 4: vitexin)

Fig. Free sugar content(%) of buckwheat sprout extracts.

Samples		Fructose	Glucose	Maltose	Sucrose	Total
Seed		0.001	0.004	0.098	0.008	0.111
Control	Germination	0.0050	0.0220	0.0750	0.0080	0.1100
	A.G. 1day	0.0310	0.1460	0.1000	0.0050	0.2820
	A.G. 3day	0.2610	0.5080	0.0900	0.0030	0.8620
	A.G. 5day	0.3370	0.5730	0.0000	0.0000	0.9100
	A.G. 7day	0.4350	0.7030	0.0100	0.0080	1.1560
0.1mM	Germination	0.0050	0.0190	0.0000	0.0080	0.0320
MeJA	A.G. 1day	0.0160	0.0840	0.0000	0.0060	0.1060
	A.G. 3day	0.1510	0.3810	0.0000	0.0030	0.5350
	A.G. 5day	0.2370	0.4890	0.0050	0.0050	0.7360
	A.G. 7day	0.2130	0.5280	0.0110	0.0040	0.7560

Fig. Organic acid content(mg/100g) of buckwheat sprout extracts.

Samples	Oxalic Acid	Tartaric Acid	Formic Acid	Malic Acid	Acetic Acid	Total	
Seed	44.0805	29.7900	9.883	366.143	1242.527	888.0885	
Control	Germination	20.4265	57.143	3.0075	65.544	25.665	158.9535
	A.G. 1day	22.9845	65.9345	5.619	88.6165	42.249	225.4035
	A.G. 3day	70.847	127.278	12.8645	1375.2145	119.338	1705.542
	A.G. 5day	159.292	84.3095	18.521	2685.715	234.773	3182.6105
	A.G. 7day	297.7045	104.066	22.6915	3731.8355	290.217	4446.5145
0.1mM	Germination	20.148	62.6665	3.595	56.308	23.996	126.5615
MeJA	A.G. 1day	25.7555	67.5205	4.378	78.157	32.569	208.38
	A.G. 3day	67.8975	123.989	13.2715	2069.8885	132.2435	2407.29
	A.G. 5day	123.6035	89.769	29.413	5390.662	391.038	6024.4855
	A.G. 7day	366.903	95.053	12.7375	8494.769	660.8925	9630.355

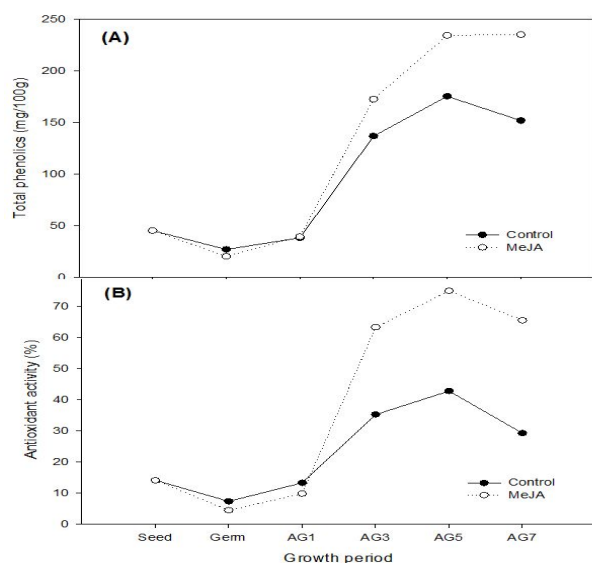


Fig. Total phenolics (A)(mg/g, DW) and antioxidant activity (B)(%) of buckwheat sprouts treated with 0.1 mM methyl jasmonate.

(Control: non-treatment, MeJA: 0.1 mM Methyl jasmonate, Germ: germination time, AG1: the 1day after germination, AG3: the 3day after germination, G5D: the 5 day after germination, AG7: the 7day after germination.)

## ◆ References

- Hashimoto, K., Kawamata, S., Usui, N., Tanaka, A., Uda, Y., 2002. In vitro induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in human hepatoma cells by food extracts. *Cancer Lett* 180:1-5.
- Kris-Etherton, P.M., Etherton, T.D., Carlson, J., Gardner, C., 2002. Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease. *Current Opinion Lipidol* 13:397-407.
- Marshall, H. G., Pomeranz, Y., 1982. Buckwheat description, breeding, production and utilization. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in cereal science and technology* (pp. 157-212). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemistry.
- Xiaoling, H., Xie, Z. N., Na, Y., Jinliang, L., 1992. Outline of the investigation on the leaf of *F. tataricum* by the means of traditional chinese medicine and western modern medicine. In *Proceedings of the 5th international symposium on buckwheat, 20-26 August, Taiyuan, China*, pp. 470-476.
- Havsteen, B., 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32: 1141-1148.
- Flescher, E., 2005. "Jasmonates--a new family of anti-cancer agents". *Anticancer Drugs* 16 (9): 911-6.
- Yamiguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J., 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1201-1204.
- Singleton, V.L., Joseph, A., Rossi, J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *AmJ Enol Vitic* 16:144-58.
- Ke, D., Saltveit, M.E., 1986. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *Hortscience* 21: 1169-1171.
- Kweon, M.H., Hwang, J.J., Sung, H.C., 2001. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J. Agric. Food Chem.* 49: 4646-4655
- Kim, H. J., Chen, F., Wang, X., & Choi, J. H. 2006. Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate and metabolic enzymes in radish sprout (*Raphanus sativus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7263-7269.



## 제 7 장 참고문헌

1. A.B. Khattak, A.Zeb, N, Bibi, S. A. Khalil, M.S. Khattak, Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) prouts. *Food Chemistry*, 104, 1074 - 1079. 2007
2. Ahmad, J. & Bano, M. (1992) The effect of sodium chloride on the physiology of cotyledons and mobilization of reserve food in *Cicer arietinum*. *Pak. J. Bot.* 24, 40-48.
3. Anderson JW, Jones AE, Riddell-Mason S. 1994. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J Nutr* 124: 78-83
4. AOAC, 1984, Official Methods of Analysis 14th ed. Method 9.110,. Association of official analytical communities, Arlington, VA, USA.
5. Ayala-Zavala JF, Wang SY, Wang CY, Gonz'alez-Aguilar GA. Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit. *Eur. Food Res. Technol.* 221: 731 - 738 (2005)
6. B, Obermuller, S. Puntarulo, D. Abele, UV-tolerance and instantaneous physiological stress responses of two Antarctic amphipod species *Gondogeneia antarctica* and *Djerboa furcipes* during exposure to UV radiation. *Marine Environmental Research*, 64, 267 - .285, 2007
7. Badshah, A., Zeb, A., & Sattar, A. Effect of soaking, germination and autoclaving on selected nutrients of rapeseed. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 34, 446 - .448. 1991.
8. Barillari, J., Cervellati, R., Costa, S., Guerra, M. C., Speroni, E., Utan, A. and Iori, R., 2006, Antioxidant and choleric properties of *Raphanus sativus* L. sprout(Kaiware Daikon) extract, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 54, No. 26, pp. 9773-9778.
9. Bates SR. 1979. Accumulation and loss of cholesterol esters in monkeys arterial smooth muscle cells exposed to normal and hyperlipidemic serum lipoproteins. *Artherosclerosis* 43: 165-176
10. Benoit MA, Baras B, Gillard J.Preparation and characterization of protein-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery. *Int. J. Pharm.* 184: 73-84 (1999)

11. Benzie, I. F. F. and Strain, J. J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay, *Analytical Biochemistry*, Vol. 239, pp. 70-76.
12. Bi HH, Zeng RS, Su LM, An M, Luo SM, Rice allelopathy induced by methyl jasmonate and methyl salicylate. *J Chem Ecol.*, 2007
13. Bibi, N., Chaudry, M. A., Khan, F., Ali, Z., & Sattar, A. Phenolics and physicochemical characteristics of persimmon during post-harvest storage. *Nahrung/Food*, 45, 82 - 86. 2001.
14. Boveris, A., Biochemistry of free radicals: from electrons to tissues. *Medicina* 58, 350 - 356, 1998
15. Boyd GS, Eastwood MA, MacLean N. Bile acids in the rat : Studies in experimental occlusion of the bile duct. *J Lipid Research* 7: 83-94 (1966)
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-255 (1976)
17. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PFW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. 1986. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. *JAMA* 256: 2835-2838
18. Chanjirakul K, Wang SY, Wang CY, Siriphanich J. Effect of natural volatile compounds on antioxidant capacity and antioxidant enzymes in raspberries. *Postharvest Biol. Technol.* 40: 106 - 115 (2006)
19. Chanjirakul K, Wang SY, Wang CY, Siriphanich J. Natural volatile treatments increase free-radical scavenging capacity of strawberries and blackberries. *J. Sci. Food Agric.* 87: 1463 - 1472 (2007)
20. Chaturvedi R, Krothapalli K, Makandar R, Nandi A, Sparks AA, Roth MR, Welti R, Shah J. Plastid omega3-fatty acid desaturase-dependent accumulation of a systemic acquired resistance inducing activity in petiole exudates of *Arabidopsis thaliana* is independent of jasmonic acid. *Plant J.*, 2007
21. Chen L, Remondetto GE, Subirade M. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 272-283 (2006)
22. Chitra, U., Singh, U., & Rao, P. V. Phytic acid, in vitro protein digestibility, dietary fiber, and minerals of pulses as influenced by processing methods. *Plant Foods for*

- Human Nutrition, 49, 307 - 316. 1996.
23. Choi, H.J., Han, M.J., Beak, N.I., Kim D.H., Jung, H.G. and Nam, J.K., Hepatoprotective effects of *Brassica rapa* (Turnip) on d-galactosamine induced liver injured Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* 37(4), 258-265, 2006
  24. Choung MG. Development of Analytical Method for Rutin in Buckwheat Plant using High Performance Liquid Chromatography. *Korean J. Crop Sci.* 50(S), 181-186 (2005).
  25. Corzo-Martinez et al. Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science and Technology*, 2007, 18, 609-625
  26. Couch JF, Naghski J, Krewson CF. Buckwheat as a source of rutin. *Science*, February: 197 - 198 (1946)
  27. Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical. Pharma.* 61: 177-178 (1997)
  28. de Bruxelles, G.L., Roberts, M.R., 2001, Signals regulating multiple responses to wounding and herbivores. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 20, 487-521
  29. Dixon RA, Paiva NL. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085 - 1097 (1995)
  30. Dunaif G, Schneeman BO. The effect of dietary fiber on human pancreatic enzyme activity *in vitro*. *Am. J Clin. Nutr.* 34: 1034-1035 (1981)
  31. Dunlap, W.C., Shick, J.M., Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective. *J. Phycol.* 34, 418 - 430. 1998
  32. Fan D, John J, Kriton KH. . Effects of glyphosate, chlorsulfuron, and methyl jasmonate on growth and alkaloid biosynthesis of jimsonweed (*Datura stramonium* L.)82(1):16-26(2005)
  33. Farmer EE, Ryan CA. Interplant communication: air-borne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 7713 - 7716 (1990)
  34. Filho, E. G. & Sodek, L. (1988) Effect of salinity on ribonuclease activity of *Vigna unguiculata* cotyledons during germination. *Plant Physiol.* 132, 307-311
  35. Flescher E. Jasmonates--a new family of anti-cancer agents. *Anticancer Drugs.* 16: 911 - 916 (2005)

36. Friedewald WT, Ley RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499–502
37. Frohnmeyer, H., Staiger, D., 2003, Ultraviolet B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant Physiol.* 133, 1420–1428
38. Giorgi, A., Mingozi, M., Madeo, M., Speranza, G., & Cocucci, M. (2009). Effect of nitrogen starvation on the phenolic metabolism and antioxidant properties of yarrow (*Achillea collina* Becker ex Rchb.). *Food Chemistry*, 114(1), 204–211.
39. Gordon T, Castelli WP, Hortland MC, Lannel WB, Dawber TR. 1977. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease; the Framingham study. *Am J Med* 62: 707–714
40. Gorinstein S, Vargas OJM, Jaramillo NO, Salas IA, Ayala ALM, Arancibia-Avila P, Toledo F, Katrich E, Trakhtenberg S. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *Eur. Food Res. Technol.* 225: 321 - 328 (2007)
41. Gosslau A, Chen KY. Nutraceuticals, apoptosis, and disease prevention. *Nutrition* 20: 95 - 102 (2004)
42. Granfeldt Y, Liljeberg H, Drews A, Newman R, Bjork I. Glucose and insulin response to barley products: influence of food structure and amylose-amylopectin ratio. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 1075–1082 (1994)
43. Guzey, D and D. McClements, D.J Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, Volumes 128–130, 21 227–248. 2006.
44. H. Sandermann, D. Ernst, W. Heller and C. Langebartels, Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends in plant science.* 3(2), 47–50, 1998
45. Ha J. H. and Kim D. H., 1996, Changes in the Physico-Chemical properties of the meals from the defatted sesame seeds at various roasting temperature and time, *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 28, pp. 246–252.
46. Hajlaoui Hichema, Denden Mounir, El Ayeb Naceur, 2009, Differential responses of two maize (*Zeamays*L.) varieties to salt stress: Changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Industrial Crops and Products*, 30, 144–151
47. Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. Plant cellular and molecular

- responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 2000, 51, 463-499
48. Hashimoto K, Kawamata S, Usui N, Tanaka A, Uda Y. *In vitro* induction of the anticarcinogenic marker enzyme, quinone reductase, in human hepatomacells by food extracts. *Cancer Lett* 180: 1 - 5 (2002)
  49. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1141 - 1148 (1983)
  50. Havsteen, B., 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology* 32, pp. 1141 - 1148.
  51. I. Sandra, P. Ivarez, C. Tatiana, M. Ana, The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme and Microbial Tehcnology*, 26, 252-258, 2000
  52. Ibrahim, S. S., Habiba, R. A., Shatta, A. A., & Embaby, H. E. Effect of soaking, germination, cooking and fermentation on antinutritional factors in cowpeas. *Nahrung*, 46, 92 - 95. 2002.
  53. Ikeda S, Yamashita T, Murakami T. Minerals in buckwheat. In *Current advances in buckwheat research*. Shinshu, Japan. pp. 789 - 792 (1995)
  54. Ishii, S.; Katsumura, T.; Shiozuka, C.; Ooyauchi, K.; Kawasaki, K.; Takigawa, S.; Fukushima, T.; Tokuji, Y.; Kinoshita, M.; Ohnishi, M.; Kawahara, M.; Ohba, K., Anti-inflammatory effect of buckwheat sprouts in lipopolysaccharide-activated human colon cancer cells and mice. *Bio sci Biotechnol Biochem* 2008,72(12),3148-57;
  55. J. Wu, L. Lin, Elicitor-like effects of low-energy ultrasound on plant (*Panax ginseng*) cells: induction of plant defense responses and secondary metabolite production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 59, 51-57, 2002
  56. J.D. Lima, L. Sodek, N-stress alters aspartate and asparagine levels of xylem sap in soybean. *Plant science*, 165, 649-656, 2003
  57. Jain RA. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials.* 21: 2475-2490 (2000)
  58. Jiao YY, Ubrich N, Hoffart V, Marchand-Arvier M, Vigneron C, Hoffman M, Maincent P. Preparation and characterization of heparin-loaded polymeric microparticles. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28: 1033-1041 (2002)

59. Jun Watanabe, Jun Kawabata, Hideyuki Kurihara, Ryoya Niki. Isolation and identification of a  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from Tochu-cha. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61: 177-178 (1997)
60. Kang HJ, Suh MJ, Kim EH, Song YS. 1994. Effects of sodium alginate and cellulose on fasting plasma lipoprotein composition and cholesterol metabolism in rats (I). *J Kor Soc Food Nutr* 23: 879-886
61. Ke D, Saltveit ME. Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *Hortscience* 21: 1169 - 1171 (1986)
62. Kessler, A., Baldwin, I. T. 2002 Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annu. Rev, Plant Biol.* 53, 599-328
63. Keutgen, A. J., & Pawelzik, E. (2008) Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. *Food Chemistry*, 107(4), 1413-1420
64. Khan, M. A. & Rizvi, Y. (1994) Effect of salinity, temperature and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Can. J. Bot.* 72, 475-479.
65. Kim BK, Hwang SJ, Park JB, Park HJ. Characteristics of felodipine-located poly( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres. *J. Microencapsul.* 22 (2): 193-203 (2005)
66. Kim HJ, Chen F, Wang X, Rajapakse NC. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Agric. Food Chem.* 53: 3696-3701 (2005)
67. Kim HJ, Fonseca JM, Choi JH, Kubota C. Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 55: 10366 - 10372 (2007)
68. Kim HJ, Chen F, Wang X, Choi JH. Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in Radish sprout (*Raphanus sativus* L.). *J. Agric. Food Chem.* 54: 7263-7269 (2006)
69. Kim JS, Park YJ, Yang MH, Shim JW. Variation of Rutin Content in Seed and Plant of Buckwheat Germplasms (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Korean J. Breed.* 26(4), 384-388 (1994).
70. Kim SJ, Zaidul ISM, Maeda T, Suzuki T, Hashimoto N, Takigawa S, Noda T, Matsuura-endo C, Yamauchi H (2007) A time-course study of flavonoids in the sprouts of tartary (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) buckwheats. *Scientia Horticulturae.* 115, 13-18

71. Kim YS, Rhim KH, Suh HJ, Chung SH, Jang DD, Cho JS. Effects of Buckwheat on Super Oxide Dismutase Activity and Histopathological Change of Rats Fed. *J. Fd Hyg. Safety*, 12(3), 68-75 (1998).
72. Kim, H. J., Chen, F., Wang, X., & Choi, J. H. (2006). Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in radish sprout (*RaphanussativusL.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7263-7269.
73. Kim, H. J., Fonseca, J. M., Choi, J. H. and Kubota, C., 2007, Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa L.*), *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 55, pp. 10366-10372.
74. Kim, H.J., Fonseca, J. M., Choi, J. H., Kubota, C., & Kwon, D. Y. (2008) Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of romaine lettuce (*Lactuca sativa L.*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3772-3776
75. Kim, S. J.; Maeda, T.; Sarker, M. Z.; Takigawa, S.; Matsuura-Endo, C.; Yamauchi, H.; Mukasa, Y.; Saito, K.; Hashimoto, N.; Noda, T.; Saito, T.; Suzuki, T., Identification of anthocyanins in the sprouts of buckwheat. *J Agric Food Chem* 2007, 55(15), 6314-8;
76. Kim, S-L., Kim, S-K., & Park, C-H. (2004). Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Research International*, 37, 319 - 327.
77. Kim, Y.S., Kim, J.G., Lee, Y.S. and Kang, I.J., Comparison of the chemical components of Buckwheat seed and sprout. *J Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(1): 81-86 (2005)
78. Knight H, Knight MR. (2001) Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science*, 6(6), 262-267
79. Korea Health Industry Development Institute. 2005. Project of Food Component DB Construction
80. Kreft S, Knapp M, Kreft I. Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) seeds and determination by capillary electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4649 - 4652 (1999)
81. Kris-Etherton PM, Etherton TD, Carlson J, Gardner C. Recent discoveries in inclusive food-based approaches and dietary patterns for reduction in risk for cardiovascular disease. *Current Opinion Lipidol* 13: 397 - 407 (2002)
82. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. and Abdelly, C., 2007, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*, *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 45, No. 3-4, pp.

244-249.

83. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007) Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4), 244-249.
84. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4), 244-249
85. Kwon TB. Changes in Rutin and Fatty Acids of Buckwheat During Germination. *Korean J. Food & Nutrition*. 7(2), 124-127 (1994).
86. Lee DS, Mam TJ, Pyeun JH. 1998. Effect of low molecular alginates on cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and liver lipids in cholesterol-fed rats. *J Kor Fish Soc* 31: 399-408
87. Lee MY, Kim MK, Shin J, Kim SD. 2004. Dietary effect of hemicellulose from soy fiber on blood glucose and cholesterol content in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Nutr* 33: 1119-1125
88. Lee SJ, Kim SJ, Han MS, Chang KS, Changes of Rutin and Quercetin in Commercial Gochujang Prepared with Buckwheat Flour during Fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 34(4), 509-512 (2005).
89. Lee, J. M., Chung, H., Chang, P. S. and Lee, J. H., 2007, Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2,2-diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl(DPPH), *Food chemistry*, Vol. 103, pp. 662-669.
90. Lee, S.C. and Hwang, B.K. Identification of the pepper SAR8.2 gene as a molecular marker for pathogen infection, abiotic elicitors and environmental stresses in *Capsicum annum*. *Planta*. 216, 387-396, 2003
91. Lee, Y.H., Lee, E.O., Park, S.Y., Lee, H.J. and Kim, S.H., Effect of brassica rapa L. extracts and  $\beta$ -sitosterol on hyperlipidemic rats. *Korean J. Oriental Pysiology & Pathology*, 19(5), 1528-1533, 2005
92. Lin, L. Y.; Peng, C. C.; Yang, Y. L.; Peng, R. Y., Optimization of bioactive compounds in buckwheat sprouts and their effect on blood cholesterol in hamsters. *J Agric Food Chem* 2008, 56(4), 1216-23;
93. Liu, C. L.; Chen, Y. S.; Yang, J. H.; Chiang, B. H., Antioxidant activity of tartary



- (*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn.) and common (*Fagopyrum esculentum* Moench) buckwheat sprouts. *J Agric Food Chem* 2008, 56(1), 173-8;
94. Liu, C. L.; Chen, Y. S.; Yang, J. H.; Chiang, B. H.; Hsu, C. K., Trace element water improves the antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) sprouts. *J Agric Food Chem* 2007, 55(22), 8934-40;
  95. Liu, LiPing ; Zang, XiaoYun, Yuan, QiaoYun ; Cai, QingSheng, (2006) Mitigating Effect of Exogenous Sucrose on Root Growth of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Seedlings under Salt Stress. *Plant physiology communications*, 42(5). 847-850
  96. Loivama`ki M, Holopainen JK, Nerg AM. Chemical changes induced by methyl jasmonate in oilseed rape grown in the laboratory and in the field. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7607-7613 (2004)
  97. Lopez-Berenguer, C., Martinez-Ballesta, M.C., Moreno, D.A., Carvajal, M., and Garcia-Viguera, C. (2009) Growing hardier crops for better health: salinity tolerance and the nutritional value of broccoli. *J. Agric. Food Chem.* 57, 572-578
  98. M. Frey, P. Chomet, E. Glawisching, Analysis of a chemical plant defense mechanism in Grasses. *Science*, 227, 696-699, 1997
  99. Maeng YS, Park HK, Kwon TB, Analysis of Rutin Contents in Buckwheat and Buckwheat Foods, *Koeran J. Food Sci. Technol.*, 22(7), 732-737 (1990).
  100. Malone, M.E. and Appelqvist, I.A.M. Gelled emulsion particles for the controlled release of lipophilic volatiles during eating, *J. Control Release* 90, 227-241. 2003.
  101. Malone, M.E., Appelqvist, I.A.M., Goff, T.C., Homan, J.E. and Wilkins, J.P.G. A novel approach to the selective control of lipophilic flavor release in low fat foods, in *Flavor Release*, ACS Symposium Series 763, Roberts, D.D. and Taylor, A.J., Eds., American Chemical Society, Washington, DC, pp 212-227. 2000.
  102. Mao, J. J., Dong, J. F., & Zhu, M. Y. Effect of germination conditions on ascorbic acid level and yield of soybean sprout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 943 - 947. 2005.
  103. Margna U, Margna E, Paluteder A. Localization and distribution of flavonoids in buckwheat seedling cotyledones. *J. Plant Physiol.* 136: 166 - 171 (1990)
  104. Marshall HG, Pomeranz Y. Buckwheat description, breeding, production and utilization. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in cereal science and technology*. St. Paul, MN:

- American Association of Cereal Chemistry. USA. pp. 157 - 212 (1982)
105. Marshall, H.G. and Pomeranz, Y., 1982. Buckwheat description, breeding, production and utilization. In: Pomeranz, Y., Editor, , 1982. *Advances in cereal science and technology*, American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, MN, pp. 157 - 212.
  106. McClements, D.J. Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques, 2<sup>nd</sup> Edition. CRC Press. Boca Raton, Florida. 2004.
  107. Meyer A, Miresch O, Buttner C, Dathe W, Sembdner G, Occurrence of plant growth regulator jasmonic acid in plants. *J. Plant Growth Regul.* 3: 1 - 8 (1984)
  108. Ministry of Health & Welfare. 2008. The 4th Korea National Health and Nutrition Examination Survey, the first year
  109. Mitsuru Watanabe, An anthocyanin compound in buckwheat sprouts and its contribution to antioxidant capacity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71(2), 579-582, 2007
  110. Mitsuru Watanabe, An anthocyanin compound in buckwheat sprouts and its contribution to antioxidant capacity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71(2), 579-582, 2007
  111. Na SH. Effect of Buckwheat Beverage Containing High Concentration Rutin of on Osteoporosis and Serum Lipid. MS thesis, University of Korea, Seoul, KOR (2004).
  112. Nam SM, Ha EH, Suh YJ, Park H, Chang MH, Seo JH, Kim BM. Effect of Obesity and Blood Lipid Profiles on Hyperlipidemia in Adults Aged Over 40 Years. *Korean Society for the study of Obesity.* 17(1). 20-28 (2008).
  113. Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C., & Martinez, V. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96(1), 66-73. (2006)
  114. Obermüller, B., Karsten, U., Abele, D., Response of oxidative stress parameters and sunscreens compounds in Arctic amphipods during experimental exposure to maximal natural UVB radiation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 323, 100 - 117. 2005
  115. Ogawa, S.; Decker, E. A. McClements, D. J. Influence of Environmental Conditions on Stability of O/W Emulsions Containing Droplets Stabilized by Lecithin-Chitosan Membranes. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5522-5527. 2003a
  116. Ohsawa, R., & Tsutsumi, T. (1995). Inter-varietal variations of rutin content in common buckwheat flour (*Fagopyrum esculentum* Moench.). *Euphytica*, 86, 183 - 189.
  117. Oomah, B. D., Campbell, C. G., & Mazza, G. (1996). Effects of cultivar and

- environment on phenolic acids in buckwheat. *Euphytica*, 90(1), 73 - 77.
118. Park JC, Jang YI, Doo MS, Kim SH, Choi JW. 1996. Effect of methanolic extract of *pachymeniopsis elliptica* on lipids component of hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 958-962
  119. Park. H.J., Oh, S.Y., Choi, K.H., Meang. S.J., Yoon, E.S., Effects of jasmonic acid and methyl jasmonate on the production of ginsenosides in the hairy roots of korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *J. Ginseng Res.*, 24(2), 74-78, 2000
  120. Pedras MS, Zheng QA, Gadagi RS, Rimmer SR. Phytoalexins and polar metabolites from the oilseeds canola and rapeseed: Differential metabolic responses to the biotroph *Albugo candida* and to abiotic stress. *Phytochemistry*, 2007
  121. Peng, C. C.; Chen, K. C.; Yang, Y. L.; Lin, L. Y.; Peng, R. Y., Aqua-culture improved buckwheat sprouts with more abundant precious nutrients and hypolipidemic activity. *Int J FoodSci Nutr* 2009, 60 Suppl 1,232-45;
  122. Pérez MH, Zinutti C, Lamprecht A, Ubrich N, Astier A, Hoffman M, Bodmeier R, Maincent P. The preparation and evaluation of poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles containing both a lipophilic and a hydrophilic drug. *J. Control. Release*. 65: 429-438 (2000)
  123. Pesce AJ, Kaplan LA. *Methods in Clinical Chemistry*. Mosby Co., Toronto. p 820 (1987)
  124. Podsek A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of *Brassica* vegetables: a review. *LWT-FoodSci Technol*. 40: 1 - 11(2007)
  125. Pomeranz Y, Marshall HG, Robbins GS, Gilbertson JT. Protein content and amino acid composition of maturing buckwheat. *Cereal Chem*. 52: 479 - 485 (1975)
  126. Pomeranz, Y., & Robbins, G. S. (1972). Amino acid composition of buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20, 270 - 274.
  127. Reyes LF, Cisneros-Zevallos L. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanumtuberosum* L.). *J. Agric. Food Chem*. 51: 5296-5300 (2003)
  128. Rudell DR, Mattheis JP, Fellman JK. Methyl jasmonate enhances anthocyanin accumulation and modifies production of phenolics and pigments in 'Fuji' apples, *J. Am. Soc. Hortic. Sci*. 127: 435 - 441 (2002)
  129. Ruiz JM, Romero L. Bioactivity of the phenolic compounds in higher plants. In:

- Atta-ur-Rahman, editor. Studies in natural products chemistry. Bioactive natural products, 25, part F. Oxford: Elsevier Science Ltd.; 2001. p. 651 - 683.
130. Scialabba, A., & Melati, M.R. The Effect of NaCl on growth and xylem differentiation of radish seedlings. *Botanical Gazette*, 151(4), 516-521. (1990)
  131. Sembdner G, Parthier B. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 569 - 589 (1993)
  132. Serrano R. Salt tolerance in plants and microorganisms: toxicity targets and defense responses. *International Review of cytology*, 1996, 165, 1-52.
  133. Shifeng C, Yonghua Z, Zhenfeng Y, Kaituo W, Huaijing R. Effect of methyl jasmonate on quality and antioxidant activity of postharvest loquat fruit. *Sci. Food Agric.* 89(12): 2064-2070 (2009)
  134. Singleton VL, Joseph A, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144 - 58 (1965)
  135. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug devices. *J. Control. Release.* 20: 1-20 (2001)
  136. Stamler J. 1981. Introduction to risk factors in coronary artery disease in medical communication. pp1-3. Northfield
  137. Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., & Edwardson, S. E. (2001). Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1094 - 1100.
  138. Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M.L., Massai, R., 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs *Myrtus communis* and *Pistacial entiscus*. *New Phytol.* 170, 779 - 794.
  139. Tover J, Bjorck IM, Asp NG. Analytical and nutritional implications of limited enzymic availability of starch in cooked red kidney beans. *J Agri. Food Chem.* 38: 488-493 (1990)
  140. U. Salgin, S. Ustun, U. Mehmetoglu and A. Calimli, Supercritical CO2 extraction of accumulated capsidiol from biotic elicitor-activated capsium annum L fruit tissues. *J. Chemical Technology and Biotechnology.* 80, 124-132, 2005
  141. Vahouny GV, Roy T, Callo LL, Story JA, Kritchevsky D, Cassidy MM. 1980. Dietary fibers III. Effects of chronic intake on cholesterol absorption and metabolism in the rat.

142. Vander P, Varum KM, Domard A, Gueddari NE, Moerschbacher BM. Comparison of the ability of partially N-acetylated chitosans and chitooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. *Plant Physiol.* 118: 1353-1359 (1998)
143. Verger ML, Fluckiger L, Kim YI, Hoffman M, Maincent P. Preparation and characterization of nanoparticles containing and antihypertensive agent. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 46: 137-143 (1998)
144. Vick BA, Zimmerman DC, Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. *Plant Physiol.* 75: 458 - 461 (1984)
145. Wang CY, Buta JG. Maintaining quality of fresh-cut kiwifruit with volatile compounds. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 181 - 186 (2003)
146. Wang SY, Zheng W. Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. *Int. J. Food Sci. Technol.* 40: 187 - 195 (2005)
147. Watanabe M, Ito M. Changes in antioxidative activity and flavonoid composition of the extracts from aerial parts of buckwheat during growth period (in Japanese with English summary). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 49: 119 - 125 (2002)
148. Watanabe, M. (1998). Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 839 - 845.
149. Watanabe, M., An anthocyanin compound in buckwheat sprouts and its contribution to antioxidant capacity. *Bio sci Biotechnol Biochem* 2007, 71(2), 579-82.
150. Watanabe, M., Ohshita, Y., & Tsushida, T. (1997). Antioxidant compounds from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1039 - 1044.
151. William P, Robinson D, Bailey A. 1979. High-density lipoprotein and coronary risk factors in normal men. *Lancet* 313: 72-75
152. Williamson, C.E., Neale, P.J., Grad, G., De Lange, H.J., Hargreaves, B.R., Beneficial and detrimental effects of UV on Aquatic organisms: implications of spectral variation. *Ecol. Appl.* 11 (6), 1843 - 1857. 2001
153. Xiaoling H, Xie ZN, Na Y, Jinliang L. Outline of the investigation on the leaf of *F. tataricum* by the means of traditional chinese medicine and western modern medicine. In Proceedings of the 5th international symposium on buckwheat, 20 - 26 August,

- Taiyuan, China, pp. 470 - 476 (1992)
154. Yamiguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1201-1204 (1998)
  155. Yang JL, Suh MJ, Song YS. 1996. Effect of dietary fibers on cholesterol metabolism in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 392-398
  156. Yang YY, Chung TS, Ng NP. Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Biomaterials.* 22: 231-241 (2001)
  157. Yin J, Noda Y, Yotsuyanagi T. Properties of poly(lactide-co-glycolic acid) nanospheres containing protease inhibitors: Camostat mesilate and nafamostat mesilate. *Int. J. Pharm.* 314: 46-55 (2006)
  158. Zabetakis R, Edwards DOH. Elicitation of tropane alkaloid biosynthesis in transformed root cultures of *Datura stramonium*. *Phytochem.* 50: 53 - 56 (1999)
  159. Zabetakis, R. and Edwards, D. O. H., 1999, Elicitation of tropane alkaloid biosynthesis in transformed root cultures of *Datura stramonium*, *Phytochemistry*, Vol. 50, pp. 53-56.
  160. Zapata, P. J., Serrano, M., Pretel, A. T., Amoros, A., & Botella, M. A. (2004). Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Science*, 167(4), 781-788.
  161. Zhao, J.; Davis, L. C.; Verpoorte, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol. Adv.* 2005, 23,283-333.
  162. Zhu JK (2001) Plant salt tolerance. *Trends plant Sci* 6. 66-71
  163. Zielinska, D.; Szawara-Nowak, D.; Ornatowska, A.; Wiczkowski, W., Use of cyclic voltammetry, photochemiluminescence, and spectrophotometric methods for the measurement of the antioxidant capacity of buckwheat sprouts. *J Agric Food Chem* 2007, 55(24), 9891-8;
  164. 권태봉, 루틴 함량이 증가된 메밀 발효액 제조 방법 및 메밀 음료 조성물, 대한민국특허 0014347 (1994).
  165. 김진봉, 루틴성분이 보강된 메밀가공식품 제조방법, 대한민국특허 020507 (1998).
  166. 박중윤, 이홍순, 참당귀에 유도물질을 처리하여 데커신 또는 데커시놀안젤레이트의 생산성을 증가시키는 방법, 대한민국 특허, 10-2006-0076805

167. 우원식, 천연물화학 연구법. 서울대학교출판부. 서울. 대한민국. pp. 10-16. (2008)
168. 유종상, 김동영, 박형환, 김한수, 권익부, 메틸로부터 고순도 천연 루틴의 추출방법, 대한민국특허 0361632 (2002).
169. 조명기 외 5인, 발아현미를 이용한 부가가치 상품 개발과 중국시장 진출방안, 농촌경제연구원, 연구보고서, 2005
170. 최희돈 외 11인, 발아현미의 GABA 증진 및 즉석취반기술 개발, 한국식품연구원, 연구보고서, 2004
171. 하태열 외 11인, 결명자의 유효성분을 활용한 고부가가치 가공제품화 기술개발, 한국식품연구원, 연구보고서, 2002

# Appendix : 매밀썩기름채소 elicitor

## 1. Methyl Jasmonate

IUPAC name :

Methyl (1R,2R)-3-Oxo-2-(2Z)-2-pentenyl-cyclopentaneacetate

Other names :

Methyl jasmonate

Identifiers

CAS number

39924-52-2

Properties

Molecular formula

C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>

Molar mass

224.3 g/mol

Appearance

Colorless liquid

Melting point

<25 °C

Boiling point

88-90 °C at 0.1 mmHg

Except where noted otherwise, data are given for materials in their standard state (at 25 °C, 100 kPa)

### Methyl Jasmonate Reduces Decay and Enhances Antioxidant Capacity in Chinese Bayberries

KAITUO WANG, PENG JIN, SHIFENG CAO, HAITAO SHANG, ZHENFENG YANG, AND YONGHUA ZHENG\*

College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Weigang 1, Nanjing 210095, People's Republic of China

The effects of methyl jasmonate (MeJA) on postharvest decay and antioxidant capacity in harvested Chinese bayberry fruit were investigated. Chinese bayberries were treated with 0, 1, 10, 100, or 1000  $\mu\text{mol L}^{-1}$  MeJA at 20 °C for 6 h and then stored at 0 °C for 12 days. MeJA at 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  was most effective in reducing fruit decay; quality parameters including pH value, total soluble solids, and titratable acidity were not significantly affected by MeJA treatment. Fruit treated with 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$  MeJA exhibited significantly higher phenylalanine ammonia-lyase activity and higher levels of total phenolics, flavonoids, and anthocyanins as well as individual phenolic compounds than control. These fruits also maintained significantly higher antioxidant activity as measured by scavenging capacity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, superoxide, and hydroxyl radicals and by the reducing power test compared to the control. These results indicate that MeJA can effectively reduce fruit decay and improve antioxidant capacity of Chinese bayberry fruit.

KEYWORDS: Chinese bayberry; methyl jasmonate; decay; antioxidant capacity

#### INTRODUCTION

Chinese bayberry (*Myrica rubra* Seib & Zucc.), a subtropical fruit native to China, is popular for its flavor and attractive red to purple color. The fruit consists of capsule-like cells termed flesh segments and is very susceptible to physiological deterioration and pathogen attack, limiting postharvest life to 1–2 days under ambient temperature (1). Chinese bayberry contains high levels of anthocyanins, flavonoids, and phenolic acids and is considered to be a good source of natural antioxidants, which may provide protection against various human diseases caused by oxidative stress. Previous study has shown that Chinese bayberry has high antioxidant activity against superoxide and hydroxyl radicals, and there is a positive correlation between antioxidant activity and total phenolic or anthocyanin content (2). Fruit maturity stage and postharvest storage conditions can also affect bioactive compound levels and antioxidant capacity in Chinese bayberry (3, 4).

Methyl jasmonate (MeJA), a naturally occurring compound, plays important roles in plant growth and development, fruit ripening, and responses to environmental stresses (5). It has been reported that MeJA treatment could effectively suppress postharvest diseases of various fruits including sweet cherry (6), loquat (7), peach (8), and grapefruit (9). In addition, it has been reported that a postharvest MeJA treatment maintained higher levels of bioactive compounds and enhanced antioxidant capacity in berry fruits including blackberries, raspberries, and strawberries (10–12). Because MeJA is already classified by the U.S. Food and Drug Administration as a Generally Recognized

\*Author to whom correspondence should be addressed (telephone +86-25-84399080; fax +86-25-84395618; e-mail zhengyh@njau.edu.cn).

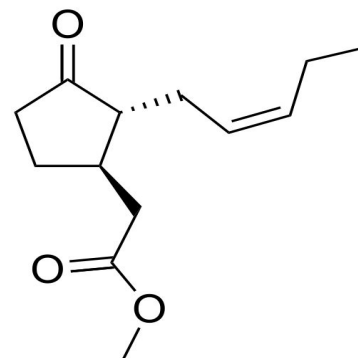
As Safe (GRAS) substance, it may have potential commercial applications in postharvest treatments for quality maintenance by reducing decay and enhancing antioxidant activity. As antioxidant content is becoming an increasingly important parameter with respect to fruit and vegetable quality, it is of great interest to evaluate changes in antioxidant status during postharvest storage of horticultural crops. However, there are no published data on the effect of postharvest MeJA treatment on antioxidants and antioxidant activity in Chinese bayberry fruit.

The purpose of this study was to investigate the effect of MeJA treatment on fruit decay, total phenolics, total flavonoids, total anthocyanins, and antioxidant capacity as well as the main phenolic constituents in Chinese bayberry during storage at 0 °C.

#### MATERIALS AND METHODS

**Chemicals.** Commercial standards of gallic acid (purity  $\geq$  99%), protocatechuic acid (purity  $\geq$  97%), quercetin-3-O-rutinoside (purity  $\geq$  97%), myricetin (purity  $\geq$  96%), and cyanidin-3-glucoside (purity  $\geq$  98%) were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Methanol, acetone, formic acid, and water were of HPLC grade and purchased from Sigen Co. (Nanjing, Jiangsu, China). 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Folin–Ciocalteu, deoxyribose, nitroblue tetrazolium (NBT), riboflavin, methionine, ferric chloride, methionine, potassium ferricyanide, and trichloroacetic acid (TCA) reagents were of analytical grade and purchased from Sigma Chemical Co.

**Fruit Materials and Treatment.** Chinese bayberry (*M. rubra* Seib & Zucc. cv. Wumei) was hand-harvested at mature stage from an orchard in Suzhou, Jiangsu province, China, and transported within 4 h to our laboratory. Fruits were selected for uniform size, color, and absence of defects and then randomly divided into five lots. Each lot of fruit was placed in a 40-L airtight container for MeJA treatment. An appropriate amount of MeJA liquid (Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI) was



MeJA is already classified by the U.S. Food and Drug Administration as a Generally Recognized As Safe(GARS) substance...