



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0155505
(43) 공개일자 2022년11월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01G 22/20 (2018.01) A01G 7/06 (2006.01)
A01N 27/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01G 22/20 (2018.02)
A01G 7/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0062466
(22) 출원일자 2021년05월14일
심사청구일자 2021년05월14일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
박기훈
경상남도 진주시 초장로14번길 29 푸르지오2차
205동 402호
김정호
경상남도 진주시 호탄길13번길 17, 207호 (호탄동, 성호빌아트)
반영준
경상남도 진주시 가호로 26, 202동 1301호 (가좌동, 진주가좌주공아파트)
(74) 대리인
이원희

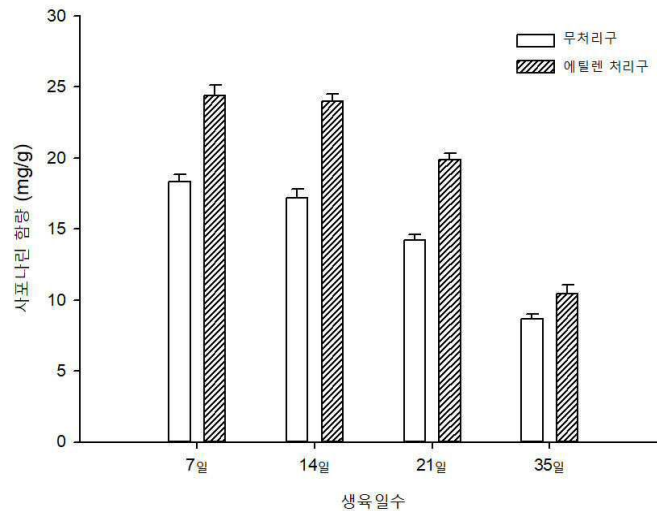
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 에틸렌 처리를 이용한 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법

(57) 요약

본 발명은 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법에 관한 것으로, 본 발명의 에틸렌을 처리하여 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법을 이용하면 사포나린의 함량을 높은 수준으로 향상시킬 뿐만 아니라, 바이오페스트는 크지만 사포나린 함량이 낮아 식의약 소재로서 가치가 낮은 35일 전후의 새싹보리를 사포나린 고함유 기능성 소재로 전환하여 새싹보리의 식의약 소재로서의 가치를 증가시키는 효과가 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

A01N 27/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711130482
과제번호	2020M3A9I3038523
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오. 의료기술개발(R&D)
연구과제명	대사체농업 기술 적용한 식물공장에서 고부가 생물소재 생산
기 여 율	50/100
과제수행기관명	경상국립대학교 산학협력단
연구기간	2020.06.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395067254
과제번호	PJ015732012021
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	바이오그린연계농생명혁신기술개발(R&D)
연구과제명	식의약소재로서 파바톤콩잎의 실용화 및 산업화 기술개발
기 여 율	50/100
과제수행기관명	경상국립대학교 산학협력단
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

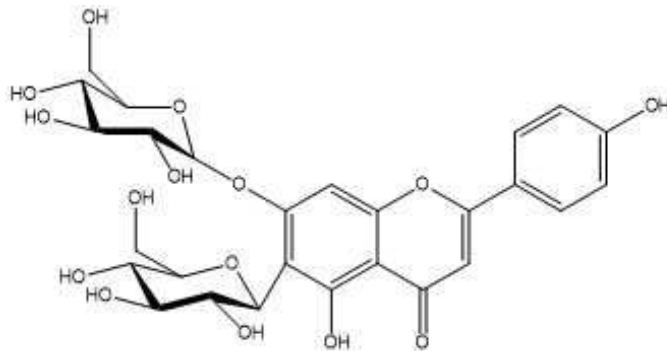
청구항 1

새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 (saponarin) 함량을 증가시키는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 사포나린은 하기 [화학식 1]로 표기되는 화합물인 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

[화학식 1]



청구항 3

제1항에 있어서, 상기 새싹보리는 파종 후 3일 내지 50일 경과한 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 에틸렌은 500 내지 4,000 ppm 농도로 처리하는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 새싹보리는 자연광 혹은 인공광 조건에서 재배되는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 자연광 조건에서 재배된 새싹보리는 에틸렌을 처리하기 전에 안정화 과정을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 인공광은 LED인 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 에틸렌은 6 내지 48시간 처리되는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 에틸렌은 밀폐된 챔버에서 처리되는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 밀폐된 챔버는 온도 20 내지 30℃인 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 밀폐된 챔버는 상대습도 60 내지 80%인 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 12

에틸렌을 처리하여 사포나린 함량이 증가된 새싹보리 잎.

청구항 13

- 1) 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계;
- 2) 상기 단계 1)의 새싹보리 잎을 추출하여 사포나린을 분리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 사포나린의 대량생산방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 에틸렌은 500 내지 4,000 ppm 농도로 처리하는 것을 특징으로하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 에틸렌은 6 내지 48시간 처리되는 것을 특징으로 하는, 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 새싹보리에 에틸렌을 처리하여 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 새싹보리는 씨앗이 발아된 후 3일 내지 35일 이내의 보리잎이 있는 상태의 것을 의미하고 효소, 아미노산, 비타민, 식이섬유를 비롯한 폴리코사놀 및 다양한 생리활성물질을 함유하고 있다. 또한, 간기능 개선, 항산화, 항염증, 항당뇨 등에 우수한 생리활성을 나타내는 사포나린 (saponarin), 루토나린 (lutonarin) 및 이소비텍신 (isovitexin) 등의 기능성 활성물질을 함유하고 있어 기능성 식품소재 시장의 주요생물소재이다 (Journal of Food and Drug Analysis, 2017, 25, 148-161; Molecules, 20, 10884-10909). 특히, 사포나린은 새싹보리의 간기능 개선 효능의 활성지표물질이며, 새싹보리가 함유하고 있는 폴리페놀성 대사체에서 80% 이상을 차지하는 함량이 가장 많은 활성대사 산물로서 이것의 함량이 새싹보리 잎의 시장가치를 평가하는 가장 중요한 요소이다.

[0004] 새싹보리는 발아 후 3일부터 사포나린이 높은 함량으로 발현되고, 최고 15 mg/g (건조중량)까지 함유하고 있다. 그러나 사포나린의 함량은 발아 후 약 20일부터 급격히 감소하여 약 40일에는 5 mg/g 수준으로 보고되고 있다 (Journal of Functional Foods, 2016, 26, 667-680).

[0005] 생물소재 시장에서 활성지표물질의 함량과 바이오매스의 크기는 활성소재의 평가에 있어 가장 중요한 요소이다. 특히 새싹보리 소재의 경우 활성지표물질 (사포나린)의 함량이 높을 때는 바이오매스가 작고, 바이오매스가 큰 시기 (발아 후 35일 이상)에는 활성지표물질의 함량이 낮다. 따라서 활성지표물질의 함량이 높고 바이오매스의 크기가 큰 새싹보리 소재의 확보는 관련 식의약소재 시장의 핵심 이슈가 되고 있다.

[0006] 새싹보리는 겨울작물로, 약 25도에서 잘 자라며, 온도가 높으면 재배할 수 없고, 재배환경에 따라 품질이 많이 차이가 나기 때문에 좋은 재배환경이 갖춰지는 게 중요하다. 노지의 하우스에서 재배하는 경우에는 사포나린의 함량은 높으나, 여름철에는 온도가 높아 1년 내내 키우기 어려운 한계점이 있다. 반면, 스마트 팜과 같은 식물공장에서 재배하는 경우 온도와 같은 재배 환경을 제어할 수 있으나, 자연광에서 재배한 경우보다 사포나린의 함량이 떨어지는 한계점이 있다. 따라서 온도와 같은 재배 환경을 제어할 수 있는 스마트 팜과 같은 식물공장에서 사포나린의 함량을 높일 수 있는 기술에 대한 필요성이 대두되고 있다.

[0007] 사포나린 고함유 새싹보리 잎 생산을 위한 많은 선행 기술에는 청색광 처리를 통한 사포나린 함량을 증가시키는 기술 (대한민국 공개특허 10-2015-0071454), LED 광처리 및 메틸 자스모네이트 처리를 이용한 사포나린 함량을 증가시키는 기술 (대한민국 공개특허 10-2020-0059488)이 있다.

[0008] 이에 본 발명자들은 사포나린이 고함유된 새싹보리 잎을 개발하기 위하여 노력한 결과, 새싹보리의 재배과정에서 에틸렌을 처리하면 높은 농도의 사포나린이 새싹보리 잎에 축적되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계를 포함하는 새싹보리의 사포나린 (saponarin) 함량을 증가시키는 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 방법으로 재배한 사포나린 함량이 증가된 새싹보리 잎을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은

[0013] 1) 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계;

[0014] 2) 상기 단계 1)의 새싹보리 잎을 추출하여 사포나린을 분리하는 단계를 포함하는 사포나린의 대량생산방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계를 포함하는 새싹보리의 사포나린 (saponarin) 함량을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0017] 또한 본 발명은 에틸렌을 처리하여 사포나린 함량이 증가된 새싹보리 잎을 제공한다.
- [0018] 또한 본 발명은
- [0019] 1) 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계;
- [0020] 2) 상기 단계 1)의 새싹보리 잎을 추출하여 사포나린을 분리하는 단계를 포함하는 사포나린의 대량생산방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0022] 본 발명의 에틸렌을 처리하여 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법을 이용하면 사포나린의 함량을 높은 수준으로 향상시킬 뿐만 아니라, 바이오매스는 크지만 사포나린 함량이 낮아 식의약 소재로서 가치가 낮은 35일 전후의 새싹보리를 사포나린 고함유 기능성 소재로 전환하여 새싹보리의 식의약 소재로서의 가치를 증가시키는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

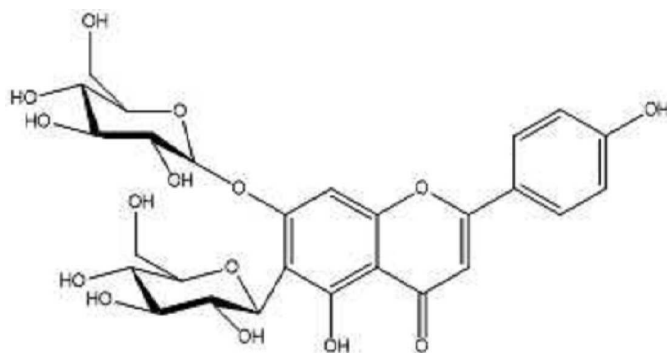
- [0024] 도 1은 새싹보리의 사포나린 함량을 증가시키는 방법을 개략적으로 나타낸 도이다.
- 도 2a는 새싹보리 (파종 후 21일) 메탄올 추출물의 크로마토그램 (UV, 280 nm)을 나타낸 도이다.
- 도 2b는 사포나린 (지표물질 a)의 질량분석 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- 도 2c는 루토나린 (지표물질 b)의 질량분석 스펙트럼을 나타낸 도이다.
- 도 3a는 아무 것도 처리하지 않은 새싹보리 (파종 후 21일)의 메탄올 추출물 (대조군)의 HPLC 크로마토그램 (UV 검출기, 280 nm)을 나타낸 도이다.
- 도 3b는 에틸렌을 처리한 새싹보리 (파종 후 21일)의 메탄올 추출물의 HPLC 크로마토그램 (UV 검출기, 280 nm)을 나타낸 도이다.
- 도 4는 새싹보리의 생육일수별 사포나린 함량을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0025] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0027] 본 발명은 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계를 포함하는, 새싹보리의 사포나린 (saponarin) 함량을 증가시키는 방법을 제공한다.
- [0028] 상기 새싹보리는 속껍질과 겉껍질이 밀착되어 있는 겉보리 (covered barley)또는 속껍질과 겉껍질이 잘 떨어지는 특성을 가진 쌀보리 (naked barley)이며, 바람직하게는 쌀보리, 더욱 바람직하게는 흰찰쌀보리이나, 이에 특별히 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 목적을 크게 벗어나는 것이 아니라면 어떠한 보리 종자라도 적용될 수 있다.
- [0029] 상기 새싹보리는 파종 후 3일 내지 50일 경과한 새싹보리인 것이 바람직하고, 3일 내지 35일 경과한 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0030] 상기 새싹보리는 자연광 아래의 노지에서 재배된 것이거나, 인공광에서 재배된 것이 모두 가능하다.
- [0031] 상기 노지에서 재배된 새싹보리는 에틸렌을 처리하기 전에 안정화하는 과정을 더 포함할 수 있다.

- [0032] 상기 안정화하는 과정은 노지에서 재배한 새싹보리에 에틸렌을 처리하기 위해 밀폐된 챔버에서 안정화시키는 것으로 온도 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 및 상대습도 $70 \pm 10\%$ 조건으로 10-15시간 동안 안정화시키는 것이 바람직하다.
- [0033] 상기 에틸렌은 식물호르몬의 하나로 가장 간단한 구조를 가진 에틸렌계의 탄화수소 (화학식: C_2H_4)의 하나이다. 에틸렌은 무색의 기체이다. 에틸렌은 과일성숙호르몬 또는 스트레스 호르몬으로 불린다. 에틸렌은 식물 호르몬으로 작용하여 청과물의 수확 뒤의 생리변화, 특히 원예작물의 성숙이나 열채류의 황색화 등 식물조직의 성숙을 촉진하는 작용을 한다.
- [0034] 상기 에틸렌은 기체로 식물체에 균일하게 처리될 수 있으며, 적은 농도에서도 식물의 성장과 발생에 중요한 영향을 미칠 수 있는 장점이 있다.
- [0035] 상기 에틸렌은 500 내지 4,000 ppm 농도로 처리할 수 있고, 1,000 내지 4,000 ppm 농도로 처리하는 것이 바람직하며, 2500 내지 3500 ppm의 농도로 처리하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0036] 상기 에틸렌은 6시간 내지 72시간 처리할 수 있으며, 6시간 내지 48시간 처리하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0037] 상기 에틸렌은 새싹보리 수확 전 또는 수확 후 처리가 가능하고, 새싹보리 수확 전에 처리하는 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0038] 상기 에틸렌을 대체하여 에틸렌의 공여체인 에세폰 (ethephon, 2-chloroethylphosphonic acid)을 처리할 수 있다. 상기 에세폰은 에틸렌 발생제의 일종으로, pH 4.1 이상의 중성 및 알칼리성의 조건하에서 에틸렌을 발생하며, 액상으로 1000-2000 배의 수용액을 과실, 과체에 살포하면 분해하고, 에틸렌을 발생하여 성숙, 추숙이나 착색을 촉진하는 것이 특징이다.
- [0039] 상기 에틸렌의 처리는 밀폐된 공간에서 수행될 수 있다.
- [0040] 상기 밀폐된 공간의 온도는 20°C 내지 40°C 인 것이 바람직하고, 20°C 내지 30°C 인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0041] 상기 밀폐된 공간의 상대습도는 50% 내지 80%인 것이 바람직하고, 60% 내지 80%인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0042] 상기 새싹 보리의 재배는 스마트팜 또는 식물공장일 수 있다. 상기 스마트팜 또는 식물공장은 외부와 차단된 시설 내에서 빛, 온도, 습도, 이산화탄소, 배양액 등의 환경조건을 인공으로 제어하여 작물을 계절에 관계없이 계획적, 연속적 생산이 가능한 시스템을 가지고 있다. 또한 상기 식물공장은 온도, 광량, 광주기 관리를 위하여 밀폐되어 있을 수 있고, 관련 설비가 설치될 수 있다. 이러한 설비는 특별히 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 목적을 크게 벗어나는 것이 아니라면 어떠한 설비라도 적용될 수 있다.
- [0043] 상기 사포나린은 플라본 배당체 (flavone glycoside)종류로서 IUPAC 명명법으로 아피제닌-6-C-글루코실-7-O-글루코시드 (apigenin-6-C-glucosyl-7-O-glucoside; $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$)이고, 하기 [화학식 1]로 표기되는 화합물이다.

화학식 1



[0044]

- [0046] 또한 본 발명은 에틸렌을 처리하여 사포나린 함량이 증가된 새싹보리 잎을 제공한다.
- [0047] 상기 사포나린은 플라본 배당체 (flavone glycoside)종류로서 IUPAC 명명법으로 아피제닌-6-C-글루코실-7-O-글루코시드 (apigenin-6-C-glucosyl-7-O-glucoside; C27H30O15)이고, 상기 [화학식 1]로 표기된다.
- [0048] 상기 사포나린은 항산화 효과를 가지고 있고, 동물실험에서 혈당 감소 (hypoglycemic property), 항균성 (antimicrobial property), 그리고 간 보호 (hepatoprotective property) 등의 효능을 나타낸다는 연구 결과들이 최근에 보고되고 있다.
- [0050] 또한 본 발명자들은
- [0051] 1) 새싹보리에 에틸렌 (ethylene)을 처리하는 단계;
- [0052] 2) 상기 단계 1)의 새싹보리 잎을 추출하여 사포나린을 분리하는 단계를 포함하는, 사포나린의 대량생산방법을 제공한다.
- [0053] 상기 에틸렌은 500 내지 4,000 ppm 농도로 처리하는 것이 바람직하며, 2500 내지 3500 ppm의 농도로 처리하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0054] 상기 에틸렌은 6시간 내지 72시간 처리하는 것이 바람직하며, 6시간 내지 48시간 처리하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- [0055] 본 발명은 에틸렌을 새싹보리 잎에 처리하여 이소플라본 유도체가 고함유된 새싹보리 잎을 재배하고, 상기 재배 방법은 이소플라본 유도체의 대량 생산 방법으로 유용하게 이용할 수 있다.
- [0057] 본 발명의 구체적인 실시예에서 본 발명자들은 에틸렌을 처리 또는 무처리한 새싹보리 잎을 메탄올로 추출하여 추출물을 획득하고, 분석한 결과, 에틸렌을 처리한 후 수확한 새싹보리 잎의 경우 처리하지 않은 새싹보리 잎에 비하여 사포나린의 함량이 현저하게 증가하는 것을 확인함으로써, 에틸렌을 처리한 후 수확하는 방법이 사포나린의 함량이 증가된 새싹보리 잎 재배 방법으로 가능성을 확인하였다 (도 2a 내지 도 4).
- [0059] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.
- [0060] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의
- [0061] 의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 의해서 한정되는 것은 아니다.

[0063] <실시예 1> 자연광을 이용한 새싹보리 노지재배 및 에틸렌 처리

[0064] 종자 외관이 양호한 흰찰쌀보리 종자 2 kg를 취해 수돗물에 침지하여 세척하였다. 재배상자에서 48시간동안 암 조건에서 종자를 발아시켰다. 싹이 튼 후 28 cm × 54 cm 크기의 트레이에 약 200 g의 종자를 균일하게 파종하였다. 이 때, 30 cm × 60 cm 크기의 재배상자에 트레이를 넣고 재배상자에 물을 공급하였다. 새싹보리를 재배하는 비닐하우스의 온도는 약 25℃로 유지하였으며, 자연광을 이용하여 통상의 방법으로 재배하였다. 새싹보리 식물체는 파종 후 7일, 14일, 21일, 35일 동안 재배상자에서 재배하였으며, 생육시기별로 새싹보리 재배상자를 밀폐된 챔버로 옮긴 후 챔버 내를 온도 25±5 ℃ 및 상대습도 70±10% 조건으로 12시간 동안 안정화하였다. 상기 조건의 밀폐된 챔버 내에서 3,000 ppm 농도의 에틸렌을 24 시간 동안 처리하였다 (도 1 참고).

[0066] <실시예 2> LED를 이용한 새싹보리 재배 및 에틸렌 처리

[0067] 식물공장형 챔버에서 상기 <실시예 1>과 동일한 방법으로 흰찰쌀보리를 파종하여 발아시켰다. 이 때, 생육온도는 약 25℃로 유지하며, 광원으로 380 ~ 780 nm 영역의 LED를 사용하였다. LED 광은 1일 중 16시간 처리하였다. 또한, 서로 다른 광량, 구체적으로 1) 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 및 2) 250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광량에서 새싹보리를 재배하였다. 에틸렌 처리의 효과를 관찰하기 위하여 상기 조건에서 10일간 재배한 새싹보리 식물체를 대상으로

에틸렌을 처리하였다. 에틸렌 처리는 <실시예 1>에 나타난 것과 동일한 방법으로 밀폐된 챔버에서 3,000 ppm 농도의 에틸렌을 24시간 동안 처리하였다.

[0069] <실험예 1> 새싹보리 추출물의 HPLC 분석

[0070] 상기 <실시예 1>의 방법으로 수득한 파종 후 21일의 새싹보리 잎을 건조 및 분쇄한 후 건조한 새싹보리 잎 1 g을 80% 메탄올 용액 50 mL로 35 °C에서 3시간동안 초음파 처리(sonication)하여 추출하였고, 추출물의 HPLC 분석을 수행하였다.

[0071] 구체적으로, HPLC 분석을 위해 C18 컬럼 (4.6×150 mm, 5 μm)을 사용하였으며, 분석조건은 용매 A (0.1% Acetic acid 수용액)와 용매 B (Acetonitrile)을 이용해 0분부터 60분까지 용매 B의 비율을 5%에서 100%까지 증가시키는 기울기 방법으로 용리시켰다. 용매의 유속은 분당 1 mL로 설정하였고 샘플은 10 μl 주입하였다. 검출기의 측정 파장은 280 nm로 설정하였다.

[0072] 그 결과, 도 2a와 같이 두개의 피크를 가진 HPLC 크로마토그램을 얻을 수 있었다.

[0074] <실험예 2> 에틸렌 처리로 얻어진 새싹보리의 추출물에 포함된 화합물의 구조분석

[0075] 상기 <실험예 1> 추출물을 이용하여 UPLC-ESI-TOF/MS 분석을 수행하였다.

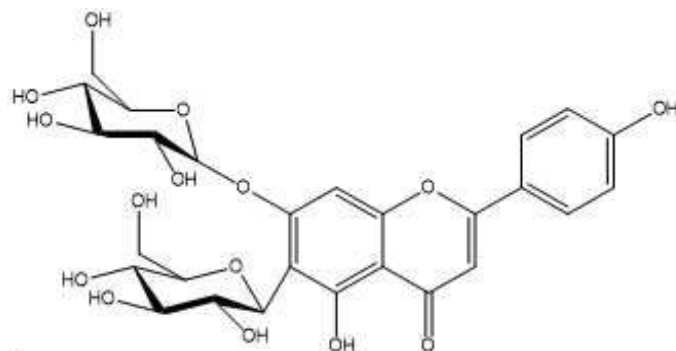
[0076] 구체적으로, UPLC BEH C18 칼럼(2.1mm ×100mm, 1.7 μm, waters)을 이용하고 주입된 추출물 용액의 양은 1 μl이며, 용리조건은 0.1% 포름산 수용액 (용매 A)과 0.1% 포름산 아세토나이트릴 (용매 B) 혼합 용액으로 아세토나이트릴 (용매 B)을 [표 1]과 같은 구배 용출 (gradient elution)을 적용하여 상기한 지표 물질들을 분리하였다. 이온화는 전자스프레이 이온화장치 (ESI)의 Negative mode에서 수행하였다.

표 1

	용매 B의 농도 (%)
0-1분	3
1-5분	15
5-10분	25
10-11분	30
11-12분	45

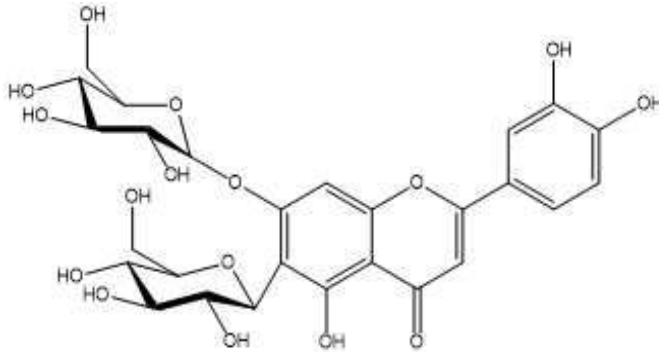
[0078] 그 결과, 도 2a의 피크 a의 고분해능 질량분석 (HRESIMS) 스펙트럼에서 $[M-H]^-$ 는 593.1480 (이론치, 593.1506)로 나타났다. 이로부터 원소조성이 사포나린의 원소조성과 일치하는 $C_{27}H_{30}O_{15}$ 임을 확인하였다. 또한 조각이온 431.0967 $[(M-H)-162]^-$ 는 사포나린에서 글루코스 잔기가 떨어져 나가 생성된 것이며, 조각이온 311.0521 $[(M-H)-(162+120)]^-$ 는 C-글리코실 플라본 (C-glycosyl flavones) 계통 화합물에서 나타나는 전형적인 조각화 패턴에 의해 형성된 것이다. 따라서 피크 a는 참고문헌 (Journal of Functional Foods, 2016, 26, 667-680)에 나타난 사포나린과 일치하는바, 사포나린으로 동정하였다 (도 2b).

[0079] [화학적 1]



[0082] 또한, 도 2a의 피크 b의 고분해능 질량분석(HRESIMS) 스펙트럼에서 $[M-H]^-$ 는 609.1421 (이론치, 609.1455)로 나타났다. 이로부터 원소조성이 루토나린의 원소조성과 일치하는 $C_{27}H_{30}O_{16}$ 임을 확인하였다. 또한 조각이온 447.0895 $[(M-H)-162]^-$ 는 루토나린에서 글루코스 잔기가 떨어져 나가 생성된 것이며, 조각이온 327.0487 $[(M-H)-(162+120)]^-$ 는 C-글리코실 플라본 (C-glycosyl flavones) 계통 화합물에서 나타나는 전형적인 조각화 패턴에 의해 형성된 것이다. 따라서 피크 b는 참고문헌 (Journal of Functional Foods, 2016, 26, 667-680)에 나타난 루토나린과 일치하는바, 루토나린으로 동정하였다 (도 2c).

[0083] [화학적 2]



[0084]

[0087] <실험예 3> 에틸렌 처리 시간별 사포나린 정량 분석

[0088] 최적의 처리시간을 결정하기 위하여, 3000ppm 농도의 에틸렌 가스를 6, 12, 24, 36, 48시간 동안 처리한 새싹보리를 <실험예2>와 같이 추출한 후, 새싹보리의 함유된 사포나린의 정량 분석을 수행하였다.

[0089] 구체적으로, 어벤션사 (Avention, 한국)에서 구입한 순도 98%의 사포나린을 80% 메탄올에 용해시켜 15.6, 31.2, 62.5, 125, 250, 500 ppm 농도로 표준용액을 제조하였다. 제조한 표준용액은 HPLC 분석을 실시하여 피크 면적 (peak area)으로부터 검량선을 작성하였다. 이 때, 사포나린의 머무름시간 (RT)은 13.503분으로 나타났다. 이를 활용하여 HPLC에 각 새싹보리 시료가 함유하고 있는 사포나린의 함량을 정량분석하였다.

[0090] 그 결과, [표 2]에 나타난 바와 같이, 에틸렌의 처리 시간이 증가함에 따라 사포나린 함량이 증가하는 것을 확인하였다. 구체적으로, 에틸렌을 48시간 동안 처리하였을 때 사포나린 함량은 약 20.73 mg/g으로 에틸렌을 처리하지 않은 경우 (약 14.23 mg/g) 보다 약 45% 증가했음을 확인하였다. 에틸렌의 최적 처리 시간은 24시간으로 확인하였다.

표 2

구분	에틸렌 처리 시간 (h)					
	0	6	12	24	36	48
사포나린 함량 (mg/g)	14.23±0.41	16.43±0.38	18.82±0.58	19.87±0.49	19.91±0.37	20.73±0.53

[0093] <실험예 4> 생육시기별 사포나린 함량 변화 및 각 시기별 에틸렌 처리에 따른 사포나린 함량 증가 효과

[0094] 생육시기별로 수확한 새싹보리의 사포나린 함량을 비교하기 위하여, 최적조건인 24시간동안 3000ppm 농도의 에틸렌 가스를 처리하여 수확한 새싹보리를 <실험예1>과 같이 추출한 후, <실험예 3>에 나타난 방법으로 사포나린의 정량 분석을 수행하였다.

[0095] 그 결과, 표 3에 나타난 바와 같이, 생육일수가 증가할수록 사포나린의 함량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 에틸렌 처리군은 무처리군에 비하여 사포나린의 함량이 20 내지 40% 증가하였다. 구체적으로, 생육일수 7일의 경우, 무처리군 (약 18.3mg/g)에 비하여 에틸렌 처리군 (약 24.4 mg/g)에 비하여 사포나린 함량이 약 33% 증가하였다. 또한, 생육일수 21일의 경우 무처리군 (약 14.2 mg/g)에 비하여 에틸렌 처리군 (약 19.9 mg/g)에 비하여 사포나린 함량이 약 40% 증가하였다 (도 3a 및 3b). 도 4는 표3의 새싹보리의 생육일수별 사포나린 함량을 그래프로 나타내었다. 한편, 새싹보리의 또다른 생리활성물질인 루토나린은 미량 존재하였고, 생육일수 10일 이후부터 검출되었다. 새싹보리의 루토나린 함량은 에틸렌 처리에 따라 사포나린과 유사한 경향으로 증가되었다. 특히, 생육일수 21일의 새싹보리의 경우, 에틸렌 처리군의 루토나린 함량은 무처리군 대비 약 1.4 배 증가되었다 (도 3a 및 3b).

표 3

생육일수	사포나린 함량 (mg/g)		증가율 (%)
	무처리군	에틸렌 처리군	
7일	18.3±0.5	24.4±0.8	33±3
14일	17.2±0.6	24.0±0.5	39±3
21일	14.2±0.4	19.9±0.5	40±2
35일	8.7±0.4	10.4±0.6	20±3

[0099] 상기의 결과는 새싹보리에 에틸렌을 처리하여 재배하는 경우 사포나린의 함량이 증가하여 높은 함량의 사포나린 이 함유된 새싹보리를 수확할 수 있음을 보여준다.

[0101] <실험예 5> LED를 이용한 새싹보리 재배시 광량별 사포나린 함량 비교 및 에틸렌 처리에 따른 사포나린 함량 증가 효과

[0102] 상기 <실시에 2>에 나타난 바와 같이 LED 광원의 세기를 달리하여 10일간 재배한 새싹보리의 사포나린 함량을 비교하고 에틸렌 처리에 따른 사포나린 함량 변화를 관찰하기 위하여, 3000ppm 농도의 에틸렌 가스를 24시간 처리하여 수확한 새싹보리를 상기한 <실험예 1>과 같이 추출한 후, <실험예 3>에 나타난 방법으로 정량 분석을 실시하였다.

[0103] 그 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 광량의 LED를 이용한 새싹보리 재배시 무처리군의 사포나린 함량이 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광량의 제공한 경우에 비해 높게 나타났다. 또한, LED를 이용하여 재배한 새싹보리의 에틸렌 처리군은 무처리군에 비하여 사포나린 함량이 증가하였다. 구체적으로, 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 LED를 이용한 경우 사포나린 함량이 약 70% 증가하였으며, 250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 광량을 제공한 경우에는 약 31% 증가함을 확인하였다.

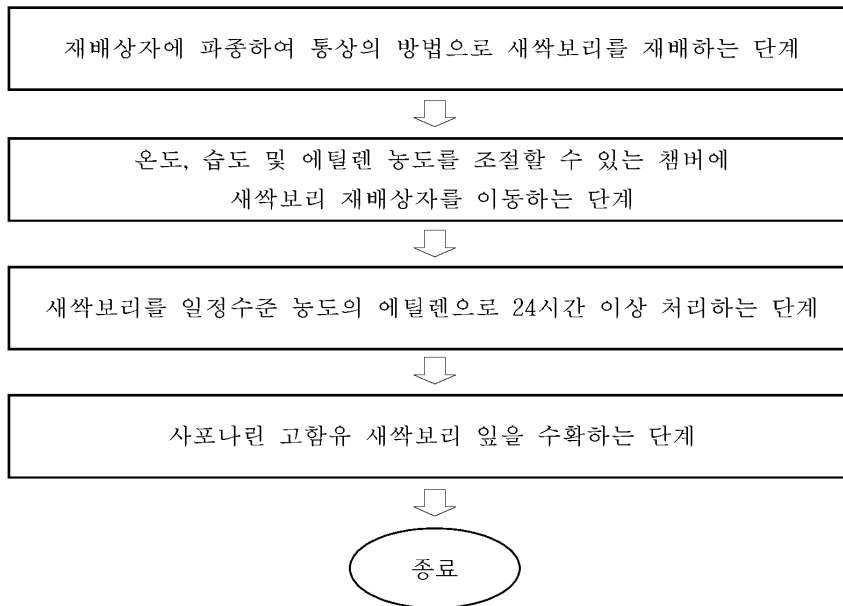
[0104] 상기의 결과는 LED 등의 인공광을 이용해 재배한 새싹보리에서도 에틸렌을 처리하면 사포나린의 함량이 증가된 새싹보리를 수확할 수 있음을 나타낸다.

표 4

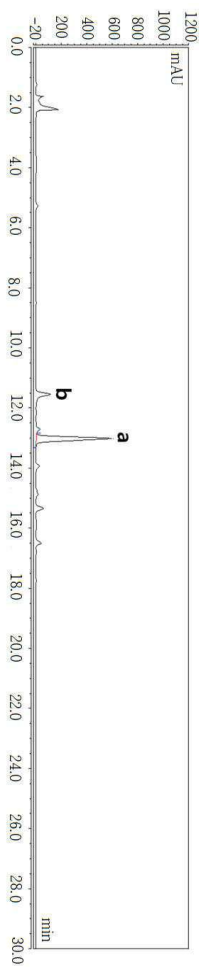
LED 광량 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	사포나린 함량 (mg/g)		증가율 (%)
	무처리군	에틸렌 처리군	
100	4.5±0.2	7.7±0.5	68±5
250	11.1±0.3	14.6±0.7	31±4

도면

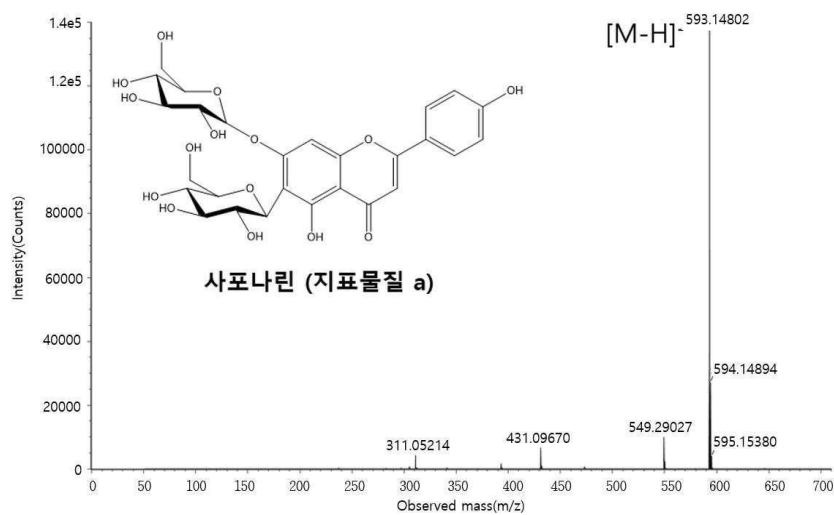
도면1



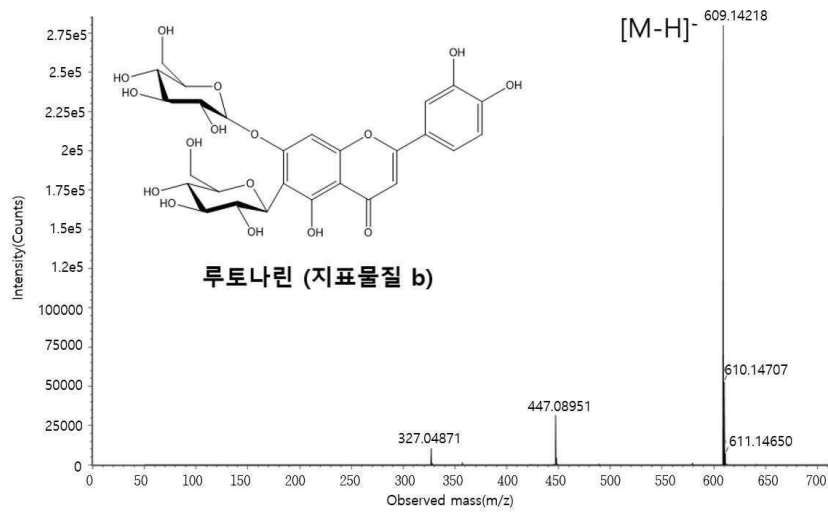
도면2a



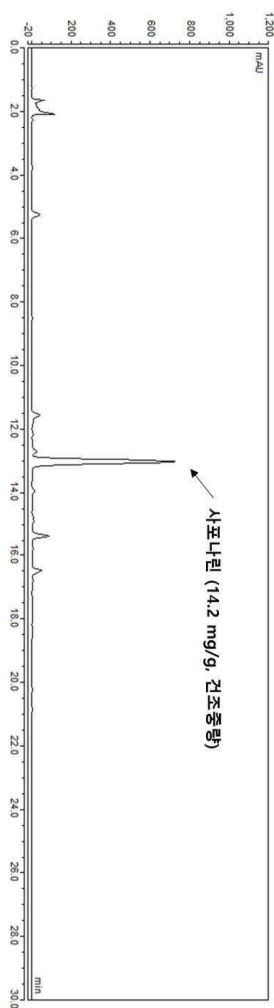
도면2b



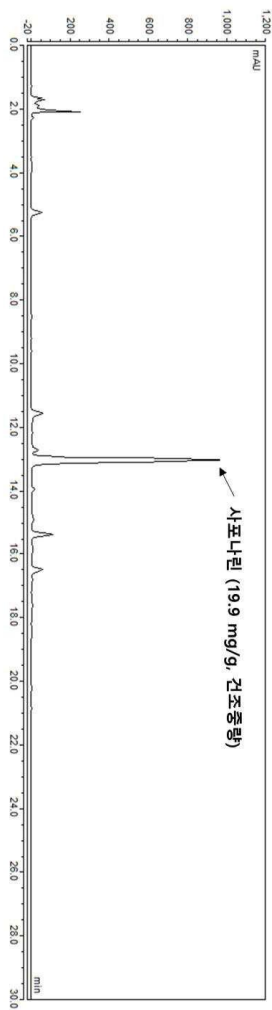
도면2c



도면3a



도면3b



도면4

