



# Optimization of the extraction procedure for quantitative analysis of saponarin and the artificial light condition for saponarin production from barley sprout

Kyeong-Yeol Oh<sup>1</sup> · Yeong Hun Song<sup>1</sup> · Duek-Yeong Lee<sup>1</sup> ·  
Tae-Geun Lee<sup>1</sup> · Jin-Hyo Kim<sup>1</sup>

## 고함량 사포나린 함유 보리 어린 순 재배를 위한 식물공장내 인공광 조건 및 사포나린 추출 분석법 최적화

오경열<sup>1</sup> · 송영훈<sup>1</sup> · 이득영<sup>1</sup> · 이태근<sup>1</sup> · 김진효<sup>1</sup>

Received: 11 June 2021 / Accepted: 29 June 2021 / Published Online: 30 September 2021  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2021

**Abstract** Saponarin is a crucial component of barley sprout, and the production and quantitative analysis are issued to date. In this study, the optimal saponarin extraction conditions were presented on the subject of acetonitrile, ethanol, methanol, and water for the quantitative analysis in barley sprout through the extraction efficiency compared with the solvent concentration and extraction time using the reaction surface methodology. The optimal extraction time and solvent condition for saponarin were 3.9 h and 53.7% of aqueous methanol, respectively. In addition, the effect of LED artificial light on the saponarin production in barley sprouts was evaluated by the light cycle, light quantity, and light quality. The optimal cultivation conditions under artificial light for the growth of barley sprout and saponarin production were most effectively achieved on 220-320  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  of the light quantity with 8 h  $\text{day}^{-1}$  of a daylight cycle under 6500K LED combined with red light.

Kyeong-Yeol Oh and Yeong Hun Song are equally contributed as the first author.

Jin-Hyo Kim (✉)  
E-mail: jhkim75@gnu.ac.kr

<sup>1</sup>Department of Agricultural Chemistry, Institute of Agriculture and Life Science (IALS), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Furthermore, blue light was evaluated as the main factor in the biosynthesis of saponarin.

**Keywords** Artificial light · Barley sprout · Extraction method · Optimization · Saponarin

## 서론

보리 어린 순(barley sprout)은 보리를 파종하여 10-20 cm 자란 어린 잎으로 외떡잎식물 벼목 화본과에 속하는 보리의 어린 싹이다[1]. 보리 어린 순에는 보리가 가지고 있는 영양소뿐만 아니라 각종 비타민, 미네랄, 항산화 효소, 식이섬유 등을 다량 함유하고 있고, 또한, 다양한 기능성 이차대사물질을 함유하고 있어 건강기능식품 및 식의약 소재로 산업적 이용 가치가 매우 높다[2]. 보리 어린 순이 함유하고 있는 다양한 기능성 flavonoid 성분 중 그 함량이 높고 기능성이 잘 알려진 saponarin은 flavone과 glucose가 결합한 배당체의 구조를 가지는 성분으로, 항산화 활성이 우수하고 혈중 콜레스테롤과 포도당 농도를 낮추며 지방간 감소 효과 및 항균 활성이 알려져 있다[3-5]. 이에 따라, 보리 어린 순을 활용한 다양한 건강기능성 식품이 개발, 시판되고 있으며, 이에 따라 보리 어린 순내 함유된 saponarin 함량은 주요 품질관리 지표로 인정받고 있다[6].

노지 재배시 연 1회 4월경 수확을 하는 보리 어린 순은 높은 saponarin 함량(>1000 mg 100 g<sup>-1</sup>)의 보리 어린 순 재배가 가능하지만, 연중생산이 불가하며 수확 단계에서 토양 등 이물 잔

류 우려가 높아 식물공장 등 시설에서 양액재배를 통해 토양 등 물리적 위해 요인을 감소시킨 연중 생산체계를 연구하고 있다[7]. 하지만, 노지 재배와 달리 시설재배의 경우 다양한 이화학적 요인에 의해 보리 어린 순 중 saponarin 함량이 낮아 saponarin 고함유 보리 어린 순 생산의 어려움이 있다. 보리 어린 순 생산에 있어서 노지와 시설재배의 주요 환경적 특성의 차이는 일사 광에 있으며, 주요 광 조성은 광량, 광주기, 광질 등이 식물의 성장과 발달, 형태형성, 이차대사산물의 생성 등에 영향을 미친다[8]. 이러한 광 특성은 식물의 생육과 발달에 중요한 환경요인으로써 생리학적, 형태학적뿐만 아니라 광합성의 중요한 에너지원으로서 그 역할을 수행하며, 특정 생리활성 성분의 증가나 생육 촉진 등 고품질 농산물 생산을 위한 연구가 활발히 이루어지고 있다[9-13]. 과거 시설재배에서는 인공광으로 백열등 및 형광등을 주로 사용하였으나 최근에는 발광다이오드(Light Emitting Diode, LED)를 활용한 식물 재배 연구가 많이 보고되고 있다[14-16]. LED는 안전하고 환경 친화적이며 형광등에 비해 수명이 길고 전력소모가 적고, 광합성에 유리한 펄스광 조사가 가능하며, 열 발생이 적어 식물체에 근접 조명이 가능한 특징이 있다. 또한, 특정 영역의 파장을 가지는 광질 선택이 가능하고 광량 조절이 용이하여 식물의 광합성을 촉진하거나 개화 조절 등을 쉽게 유도할 수 있다[9,17,18]. 최근에는 식물공장형 재배방식에서 LED 광원에 따른 각종 고품질 채소 재배 연구가 다양하게 이루어지고 있으나, 광질의 효과는 작물 종류와 품종 간 차이가 있는 것으로 보고되고 있고[19,20], 특히 보리 어린 순 재배와 saponarin 생산에 필요한 인공광 조성에 관한 연구는 산업적 수요에 비해 매우 부족한 상황이다. 따라서, 본 연구에서는 일반적인 지용성의 flavonoid와 달리 배당체 구조로 인해 수용성과 지용성을 동시에 갖는 양쪽성인 saponarin의 함량을 효율적으로 분석 정량하기 위한 최적의 saponarin 추출 및 분석 조건을 제시하고, 밀폐된 생육공간에서 인공광에 의한 saponarin 생성 영향을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 보리 어린 순 재배

보리 어린 순 재배에는 큰알보리 1호(국내산, Yeong-Kwang, Republic of Korea)를 사용하였으며, 분석법 확보를 위한 보리 어린 순 시료는 경상대학교 교내 부설 농장의 비닐하우스에서 5월에 토경 재배하였으며, 2엽기에 초엽의 길이가 평균 약 20 cm일 때 수확한 것을 45 °C에서 24시간 건조한 후 믹서로 분쇄하고 -20 °C에서 보관하며 분석법 연구에 사용하였다. 또한, 인공광 효과시험에는 보리 종자 50 g을 흐르는 물에 24시간 동안 priming하고, 수도용 상토가 올려진 350×200 mm tray에 priming된 보리 종자를 뿌린 후 각각의 인공광 조건에서 재배하였다. 재배사의 실내 온도는 20-23 °C 항온 조건을 유지하였다.

### 표준품 및 시약

실험에 사용된 saponarin 분석용 표준품과 trifluoroacetic acid는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 추출 및 분석에 사용한 용매인 acetonitrile (ACN), methanol (MeOH), ethanol (EtOH), water는 Burdick & Jackson™

**Table 1** The instrumental condition of HPLC for quantitative analysis of Saponarin

HPLC conditions		
Instrument	Agilent 1200 LC system (Agilent Technologies)	
Analytical column	Zorbax Eclipse XDB C18 (4.6×100 mm, 5 μm)	
Injection volume	10 μL	
Mobile phase	A: 0.1% Trifluoroacetic acid B: Acetonitrile	
Flow rate	1.5 mL/min	
Wavelength	325 nm	
Gradient	Time (min)	Mobile phase (%A)
	0	85%
	3	85%
	10	70%
	15	10%

(Honeywell International Inc, Morris Plains, NJ, USA)의 high-performance liquid chromatography (HPLC) grade를 사용하였다.

### Saponarin 정량 분석

건조 보리 어린 순 시료 1.0 g에 methanol 등 추출용매 30 mL를 첨가하여 24시간 동안 진탕 추출하고, 4,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 후 상등액을 methanol로 검량선 범위로 희석한 후 0.2 μm PTFE syringe filter (Biofact Co., Ltd., Daejeon, Korea)로 여과하였다. 이 후 HPLC-DAD (Agilent Technologies 1200 series, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 325 nm에서 saponarin 함량을 측정하였다. 상세한 HPLC 분석조건은 Table 1에 나타내었다. 정량을 위한 표준 검량선은 saponarin 표준품을 사용하여 0.5-50 mg L<sup>-1</sup> 농도로 제조하여 사용하였다.

### 색소함량 측정

Chlorophyll 등 보리 어린 순에서 추출된 색소는 각 극성용매 농도별 추출에 의해 제조된 시료를 분광광도계(Genesys 20 spectrophotometer, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 670 nm에서 흡광도를 측정하는 방법으로 수행하였다.

### Saponarin 최적 추출 조건

보리 어린 순의 saponarin 최적 추출 조건을 설정하고자 중심합성계획법을 이용하여 반응표면분석을 진행하였다. 용매는 분석에 많이 사용되는 methanol, ethanol, acetonitrile, water를 사용하였으며, 각 유기용매의 농도(0-100%)와 추출시간(1-24 h)을 다르게 하여 실험을 수행하고, 실험 범위를 설정하여 각각을 3 단계(-1, 0, 1)로 부호화하여 Table 2와 같이 중심합성계획의 조건을 설정하였다. 또한, 임의의 11구를 설정하여 Table 2와 같이 추출 실험을 하였다.

### 인공 광에 의한 보리 어린 순 재배

광 처리에 따른 saponarin 함량 및 생육량 변화를 알아보기 위해 20-23 °C의 항온조건과 60-70% 상대습도가 유지되는 완전 밀폐된 항온시설(L 7000×W 5000×H 2500 mm)에서 LED 광

**Table 2** Experimental data on extraction conditions of barely sprout based on central composite design by response surface method

Exp. No.	Extraction conditions (coded)		Experimental data	
	MeOH (X <sub>1</sub> , vol%)	Time (X <sub>2</sub> , h)	Saponarin (mg 100 g <sup>-1</sup> )	Pigment (Abs <sub>670</sub> )
1	40 (-1)	1 (-1)	866.13	0.0101
2	80 (1)	1 (-1)	881.21	0.1036
3	40 (-1)	5 (1)	1005.35	0.0123
4	80 (1)	5 (1)	1015.37	0.1293
5	40 (-1)	3 (0)	1000.11	0.0112
6	80 (1)	3 (0)	1011.87	0.1199
7	60 (0)	1 (-1)	896.32	0.0113
8	60 (0)	5 (1)	1038.36	0.0221
9	60 (0)	3 (0)	1034.29	0.0219
10	60 (0)	3 (0)	1020.29	0.0198
11	60 (0)	3 (0)	1046.44	0.0225

(LG Innotek, Seoul, Korea) 조건을 달리 설정하여 재배하였다. 향온시설 내에 설치된 재배사(L 2000×W 800×H 600 mm)는 상단에 LED 광원을 설치하고 벽면은 광반사 단열 필름을 부착하였다. 보리 어린 순의 saponarin 고함량 인공광 처리 최적 조건을 설정하기 위해 하에 광주기, 광량, 광질을 달리하여 재배 실험을 진행하였다. 광 주기에 의한 보리 어린 순의 생장과 saponarin 함량의 변화는 24시간을 기준으로 광 조사시간을 연속 8시간과 16시간으로 구분하여 수행하였다. 광량에 관한 시험은 70-500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>까지 50-60 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 간격으로 구분하여 재배시험을 진행하였다. 광질은 조사 LED의 광 온도를 3000K와 6500K로 구분하고, 각 광온도에서 부족한 파장대의 광을 보광하는 방법으로 ‘3000K+청색광’과 ‘6500K+적색광’의 조건을 추가하여 수행하였다.

**통계처리**

실험 데이터는 평균 및 표준편차(mean ± SD)로 표현하였으며 3 반복 실험을 하였다. 반응표면분석 및 통계분석은 Minitab (Version 18, Minitab Inc., State college, PA, USA)을 이용하여 각 시료별 간의 통계적 유의성 검정은 One-way ANOVA test를 실시하였으며, 사후분석은 Tukey법으로 검정하였다(p < 0.05).

**결과 및 고찰**

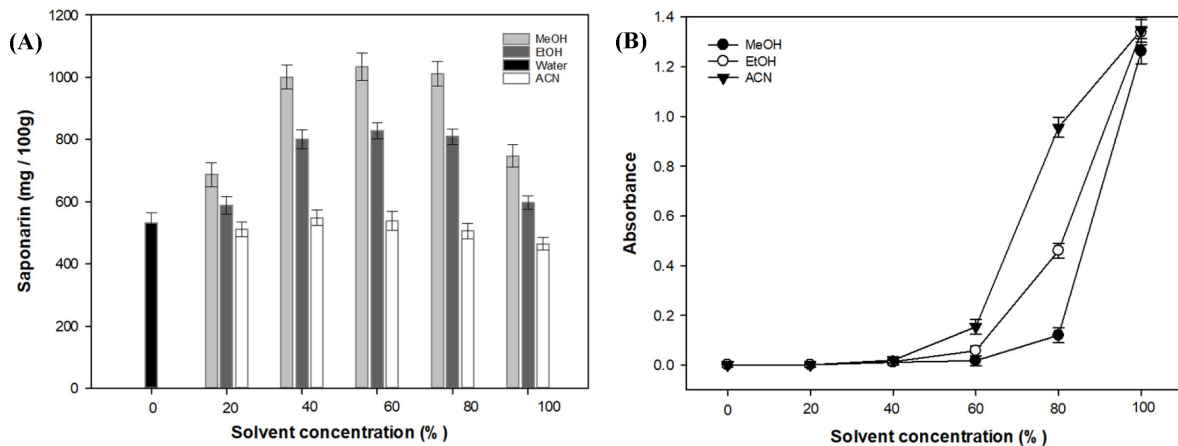
**건조 보리 어린 순에서 saponarin의 용매 별 추출 특성**

Saponarin은 2개의 glucose가 결합된 flavone계 물질로 예측된 log P값은 -0.83, 수용해도는 5.92 g L<sup>-1</sup>인 극성물질에 해당된다 [21]. 하지만, 추출 및 함량분석에 사용된 일반적인 방법들은 건조 보리 순에서의 추출율에 대해 면밀한 검토 없이 관행적으로 사용되는 알콜류를 사용하여 상대 정량을 하고 있다. 본 연구에서는 건조 보리 중 saponarin 추출에 적합한 추출 용매를 선정하고자 분석에 보편적으로 사용되는 용매인 methanol (log P = -0.77), ethanol (log P = -0.31), acetonitrile (log P = -0.34), water (log P = -1.38)을 사용하여 농도(0-100%)별 수용액을 제

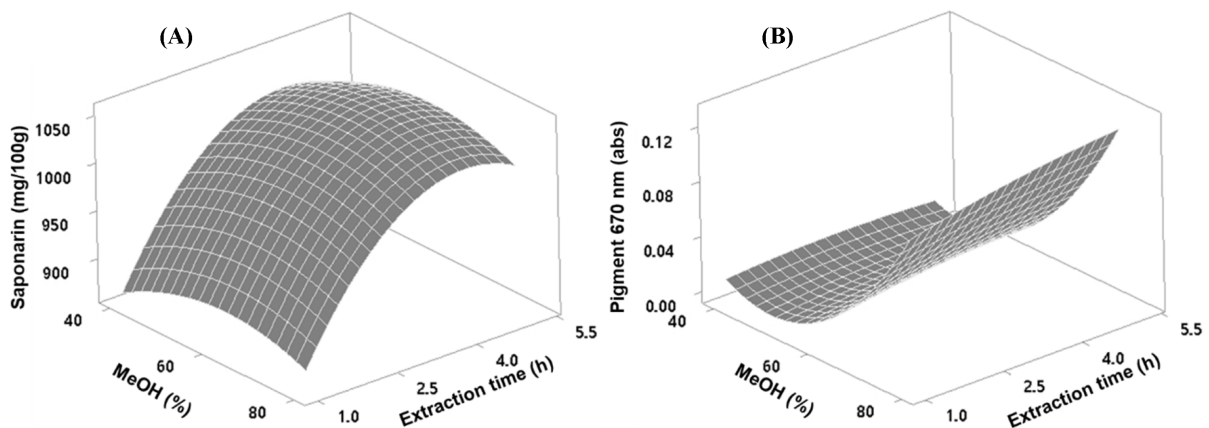
조한 후 saponarin 추출율을 비교 하였다. 시험결과 60%의 methanol 수용액에서 saponarin의 함량이 가장 높게 관찰되었으며, 40-80% methanol의 경우 유의적 차이는 확인되지 않았으며 (p < 0.05). 반면, 순수한 증류수와 농도를 달리하는 acetonitrile 수용액의 saponarin 추출율은 최대값을 나타낸 60% methanol 수용액(1034.3±32 mg 100 g<sub>dw</sub><sup>-1</sup>)과 비교하여 57% 이하의 낮은 추출율이 확인되었다(Fig. 1A). 따라서, 건조 보리 어린 순으로부터 효율적인 saponarin 추출을 위해서는 log P값이 ethanol 보다 낮은 용매를 사용할 것을 고려할 수 있으며, 유기용매가 적절히 혼합된 수용액을 사용하는 것이 순수한 증류수만을 사용하는 것보다 추출효율이 우수함을 확인하였다.

각 추출용매 조성에서 최적 추출시간에 대한 평가는 1-12 h 범위에서 수행하였고, 시험결과 1-2 h의 추출시간을 설정한 경우에도 추출 평균값은 4 h 이상 추출한 것과 유의적 차이는 나타나지 않았으나, RSD 값이 18-28%로 높았다. 또한, 4-12 h 동안 추출하는 경우 saponarin 함량에 대한 RSD 값은 15% 이내로 확인되었다. 본 연구로 확인된 추출용매 조성과 추출시간에서 saponarin 미함유 벼 어린 순에서의 회수율 시험을 10 mg L<sup>-1</sup> 수준에서 실시하였으며, 그 결과 98.1% (RSD 8.7%)로 확인되었다.

Chlorophyll 등 엽록체 구성색소는 HPLC 분석시 주요 간섭 물질이며, chlorophyll과 같은 금속함유 물질은 분리용 column을 쉽게 오염시킬 수 있고 오염 후 제거하기가 매우 까다롭다. 이에 따라, saponarin 정량분석에서 matrix의 교란물질 추출율은 낮추면서 saponarin의 최대 추출율을 확보할 수 있는 추출조건을 탐색하였다. Saponarin 추출용매 조건에서 보리 어린 순의 색소 추출시험 결과, log P값이 가장 높은 acetonitrile에서 색소 함량이 가장 높게 확인되었으며, 60% 수용액에서도 absorbance 0.1 이상 높은 색소 함량이 확인되었다. 반면, methanol 수용액의 경우 60% 이하 수용액에서는 absorbance 값이 0.1 미만이었으며, 80% 이상 수용액에서 0.1 이상의 값이 확인되었다(Fig. 1B). 따라서, 색소에 대한 용매별 추출율은 acetonitrile > ethanol > methanol 순으로 확인되었으며 이는 Gomes 등[22]의 연구결과와 유사하게 나타났다.



**Fig. 1** Effects of extraction variables on the extraction solvents concentration of saponarin content (A) and pigment absorbance (B). Data are expressed as mean  $\pm$  SD of triplicate experiments



**Fig. 2** Three-dimensional response surface plots for saponarin content (A) and pigment absorbance (B)

### 반응표면분석을 통한 건조 보리 어린 순의 Saponarin 최적 추출 조건 탐색

Saponarin 함량 검증을 위한 최적의 saponarin 추출 분석 조건은 반응표면분석법을 이용하여 최적화하였다. 실험 계획법은 중심합성계획법을 이용하였으며 분석에서 중요하게 고려되는 독립변수는 기초 실험 결과를 바탕으로 추출 시간(1-5 h)과 methanol 농도(40-80%)를 선택하였다. 추출시간과 용매농도에 대한 종속변수로는 saponarin과 색소 함량으로 설정하였다. 색소 추출시험에서 확인된 바와 같이(Fig. 1B), 60% 이상 농도의 유기용매 수용액에서 건조 식물체내 색소가 용리되어 추출된다. 따라서, 보리 어린 순의 saponarin 추출은 최대화 하면서 chlorophyll 등 색소 추출은 최소화하는 추출조건을 확립하기 위해 사용한 중심합성계획법에 따라 설계된 11개의 조건을 이용하여 각 실험을 진행하였다. 반응표면분석법에 의해 측정된 saponarin 함량과 색소의 흡광도값은 Table 2에 나타내었다.

반응표면분석에서 중심합성계획법에 따라 설계된 11개의 조건에서 분석된 보리 어린 순의 saponarin 함량은 866.1-1046.4 mg 100 g<sup>-1</sup>이었으며, 색소 지표인 absorbance 값은 0.0101-0.1293의 범위로 확인되었고, 이에 따른 반응표면도는 Fig. 2와

같았다. 반응표면 회귀식 계수는 Table 3과 같으며, 회귀식 결정계수 R<sup>2</sup>는 saponarin 추출에서 0.9921, 색소 추출에서 0.9993으로 나타내었다.

**Table 3** Regression coefficients of predicted quadratic polynomial models for the different response

Parameter <sup>1)</sup>	Saponarin	Pigment
Intercept	520.7632*	0.2823*
X <sub>1</sub>	8.3347**	-0.0115*
X <sub>2</sub>	134.1540*	-0.0009
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.0661**	0.0001*
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-16.2730*	-0.0008***
X <sub>1</sub> *X <sub>2</sub>	-0.0316	0.0001**
R <sup>2</sup>	0.9921	0.9993
Adj R <sup>2</sup>	0.9843	0.9985
Pred R <sup>2</sup>	0.9833	0.9947

<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: Methanol concentration (%), X<sub>2</sub>: Extraction time (h), R<sup>2</sup>: correlation coefficients, Adj R<sup>2</sup>: adjusted R<sup>2</sup>, Pred R<sup>2</sup>: predicted R<sup>2</sup>, \* Significant at  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.05$



**Table 4** Regression analysis for regression model of chemical properties in extraction condition of barley sprout

Parameter <sup>1)</sup>	F-value	
	Saponarin	Pigment
Model	126.3859*	1355.5708*
X <sub>1</sub>	26.1414**	1047.5653*
X <sub>2</sub>	169.5030*	0.1633
Lack of fit (p-value)	0.0258 (0.9928)	2.1322 (0.3351)

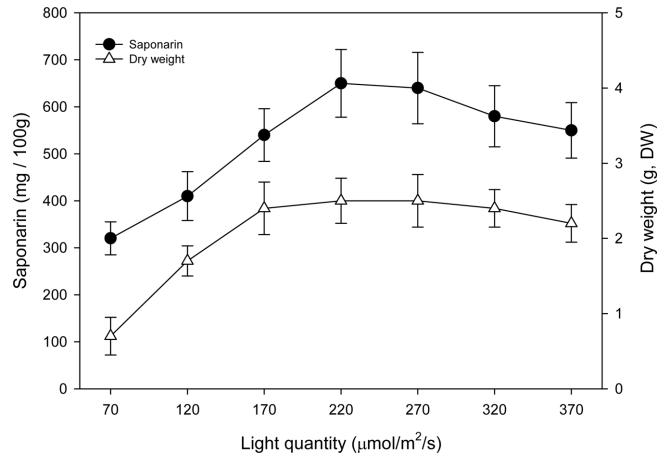
<sup>1)</sup>X<sub>1</sub>: Methanol concentration (%), X<sub>2</sub>: Extraction time (h)

\*Significant at  $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.05$

추출조건별 saponarin 함량은 methanol 농도 ( $F$ -value 26.14,  $p < 0.01$ ), 추출 시간( $F$ -value 169.50,  $p < 0.001$ )에 의해 모두 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났다. 추출조건별 색소 추출은 methanol 농도( $F$ -value 1047.56,  $p < 0.01$ )에서 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며 추출 시간( $F$ -value 0.1633,  $p > 0.05$ )에 대한 영향은 받지 않는 것으로 나타났다. 적합성 검여 검증(Lack of fit)에서 두 종속변수에 대한  $F$ 값은 각각 0.0258, 2.1322로 나타났으며  $p$ 값이 0.05 이상으로 나타남에 따라 해당 실험 모델은 적합하다고 할 수 있었다(Table 4). Saponarin 최대 추출, 색소 최소 추출이라는 조건에서 최적화를 실시한 결과, 최적 추출 조건은 methanol 53.7%, 추출시간 3.9 h으로 나타났으며, 이에 따른 saponarin 추출량은 1046.6 mg 100 g<sup>-1</sup>, 색소 absorbance는 0.010이었다. 최적화 모델에 대한 만족도(desirability)는 1.000로 나타났다(Table 5).

**광 주기에 따른 Saponarin 함량 및 생육량 분석**

발아된 보리에 광 온도 6500K의 LED를 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>과 500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>의 광량으로 24시간 1일을 기준으로 광 조사 시간을 8 h day<sup>-1</sup> 또는 16 h day<sup>-1</sup> 처리하며 초엽의 길이가 평균 15 cm일 때 수확하여 saponarin 함량 및 200엽기준 건조 중량을 분석하였다. 그 결과, 250 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>과 500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>의 광량으로 8 h day<sup>-1</sup> 조건으로 광 처리하여 재배한 보리 어린 순의 saponarin 함량이 16 h day<sup>-1</sup> 조건으로 광 처리하여 재배한 보리 어린 순에 비해 최대 70% 증가하였고, 보리 어린 순의 건조 중량은 약 7% 증가하였다(Table 6). 조사 광량을 500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>로 증가시킨 경우 saponarin 함량 및 보리 어린



**Fig. 3** Changes in saponarin content and barley sprout dry weight according to light quantity. Data are expressed as mean ± SD of triplicate experiments. Different letters at the top of bars indicate significances in different light quantities ( $p < 0.05$ )

순의 건조 중량이 크게 줄어들었으며, 이는 광 스트레스에 의해 발생한 생리장애로 판단된다. Kozai 등[23]에 의하면 일반작물 생산을 위한 광량은 500-700 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 육묘 생산을 위한 광량은 25-350 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>로 보고하고 있다. 따라서, 보리 어린 순의 적절한 생육 관리를 위한 광 조성은 8 h day<sup>-1</sup>의 광 주기로 500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이하의 광량이 요구되었다.

**광량에 따른 Saponarin 함량 및 생육량 분석**

보리 어린 순 재배의 최적 광량 구간을 확인하고자 발아된 보리에 8 h day<sup>-1</sup> 광 주기로 광온도 6500K의 LED 광을 70-370 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 범위에서 약 50 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 간격으로 광량을 달리 조절하여 보리 어린 순을 재배한 후 saponarin 함량 및 건조 중량을 확인하였다. 그 결과, 220-320 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>의 광 조사 조건에서 saponarin 함량과 건조 중량이 가장 우수함을 확인하였다. 특히, 120 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이하의 광량에서는 보리 어린 순의 생육이 느려 건조 수확량이 유의적으로 감소함을 확인하였고, 170 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이상의 광량을 처리했을 때 보리 어린 순의 생육이 양호한 것을 확인하였다( $p < 0.05$ ). 370 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 이상의 광량을 처리했을 때는 saponarin 함량 및 건조 중량이

**Table 5** Predicted and experimental values of saponarin and pigment in the optimum conditions

Optimum conditions		Predicted value <sup>1)</sup>	
MeOH concentration (%)	Extraction time (h)	Saponarin (mg 100 g <sup>-1</sup> )	Pigment (Abs <sub>670</sub> )
53.7	3.9	1046.63	0.010

<sup>1)</sup>Desirability: 1.000

**Table 6** Saponarin content of according to photoperiod and light quantity

Photoperiod	8 h day <sup>-1</sup>		16 h day <sup>-1</sup>	
	light quantity (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		250	500
Biomass (g <sub>dw</sub> )	250	1.7±0.2	2.8±0.3	1.2±0.2
Saponarin (mg 100 g <sup>-1</sup> )	250	653±68	415±51	382±48
	500			306±42

<sup>1)</sup>Each value expressed as the mean ± standard deviation (n = 3).

**Table 7** Saponarin content of according to light temperature and supplemental lighting

Light temperature (K)	Light quantity ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Saponarin ( $\text{mg } 100 \text{g}^{-1}$ )
3000	220	481 $\pm$ 37 <sup>3)</sup>
3000	320	517 $\pm$ 28
3000+blue light <sup>1)</sup>	320	578 $\pm$ 53
6500	220	651 $\pm$ 71
6500	320	582 $\pm$ 66
6500+red light <sup>2)</sup>	320	749 $\pm$ 73
6500+blue light	320	382 $\pm$ 48

<sup>1)</sup>450 nm, <sup>2)</sup>660 nm<sup>3)</sup>Each value expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (n=3).

감소하는 경향으로 확인되었다(Fig. 3). 따라서, 인공광에 의해 보리 어린 순 재배 시 220-270  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  광량을 조사하는 것이 최적의 생육량을 확보하면서 saponarin 함량을 증진시키는 최적의 광 조건임을 확인 할 수 있었다.

#### 광 온도 및 보광 처리에 따른 Saponarin 함량 분석

최적 광량으로 확인된 220-320  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 조건에서 조사 광 온도를 3000K와 6500K로 구분하고, 각 광 온도에서 부족한 파장대의 광을 보광 처리한 후 재배된 보리 어린 순의 saponarin 함량을 조사하였다. Table 7에서 제시한 것과 같이, 3000K 에서 220  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  처리한 보리 어린 순은 동일한 광량으로 6500K 광을 처리한 처리구에 비해 saponarin 함량이 27% 감소하였다. LED 광원 제조사에서 제공하는 3000K 광 스펙트럼은 6500K와 비교하여 광합성 소요 파장대로 알려진 적색광 영역 600-700 nm의 광 분포는 높으나 청색광 영역인 400-500 nm 광 분포는 매우 낮은 것으로 확인되었다. 따라서, 청색광이 saponarin 생합성에 관여함을 유추할 수 있다. 이에 따라, 각 주요 광 온도조건에서 부족한 파장대의 광을 보광하여 총 광량을 320  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 으로 유지하며, 6500K에 상대적으로 부족한 적색광을 보광처리하고, 3000K에는 청색광을 보광처리할 때 보리 어린 순의 saponarin 생성량을 각각 비교 분석하였다. 220  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 6500K를 주 광원으로 600-700 nm를 주파장대로 갖는 적색 LED를 보광처리할 때, 6500K LED 단독 처리구 대비 saponarin 함량이 28% 증가함을 확인하였다. 반면, 6500K의 LED 광에 400-500 nm를 주 파장대로 하는 청색광을 보광처리한 경우, saponarin 함량은 6500K LED 광 단독 처리구에 비해 35% 가량 감소하였으며, 건물 생육량도 저하되는 것을 확인하였다(Table 7). 또한, 3000K를 주 광원으로 청색광을 보광한 경우 12% 가량 saponarin 함량이 증가하여, 6500K 단독 광원 처리와 saponarin 함량이 유사함을 확인하였다. 적색광은 식물의 phytochrome을 자극하여 광합성 능력을 향상시키고 청색광은 cryptochrome을 자극하여 이차대사물질 합성에 영향을 미칠 수 있고[24-27], 특히 청색광은 anthocyanin 합성을 조절하는 phenylpropanoid 생합성경로에서 Chalcone synthase (CHS)의 발현을 촉진하여 anthocyanin 함량을 증진하는 것으로 알려져 있다[28]. Saponarin 생합성 경로 또한 CHS 작용을 수반해야 하기 때문에 청색광에 의해 유도된 대사 경로를 통하여

보리 어린 순의 saponarin 함량 증진에 기여했을 것이라고 판단된다[29]. 이와 같은 결과를 종합하면 saponarin 생합성에 청색광이 주요 인자로 작용함을 확인하였다.

따라서, saponarin 고함유 보리 어린 순의 재배에는 8 h day<sup>-1</sup>의 광 주기에서 6500K LED와 적색보광을 통한 220-320  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 최종 광량이 효과적인 인공 광 조사조건으로 확인 되었다. 이와 같은 인공 광 재배 시스템은 saponarin 고함유 보리 어린 순의 연중 생산에 기여 할 수 있을 것이라고 판단된다.

## 초 록

본 연구에서는 보리 어린 순의 기능성 성분인 saponarin의 정량적 추출을 위한 최적의 추출 분석 조건을 methanol, ethanol, acetonitrile 및 water를 대상으로 반응표면분석법을 통해 실시하였다. 이를 통해 용매의 농도, 추출 시간에 따른 saponarin과 색소 추출율을 확인한 결과, 53.7% methanol 수용액에서 3.9 h 동안 진탕추출하는 것이 높은 saponarin 추출율을 유지하면서, 불필요한 색소의 추출을 최소화하는 최적 추출조건으로 확인되었다. 보리 어린 순의 재배에 필요한 인공광의 saponarin 생성 영향 평가를 광 주기, 광량, 광질을 달리한 조건에서 시험한 결과, saponarin 고함유 보리 어린 순의 인공광 최적 재배 조건은 8 h day<sup>-1</sup>의 광 주기에서 6500K LED와 적색보광을 통한 총 광량 220-320  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 가장 효과적임을 확인 할 수 있었고, 청색광이 saponarin 생합성에 주요 인자로 작용함을 확인 할 수 있었다.

**Keywords** 보리 어린 순 · 사포나린 · 인공광 · 추출 방법 · 최적화

**감사의 글** The Basic Science Research Program supported this research through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (No. 2019R111A3A01042356), Republic of Korea.

## References

- Lee JJ, Park DH, Lee WY (2017) Optimization of microwave assisted extraction process of *Hordeum vulgare* L. by response surface methodology. Korean J Food Preserv 24: 949–956. doi: 10.11002/kjfp.2017.24.7.949
- Kim KT, Seog HM, Lee SH, Kim DM (2003) The functionality of barley leaves and its application on functional foods. Food Sci Ind 36: 45–49
- Benedet JA, Umeda H, Shibamoto T (2007) Antioxidant activity of flavonoids isolated from young green barley leaves toward biological lipid samples. J Agric Food Chem 55: 5499–5504. doi: 10.1021/jf070543t
- Lee YH, Kim JH, Kim SH, Oh JY, Seo WD, Kim KM, Jung JC, Jung YS (2016) Barley sprouts extract attenuates alcoholic fatty liver injury in mice by reducing inflammatory response. Nutrients 8: 440. doi: 10.3390/nu8070440
- Basile A, Giordano S, Lopez-Saez JA, Cobianchi RC (1999) Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. Phytochemistry 52: 1479–1482. doi: 10.1016/S0031-9422(99)00286-1
- Ha KY (2018) Current status on research and industrial value of barley sprout. Dissertation, Kongju National University
- Kim JS (2021) The effect of artificial lights on the growth and quality

- of hydroponic cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) sprouts. *J Plant Biotechnol* 48: 62–70. doi: 10.5010/JPB.2021.48.1.062
8. Hughes KW (1981) In vitro ecology: Exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture systems. *Environ Exp Bot* 21: 281–288. doi: 10.1016/0098-8472(81)90038-1
  9. Gupta SD, Jatothu B (2013) Fundamentals and applications of light-emitting diodes LEDs in in vitro plant growth and morphogenesis. *Plant Biotechnol Rep* 7: 211–220. doi: 10.1007/s11816-013-0277-0
  10. Um YC, Oh SS, Lee JG, Kim SY, Jang YA (2010) The development of container-type plant factory and growth of leafy vegetables as affected by different light sources. *J Bio-Env Con* 19: 333–342
  11. Lee GI, Kim HJ, Kim SJ, Lee JW, Park JS (2016) Increased growth by LED and accumulation of functional materials by fluorescence lamps in a hydroponics culture system for *Angelica gigas*. *J Bio-Env Con* 25: 42–48. doi: 10.12791/KSBEC.2016.25.1.42
  12. Chung SO, Kim YM, Ryu DG, Kim SJ, Park JT (2014) Variation of functional compounds in leafy chinese cabbage grown under different light conditions in a plant factory. *Korean J Food Sci Technol* 46: 526–529. doi: 10.9721/KJFST.2014.46.4.526
  13. Park S, Cho E, An J, Yoon B, Choi K, Choi E (2019) Plant growth and ascorbic acid content of *spinacia oleracea* grown under different light-emitting diodes and ultraviolet radiation light of plant factory system. *J Bio-Env Con* 28: 1–8. doi: 10.12791/KSBEC.2019.28.1.1
  14. Lee S, Park S (2014) LED array design for optimal combination of plant grown. *J Plant Biotechnol* 41: 123–126. doi: 10.5010/JPB.2014.41.3.123
  15. Lee HR, Kim HM, Kim HM, Park SH, Hwang SJ (2019) Applicability of artificial light source and newly developed growing medium for lettuce cultivation in a closed-type plant production system. *J Bio-Env Con* 28: 134–142. doi: 10.12791/KSBEC.2019.28.2.134
  16. Park SY, Oh MM (2021) Enhancement of crepidiastrum denticulatum production using supplemental far-red radiation under various white LED lights. *J Bio-Env Con*, 30: 149–156. doi: 10.12791/KSBEC.2021.30.2.149
  17. Bula RJ, Morrow RC, Tibbitts TW, Barta DJ, Ignatius RW, Martin TS (1991) Light-emitting diodes as a radiation source for plants. *Hortscience* 26: 203–205. doi: 10.21273/HORTSCI.26.2.203
  18. Yeh H, Chung JP. (2009) High-brightness LEDs-energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. *Renew Sust Energy Rev* 13:2175–2180. doi: 10.1016/j.rser.2009.01.027
  19. Kim S, Bok G, Lee G, Park J (2017) Growth characteristics of lettuce under different frequency of pulse lighting and RGB ratio of LEDs. *J Bio-Env Con* 26: 123–132. doi: 10.12791/KSBEC.2017.26.2.123
  20. Kang S, Yang HJ, Ko BS, Kim MJ, Kim BS, Park S (2015) Effect of LED with mixed wavelengths on bio-active compounds in cherry tomato and red cabbage. *Korean J Food Cook Sci* 31: 505–509. doi: 10.9724/kfcs.2015.31.4.505
  21. Tetko IV, Gasteiger J, Todeschini R, Mauri A, Livingstone D, Ertl P, Palyulin VA, Radchenko EV, Zefirov NS, Makarenko AS, Tanchuk VY, Prokopenko VV (2005) Virtual computational chemistry laboratory - Design and description, ALOGPS (Version 2.1) [Computer Software]. *J Comput Aided Mol Des* 19: 453–463
  22. Gomes PGC, Veloso AF, Maynard IFN, Marques MN, de Souza RL, Pereira MM, Soares CMF, Lima AS (2020) Integrative process to extract chlorophyll and purify rosmarinic acid from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*). *J Chem Technol Biotechnol* 95: 1503–1510. doi: 10.1002/jctb.6343
  23. Kozai T, Kubota C, Chun C, Afreen F, Ohyama K (2000) Necessity and concept of the closed transplant production system. In: Kubota C, Chun C (eds) *Transplant production in the 21st century*. Springer, Dordrecht, pp 3–19
  24. Neff MM, Van Volkenburgh E (1994) Light-stimulated cotyledon expansion in Arabidopsis seedlings (the role of phytochrome B). *Plant Physiol* 104: 1027–1032. doi: 10.1104/pp.104.3.1027
  25. Quail PH (1991) Phytochrome: A light-activated molecular switch that regulates plant gene expression. *Annu Rev Genet* 25: 389–409. doi: 10.1146/annurev.ge.25.120191.002133
  26. Butler WL, Hendricks SB, Siegelman HW (1964) Action spectra of phytochrome in vitro. *Photochem Photobiol* 3: 521–528. doi: 10.1111/j.1751-1097.1964.tb08171.x
  27. Zheng L, Van Labeke MC (2017) Chrysanthemum morphology, photosynthetic efficiency and antioxidant capacity are differentially modified by light quality. *Plant Physiol* 213: 66–74. doi: 10.1016/j.jplph.2017.03.005
  28. Meng XC, Xing T, Wang XJ (2004) The role of light in the regulation of anthocyanin accumulation in *Gerbera hybrida*. *J Plant Growth Regul* 44: 243–250. doi: 10.1007/s10725-004-4454-6
  29. Kim S, Bok G, Park J (2018) Analysis of antioxidant content and growth of *Agastache rugosa* as Affected by LED light qualities. *J Bio-Env Con* 27: 260–268. doi: 10.12791/KSBEC.2018.27.3.260