

국내 다소비 새싹채소 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 간세포 보호 효과

유재은¹ · 정택영¹ · 최용민² · 이상훈² · 이하나¹ · 정현상¹ · 이준수¹

¹충북대학교 식품생명공학과

²국립농업과학원 농식품자원부 식생활영양과

Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of Methanol Extracts from Vegetable Sprouts Commonly Consumed in Korea

Jaeun Yu¹, Taekyoung Jeong¹, Youngmin Choi², Sang Hoon Lee²,
Hana Lee¹, Heon Sang Jeong¹, and Junsoo Lee¹

¹Division of Food and Animal Sciences, Chungbuk National University

²Food and Nutrition Division, Department of Agrofood Resources, National Institute of Agricultural Sciences

ABSTRACT Vegetable sprouts are commonly recognized as outstanding sources of bioactive compounds, which are associated with reduction in the risk factors for chronic diseases, such as cardiovascular diseases, diabetes, and obesity. The purpose of this work was to evaluate the antioxidant and hepatoprotective activities of methanol extracts from 16 different vegetable sprouts commonly consumed in Korea. Total polyphenol content (TPC) and flavonoid content (TFC) values ranged from 6.6 ± 0.2 to 44.0 ± 0.5 mg gallic acid equivalent/g dry matter (DM) and from 1.3 ± 0.1 to 17.3 ± 0.4 mg catechin equivalent/g DM, respectively. Among the samples, red buckwheat sprout showed the highest TPC and TFC. On the other hand, red young radish sprout contained the highest total anthocyanin contents. Hepatoprotective activity against *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP)-induced oxidative stress in HepG2 cells was the highest in red buckwheat sprout. In addition, methanol extracts of vegetable sprouts significantly reduced the reactive oxygen species level, formation of malondialdehyde, and depletion of glutathione. TPC and TFC were both positively correlated with antioxidant capacity. However, no relationship was found between antioxidant capacity and hepatoprotective effects. Overall, these results may suggest that vegetable sprouts have significant health-promoting effects based on their excellent antioxidant and hepatoprotective activities.

Key words: vegetable sprout, antioxidant, hepatoprotection, correlation

서 론

새싹채소는 서구화된 식습관의 변화에 따라 건강 상태를 개선하고 유지하는 데 관심이 많아지면서 소비자들에게 인기를 얻고 있다(Sikin 등, 2013). 새싹채소는 종자에서 발생하는 싹을 키워 발아한 지 일주일 정도 된 어린순, 뿌리, 줄기 등을 식용으로 하는 채소이다(Kim 등, 2006). 또한, 새싹채소는 영양적 가치 외에 다양한 만성질환의 위험을 낮추고 건강을 증진시키는 등 다양한 효과가 보고되어 있고, 일반 채소보다 크기가 작지만 각종 아미노산, 비타민, 무기질을 비롯한 다양한 생리활성 물질을 다량 함유하고 있다고 보고

되고 있다(Kim 등, 1988). 따라서 여러 가지 새싹채소를 식품 재료로 개발하려는 노력이 이루어지고 있다(Lee 등, 2007). 대표적으로 소비자들에게 주목 받고 있는 새싹채소는 브로콜리순, 메밀순, 무순 등이며, 새싹채소의 품종이 다양해지고 소비자들의 관심이 높아짐에 따라 새싹채소에 대한 소비 욕구가 증가할 것으로 예상된다(Kuo 등, 1988).

생체 내에서 발생하는 활성산소(reactive oxygen species)는 생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 산화시켜 과산화물을 축적하며, 이 상태가 지속되면 단백질과 지질에 영향을 미쳐 구성성분을 산화시킬 뿐만 아니라 산화 촉진제로 작용하여 DNA나 RNA의 돌연변이 유발 과정을 촉진하는 요인으로 작용한다(Eigner와 Scholz, 1999). 이로 인해 간조직을 손상시킬 수 있고 피부노화를 비롯한 동맥경화, 뇌졸중, 당뇨병, 종양의 생성과 같은 여러 가지 질병을 일으킨다고 알려져 있다(Jung과 Baek, 2018; Kamat, 2006).

You와 Pyo(2015)의 연구에 따르면 밀싹 에탄올 추출물은 항산화 및 항염증 효과를 가진 기능성 화장품 소재로서 활용이 가능하고, Fahey 등(1997)의 연구에 따르면 브로콜

Received 12 June 2020; Accepted 13 July 2020

Corresponding author: Junsoo Lee, Division of Food and Animal Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea

E-mail: junsoo@chungbuk.ac.kr, Phone: +82-43-261-2566

Author information: Jaeun Yu (Graduate student), Taekyoung Jeong (Graduate student), Hana Lee (Graduate student), Heon Sang Jeong (Professor), Junsoo Lee (Professor)

리에 함유된 항암물질인 sulforaphane의 함유량은 성숙한 브로콜리보다 새싹에서 40배 이상 많이 함유되어 있다는 사실이 보고되면서 새싹채소에 대한 관심이 높아졌다. 하지만 다양한 종류의 새싹채소에 대한 항산화 활성과 간세포 보호 활성에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 16종의 다양한 새싹채소들의 메탄올 추출물을 이용하여 항산화 활성을 평가하고, 간세포인 HepG2 세포에 산화적 스트레스를 가했을 때 세포 생존율 및 보호 효과와 항산화 지표 물질의 변화에 미치는 영향에 대해 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용된 시료는 국내에서 다소비 되는 새싹채소 16종을 대형마트에서 2018년 9월에 구입하여 사용하였다. 동결 건조하여 일정량을 분쇄기로 균질하게 마쇄한 뒤 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. 마쇄된 시료 1 g에 메탄올 200 mL를 가한 뒤 24시간 동안 상온에서 추출하였다. Whatman No.2 filter paper(Whatman International, Kent, UK)를 이용하여 여과한 후 추출물을 40°C 이하에서 감압 농축하였다. 농축액을 dimethyl sulfoxide(DMSO)로 재용해한 후 0.22 µm 멸균 필터로 여과하고 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다.

실험에 사용된 시약인 gallic acid, Folin-Ciocalteu reagent, Trolox, ABTS(2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), *tert*-butyl hydroperoxide, 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCFH-DA), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT), glutathione reductase(GR), 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB) 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum(FBS), Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), trypsin-EDTA, penicillin-streptomycin은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며 HepG2는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다.

총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법을 응용하여 측정하였다(Singleton 등, 1999). 희석된 추출물 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가하고 50% Folin-Ciocalteu's reagent 100 µL를 혼합해 주었다. 실온에서 5분 동안 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 0.1% gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 추출물의 총 페놀 함량을 환산하여 mg gallic acid equivalent(GAE)/g dry matter(DM)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. 희석된 추출물 250 µL에 증류수 1.25 mL를 혼합한 뒤 75 µL의 5% sodium nitrite를 첨가하여 6분간 반응시켜 주었다. 10% aluminum chloride를 150 µL 첨가한 후 5분간 반응시키고 1 M의 sodium hydroxide 500 µL를 첨가한 뒤 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 환산하여 mg catechin equivalent(CE)/g DM으로 나타내었다.

항산화 활성 측정

항산화 활성은 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. ABTS 라디칼 소거 활성은 Re 등(1999)의 방법을 응용하여 측정하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM의 potassium persulfate를 첨가한 뒤 암소에서 24시간 동안 방치하여 충분한 라디칼을 생성시켜 주었다. 라디칼이 형성된 ABTS 용액 1 mL와 추출물 50 µL를 혼합한 뒤 60분간 암소에서 방치 후 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 추출물의 항산화력을 mg Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC)/g DM으로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois 등(1958)의 방법을 응용하여 측정하였다. 0.2 mM의 DPPH 용액 1 mL와 추출물 50 µL를 혼합한 뒤 30분간 암소에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 추출물의 항산화력을 mg TEAC/g DM으로 나타내었다.

안토시아닌 분석

총 안토시아닌 함량은 Türker과 Erdoğan(2006)의 방법을 응용하여 측정하였다. 희석된 추출물 1 mL에 0.025 M potassium chloride buffer(pH 1.0) 1 mL를 가하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm와 700 nm에서 측정하였다. 또한 추출물 1 mL와 0.4 M sodium acetate buffer(pH 4.5) 1 mL를 혼합하여 반응액의 흡광도 값을 510 nm와 700 nm에서 측정하였다. 총 안토시아닌 함량은 아래의 식에 의해 산출하였다.

$$\begin{aligned} \text{Anthocyanin content (mg/L)} &= (A \times MW \times 1,000) / (\epsilon \times l) \\ A \text{ (Absorbance)} &= (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \\ MW \text{ (Molecular weight of cyanidine-3-glucoside(C3G))} &= 449.2 \\ \epsilon &= 26,900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} \end{aligned}$$

세포배양

HepG2 세포는 DMEM 배지에 10% FBS와 100 unit/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin을 혼합한 배지를 사용하였고, 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator(Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Osaka, Japan)에서 배양하였다.

세포보호 효과

96-well plate에 2.5×10^6 cells/well 농도의 간세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 16종 새싹채소의 메탄올 추출물 50 $\mu\text{g/mL}$ 를 처리하였다. 24시간 배양 후 세포를 FBS가 함유되지 않은 DMEM 배지에 0.5 mM *t*-BHP를 가하여 3시간 동안 산화적 스트레스를 유발시켰다. 세포 생존율은 5 mg/mL의 MTT 시약을 20 μL 씩 분주하여 2시간 동안 배양하였다. 배지 제거 후 DMSO에 녹여 흡광도를 550 nm에서 측정하였다.

세포내 ROS(reactive oxygen species) 억제 활성 측정

간세포에서 생성된 ROS의 양을 측정하기 위해 DCFH-DA를 이용한 방법을 응용하여 실시하였다(Lee 등, 2017). 96-well plate에 2.5×10^6 cells/well 농도의 간세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 16종 새싹채소의 메탄올 추출물 50 $\mu\text{g/mL}$ 를 처리하였다. 24시간 배양 후 25 μM 의 DCFH-DA를 20 μL 씩 분주하여 염색하였다. 2시간 후에 형광 spectrophotometer(BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 여기파장 485 nm와 방출파장 530 nm에서 형광 강도를 2시간 동안 측정하였다.

Malondialdehyde(MDA) 함량 측정

MDA 함량 측정은 thiobarbituric acid(TBA)법으로 측정하였다(Buege와 Aust, 1978). 6-well plate에 2.5×10^6 cells/well 농도의 간세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 16종 새싹채소의 메탄올 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 씩 처리해 주었다. 24시간 배양 후 0.5 mM의 *t*-BHP로 3시간 동안 산화적 스트레스를 유도하였다. 배양액 제거 후 세포를 모아 sonication 해준 뒤 4°C, 10,000 rpm($9,800 \times g$)에서 5분 동안 원심분리하였다. 원심분리한 후 상등액 200 μL 에 15% trichloroacetic acid와 0.375% TBA를 혼합한 용액을 200 μL 첨가하고 100°C에서 15분 동안 가열하여 반응시켜주었다. 그 후 4°C, 13,000 rpm($16,600 \times g$)에서 5분 동안 원심분리하고, 상등액 200 μL 를 흡광도 535 nm에서 측정하였다.

Glutathione(GSH) 함량 측정

GSH 함량 측정은 Baker 등(1990)의 방법을 응용하여 측정하였다. 6-well plate에 2.5×10^6 cells/well 농도의 간세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 16종 새싹채소의 메탄올 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 씩 처리해 주었다. 24시간 배양 후 0.5 mM의 *t*-BHP로 3시간 동안 산화적 스트레스를 유도하였다. 배양액 제거 후 세포를 모아 sonication 해준 뒤 4°C, 10,000 rpm($9,800 \times g$)에서 5분 동안 원심분리 하였다. 원심분리한 후 상등액 180 μL 에 5% sulfosalicylic acid 20 μL 를 혼합한 뒤 4°C, 10,000 rpm($9,800 \times g$)에서 원심분리하여 얼음에 보관하였다. 원심분리 후 상등액 20 μL 에 0.1 M potassium phosphate buffer 8 mL, 400 units/mL GR 228 μL , 3 mM DTNB 228 μL 를 혼합한 enzyme mixture를

150 μL 첨가하여 37°C에서 10분 동안 반응시켜 주었다. 반응 후에 0.2 mM NADPH를 50 μL 첨가한 뒤 흡광도 412 nm에서 측정해 주었다.

통계처리

통계분석은 SAS version 9.4(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하였다. 각 실험군 사이의 유의성 분석은 one-way ANOVA를 이용하였고, Tukey's post hoc test 또는 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 수준에서 검증하였다. 항산화 성분과 활성 그리고 세포 활성과의 상관관계는 Pearson's correlation coefficient를 이용하여 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

새싹채소 메탄올 추출물의 항산화 성분과 활성

실험에 사용한 16종의 새싹채소에 대한 정보는 Table 1에 나타내었다. 폴리페놀 화합물은 과일, 채소, 곡류 등의 식품에 함유되어 있는 효과적인 항산화 물질 중 하나이며, 분자 내에 phenolic hydroxyl group이 자유라디칼을 안정화시켜주기 때문에 항산화 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Scalbert 등, 2005). 국내에서 다소비 되는 16종 새싹채소의 메탄올 추출물에 대한 항산화 성분으로 페놀성 화합물, 플라보노이드 및 안토시아닌 함량과 항산화 활성을 측정하였으며 추출 수율은 23%~54% 정도로 나타났다(Table 2).

총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 각각 $6.6 \pm 0.2 \sim 44.0 \pm 0.5$ mg GAE/g DM과 $1.3 \pm 0.1 \sim 17.3 \pm 0.5$ mg CE/g DM으로 측정되었다. 16가지 품종 중 적메밀순(S-10)의 총 폴리페놀 함량은 44.0 ± 0.5 mg GAE/g DM, 총 플라보노이드 함량은 17.3 ± 0.5 mg CE/g DM으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드는 적양무순(S-03), 황메밀순(S-02) 순으로 높은 함량을 나타내었다. 총 안토시아닌 함량의 경우에는 적양무순(S-03)이 11.6 ± 0.3 mg C3G/100 g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 이용한 항산화 활성의 측정 결과, 적메밀순(S-10)이 각각 67.5 ± 1.4 mg TEAC/g DM과 36.7 ± 1.3 mg TEAC/g DM으로 가장 높은 항산화 활성을 보였다. 그다음으로는 적양무순(S-03)이 60.1 ± 1.7 mg TEAC/g DM과 25.4 ± 1.1 mg TEAC/g DM으로 높은 항산화 활성을 보였다. Baek 등(2008)의 보고에 따르면 6종류의 새싹채소에 대한 항산화 활성을 분석한 결과, 총 폴리페놀 함량의 경우 들깨가 44.0 mg/g, 총 플라보노이드 함량은 파드득나물이 13.3 mg/g으로 가장 우수한 수치를 보였으며 본 논문의 새싹채소 역시 유사한 함량을 나타내었다. Lee 등(2007)의 보고에 따르면 한국산 잡곡류의 에탄올 추출물을 이용하여 폴리페놀 함량을 확인한 결과, 곡류는 0.5 ± 2.9 mg/g, 두류는 1.3 ± 4.2 mg/g이었으며 이는 대체적으로 16

Table 1. Information of vegetable sprosuts

Code name	Common name	Scientific name
S-01	Pak Choi sprout	<i>Brassica campestris</i> var. <i>chinensis</i>
S-02	Yellow buckwheat sprout	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench
S-03	Red young radish sprout	<i>Raphanus sativus</i>
S-04	Amaranth sprout	<i>Amaranthus</i> spp
S-05	Rape flower sprout	<i>Brassica napus</i>
S-06	Barley sprout	<i>Hordeum vulgare</i> var. <i>hexastichon</i>
S-07	Misome sprout	<i>Brassica campestris</i> var. <i>narinosa</i>
S-08	Wheat sprout	<i>Triticum aestivum</i>
S-09	Pink radish sprout	<i>Raphanus sativus</i>
S-10	Red buckwheat sprout	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench
S-11	Red radish sprout	<i>Raphanus sativus</i>
S-12	Peanut sprout	<i>Arachis hypogaea</i>
S-13	Kohlrabi sprout	<i>Brassica oleracea</i> , kohlrabi
S-14	Broccoli sprout	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i> Plenck
S-15	Clover sprout	<i>Trifolium repens</i>
S-16	Radish sprout	<i>Raphanus sativus</i> , radish

Table 2. Determination of antioxidant compounds, antioxidant activities and extraction yield in vegetable sprouts

Samples	Total polyphenolic content (TPC) ¹⁾	Total flavonoid content (TFC) ²⁾	Total anthocyanin content (TAC) ³⁾	ABTS ⁴⁾	DPPH ⁵⁾	Yield (%)
S-01	10.9±0.7 ⁷⁾	6.6±0.2 ^e	— ⁶⁾	26.2±0.8 ^f	11.3±0.2 ^g	29.92
S-02	26.3±0.4 ^c	9.7±0.3 ^c	—	43.3±0.9 ^c	21.3±0.4 ^c	47.01
S-03	31.0±0.5 ^b	11.2±0.1 ^b	11.6±0.3 ^a	60.1±1.7 ^b	25.4±1.1 ^b	39.43
S-04	7.3±0.1 ^k	4.0±0.2 ⁱ	—	11.9±0.3 ^h	6.0±0.3 ^h	23.91
S-05	16.7±0.1 ^h	5.1±0.1 ^h	—	32.4±0.7 ^e	15.9±1.3 ^{ef}	53.67
S-06	8.9±0.2 ^j	3.6±0.1 ^j	—	19.2±0.4 ^g	6.6±1.1 ^h	36.25
S-07	17.8±0.3 ^f	4.2±0.3 ⁱ	—	36.2±0.9 ^d	16.7±0.3 ^e	53.04
S-08	9.3±0.5 ^j	4.2±0.0 ⁱ	—	18.1±0.7 ^g	7.1±0.2 ^h	25.93
S-09	21.8±0.5 ^d	8.7±0.1 ^d	—	44.0±0.8 ^c	19.6±0.5 ^d	41.98
S-10	44.0±0.5 ^a	17.3±0.5 ^a	1.0±0.1 ^c	67.5±1.4 ^a	36.7±1.3 ^a	40.63
S-11	18.3±0.7 ^{ef}	5.4±0.2 ^{fg}	2.9±0.1 ^b	43.6±1.3 ^c	15.6±1.1 ^{ef}	54.46
S-12	6.6±0.2 ^k	5.3±0.3 ^{gh}	—	12.5±1.0 ^h	4.0±0.5 ⁱ	49.85
S-13	16.9±1.1 ^{gh}	5.7±0.0 ^f	2.9±0.1 ^b	36.5±1.2 ^d	16.6±0.4 ^e	48.37
S-14	16.0±0.1 ^h	1.3±0.1 ^k	0.1±0.0 ^d	35.6±1.0 ^d	14.9±0.4 ^f	51.25
S-15	18.8±0.8 ^e	9.6±0.1 ^c	0.1±0.1 ^d	33.5±0.2 ^e	24.2±0.7 ^b	42.72
S-16	17.7±0.4 ^{fg}	8.8±0.1 ^d	—	37.0±0.3 ^d	15.1±0.1 ^f	46.71

¹⁾TPC was expressed as gallic acid equivalent mg/g DM.

²⁾TFC was expressed as catechin equivalent mg/g DM.

³⁾TAC was expressed as cyanidine-3-glucoside mg/100 g residue.

⁴⁾ABTS was expressed as Trolox equivalent antioxidant capacity mg/g DM.

⁵⁾DPPH was expressed as Trolox equivalent antioxidant capacity mg/g DM.

⁶⁾—: Not detected.

⁷⁾Data are the mean±standard deviation values (n=3). Different letters (a-k) in the same column indicate a significant difference by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

종의 새싹채소 추출물이 더 높은 폴리페놀 함량을 보였다. 가장 효과가 뛰어났던 적메밀순은 메밀의 한 종류로 메밀의 생리활성 물질인 루틴은 자연계에 널리 분포되어 있고 다른 곡류보다 높은 함량을 가지고 있다고 보고되어 있다(Shin 등, 2018). 이들의 보고에 의하면 빛의 세기가 가장 높은 22,000 Lux에서 줄기의 색이 붉은 색으로 짙어졌으며, 루틴 함량이 85.47 ppm으로 가장 높은 것으로 나타났다. 루틴은 quercetin에 rutinose가 결합된 것으로 혈관계 질환의 치료, 모세혈관을 강화시켜 동맥경화, 고혈압 등에 탁월한 효

과가 있는 것으로 밝혀져 있다(Griffith 등, 1944; Matsubara 등, 1985; Lee 등, 2000).

t-BHP로 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호 효과와 ROS 억제 활성

새싹채소 메탄올 추출물의 세포독성 및 보호 효과를 평가하기 위해서 MTT를 이용하여 측정하였다. 16종의 새싹채소 메탄올 추출물 50 µg/mL 농도에서는 모두 세포독성을 나타내지 않았다(Fig. 1A). 세포에 t-BHP로 산화적 스트레

스를 유도하였을 때 세포독성에 대한 추출물의 보호 효과를 알아보았다. *t*-BHP의 처리는 대조군에 비하여 유의한 세포 독성을 나타내었다. 16종의 새싹채소 메탄올 추출물의 농도를 50 $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하였는데, 황메밀순(S-02), 적양무순(S-03), 홍무순(S-09), 적메밀순(S-10), 적무순(S-11), 땅콩순(S-12), 콜라비순(S-13), 브로콜리순(S-14) 및 크로버순(S-15)의 메탄올 추출물에서는 유의적으로 세포 생존율이 증가하는 경향을 나타내어 산화적 스트레스에 대한 간세포 보호 효과를 확인할 수 있었다(Fig. 1B).

새싹채소의 메탄올 추출물이 세포 내 ROS에 미치는 영향을 DCFH-DA를 이용하여 확인하였다(Fig. 1C). 간세포에 *t*-BHP를 단독 처리하여 산화적 스트레스를 유도한 결과 대조군에 비해 ROS 생성이 증가하였으나, 황메밀순(S-02), 적양무순(S-03), 다채(S-07), 홍무순(S-09), 적메밀순(S-10), 적무순(S-11), 땅콩순(S-12), 콜라비순(S-13), 브로콜리

순(S-14), 크로버순(S-15)의 메탄올 추출물을 50 $\mu\text{g/mL}$ 로 함께 처리한 군에서는 유의적으로 ROS 생성을 억제하였다. 이러한 결과는 10가지 새싹채소의 메탄올 추출물이 세포 내에서 *t*-BHP로 유도된 산화적 스트레스에 보호 효과를 가지는 것으로 생각된다. Shin 등(2014)의 보고에 따르면 국내 새싹채소 중 콜라비, 적무, 브로콜리 및 무순 추출물의 처리는 지방세포 내 ROS의 생성을 억제하였으며 새싹채소들도 간세포에서 ROS의 생성을 억제하는 결과를 보였다.

MDA 및 GSH 함량 측정

지질과산화물을 유도하기 위해 사용한 *t*-BHP가 세포 내에서 자유라디칼을 형성하였고 불포화지방산을 산화시키면서 산화 생성물로 MDA가 생성되며 이는 지질과산화물의 지표로 사용된다(Suttnar 등, 2001). GSH는 대부분이 세포질에 존재하며 생체 내의 자유라디칼을 제거하고 전자공여체로 세포 방어체계에 중요한 역할을 한다(Zhang 등, 2009). Thiobarbituric acid reactive substances assay를 이용하여 16종의 새싹채소 메탄올 추출물의 처리가 간세포 내 MDA의 함량 변화와 GSH 변화량에 미치는 영향을 측정하였다(Fig. 2).

t-BHP로 산화적 스트레스를 유도한 자극군은 MDA 함량이 대조군 대비 35.5%가 증가하였다. 이러한 증가는 청경채순(S-01), 황메밀순(S-02), 적양무순(S-03), 밀순(S-08),

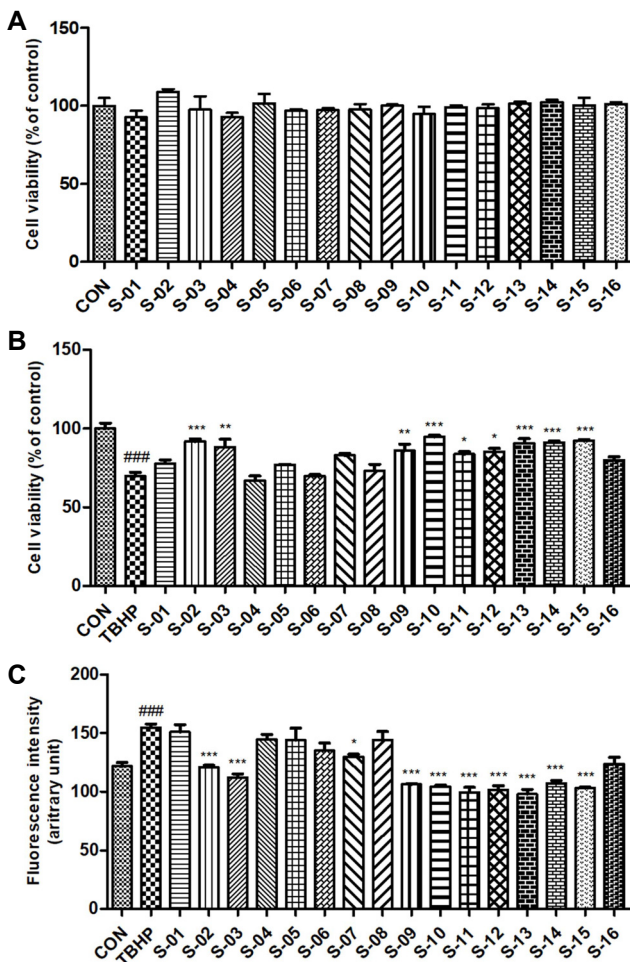


Fig. 1. Effects of commonly used vegetable sprouts (50 $\mu\text{g/mL}$) on HepG2 cells against *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP) induced hepatotoxicity. (A) Cell viability, (B) protective effect, and (C) ROS production in HepG2 cells. Each value was expressed as the mean \pm standard error (n=3). Significance was tested using Tukey's test. ### P <0.001 compared with control. * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 versus the 0.5 mM *t*-BHP treated control.

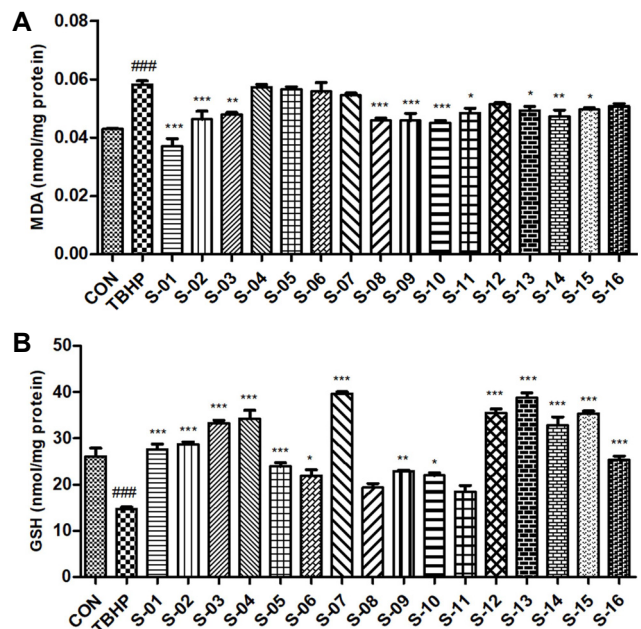


Fig. 2. Effect of commonly used vegetable sprouts (50 $\mu\text{g/mL}$) on concentration of reduced (A) malondialdehyde and (B) depletion of glutathione in HepG2 cells. HepG2 cells were treated for 24 h with the noted concentration of samples before treatment with 0.5 mM *t*-BHP for 4 h. Values are the mean \pm standard error (n=3). Different letters above bars indicate a significant difference by Tukey's test. ### P <0.001 versus the non-treated control. * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 versus the 0.5 mM *t*-BHP treated control.

Table 3. Pearson correlation coefficient

Factor ¹⁾	TPC	TFC	TAC	DPPH	ABTS	ROS	GSH	MDA
TPC		0.857***	0.410	0.960***	0.956***	-0.437	-0.133	-0.280
TFC			0.303	0.834***	0.751***	-0.336	-0.172	-0.301
TAC				0.349	0.521*	-0.291	0.151	-0.126
DPPH					0.929***	-0.467	-0.034	-0.291
ABTS						-0.492	-0.138	-0.307
ROS							-0.204	0.131
GSH								0.223

¹⁾TPC, total polyphenol content; TFC, total flavonoid content; TAC, total anthocyanin content; DPPH, DPPH radical scavenging capacity; ABTS, ABTS radical scavenging capacity; ROS, reactive oxygen species; GSH, glutathione; MDA, malondialdehyde. * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

홍무순(S-09), 적메밀순(S-10), 적무순(S-11), 콜라비순(S-13), 브로콜리순(S-14), 크로버순(S-15)을 50 µg/mL로 처리 시 대조군과 유사한 수준으로 감소시키는 경향을 보였다. 실험에 사용한 *t*-BHP는 산화적 스트레스를 유도하여 항산화 기작의 불균형을 일으켜 GSH 수준을 유의적으로 감소시킨 것으로 생각된다. *t*-BHP를 처리한 자극군의 GSH 함량은 14.7 nmol/mg protein으로 대조군 26.1 nmol/mg protein보다 유의적으로 감소하였다. 이는 청경채순(S-01), 황메밀순(S-02), 적양무순(S-03), 아마란스순(S-04), 유채순(S-05), 보리순(S-06), 다채순(S-07), 홍무순(S-09), 적메밀순(S-10), 땅콩순(S-12), 콜라비순(S-13), 브로콜리순(S-14), 크로버순(S-15), 무순(S-16)을 50 µg/mL 처리 시 대조군과 유사한 수준으로 증가시켰다. Cheon 등(2019)의 연구에 의하면 구아바 잎 메탄올 추출물에 함유된 페놀성 화합물이 간세포에서 GSH의 농도를 증가시키는 결과가 보고되었다. 따라서 이러한 증가는 새싹들의 메탄올 추출물에 존재하는 페놀성 화합물의 강력한 항산화 작용으로 인해서 세포 내에서 GSH가 GSSG로 산화되지 않았기 때문에 GSH의 농도가 증가한 것으로 생각된다(Moskaug 등, 2005).

항산화 성분과 활성의 상관관계

16종의 새싹채소 메탄올 추출물의 항산화 성분과 활성 그리고 세포 활성 사이의 상관관계를 Pearson's correlation analysis를 통하여 분석한 결과는 Table 3에 나타내었다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드, DPPH 라디칼 소거능 및 ABTS 라디칼 소거능 사이의 상관계수(correlation coefficient, r^2)는 각각 0.857, 0.960, 0.956으로 유의적인 상관관계를 보였다. 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성을 나타내는 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능 사이의 상관계수는 각각 0.834, 0.751로 유의적인 상관관계를 보였으며 항산화 성분 함량과 활성 사이에 높은 상관성을 가지는 것으로 보인다.

반면에 총 폴리페놀 함량과 ROS, GSH, MDA와 같은 세포 활성 간의 상관계수는 -0.437, -0.133, -0.280으로 음의 값을 보이며 유의적인 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 항산화 활성을 나타내는 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능과 ROS, GSH, MDA 사이의 상관관계도 없는 것으

로 나타났다. 항산화 성분과 항산화 활성 사이의 상관관계는 유의적인 것으로 나타났으나 세포 활성과는 유의적인 상관관계가 나타나지 않았다. 따라서 앞으로 세포보호 활성, 항산화 성분과 활성 사이의 기작에 관한 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

본 연구에서는 국내에서 주로 소비되는 16종의 새싹채소 메탄올 추출물의 항산화 활성과 산화적 스트레스에 대한 간세포 보호 효과에 관해 알아보고자 하였다. 16종의 새싹채소 중 적메밀순의 총 폴리페놀 함량이 44.0 ± 0.5 mg GAE/g DM, 총 플라보노이드 함량은 17.3 ± 0.5 mg CE/g DM로 가장 높은 함량을 나타냈으며 항산화능도 가장 우수하였다. 또한 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능은 적메밀순이 각각 67.5 ± 1.4 mg TEAC/g과 36.7 ± 1.3 mg TEAC/g으로 가장 높은 항산화 활성을 보였다. HepG2 세포에 산화 스트레스를 유도한 뒤 나타나는 세포독성에 대해 적메밀순이 가장 높은 세포 보호 효과를 보였다. MDA 함량의 경우에는 청경채순이 대조군과 가장 유사한 수준으로 감소시키는 경향을 보였으며 GSH 함량 역시 가장 높은 수준을 보였다. 항산화 성분과 활성 그리고 세포 활성 사이의 상관관계를 분석한 결과 항산화 성분과 활성 사이에는 유의적인 상관관계를 보였으나 세포 활성과는 유의적인 상관관계를 보이지 않았다. 본 연구에서는 한국에서 주로 소비되는 16종의 새싹채소에 대한 항산화 성분과 활성 그리고 세포 활성까지 확인해 보았으며 향후 연구에 중요한 정보를 제공할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구비 지원(과제번호 PJ01339807 2020)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Baek SH, Park SH, Cho JS, Lee CH. Antioxidant activity analysis of six sprout vegetables for new food development. Proceeding of the 2th Annual Meeting of the Plant Resources

- Society of Korea. 2008 Nov 7-8. Andong, Korea. p 132.
- Baker MA, Cerniglia GJ, Zaman A. Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal Biochem*. 1990. 190:360-365.
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958. 181:1199-1200.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978. 52:302-310.
- Cheon W, Seo D, Kim Y. Antioxidative and hepatocyte protective effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves cultivated in Korea. *Korean J Food Nutr*. 2019. 32:33-40.
- Eigner D, Scholz D. *Ferula asa-foetida* and *Curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *J Ethnopharmacol*. 1999. 67:1-6.
- Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997. 94:10367-10372.
- Griffith Jr JQ, Couch JF, Lindauer MA. Effect of rutin on increased capillary fragility in man. *Exp Biol Med*. 1944. 55:228-229.
- Jung KM, Baek SH. *In vitro* correlation between anti-inflammatory and anti-oxidant effects of stone and seed of peaches cultivars. *Korean J Food Preserv*. 2018. 25:90-97.
- Kamat JP. Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent. *Indian J Exp Biol*. 2006. 44:436-447.
- Kim IS, Kwon TB, Oh SK. Study on the chemical change of general composition, fatty acids and minerals of rapeseed during germination. *Korean J Food Sci Technol*. 1988. 20:188-193.
- Kim YJ, Park HT, Han HS. A study on the production and marketing of sprouts and leaf vegetables. Report of Korea Rural Economic Institute, Naju, Korea. 2006. p 5-6.
- Kuo TM, VanMiddlesworth JF, Wolf WJ. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. *J Agric Food Chem*. 1988. 36:32-36.
- Lee JS, Park SJ, Sung KS, Han CK, Lee MH, Jung CW, et al. Effects of germinated-buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. *Korean J Food Sci Technol*. 2000. 32:206-211.
- Lee KM, Kwon TY, Kang U, Seo EK, Yun JH, Nho CW, et al. Tussilagonone-induced Nrf2 pathway activation protects HepG2 cells from oxidative injury. *Food Chem Toxicol*. 2017. 108:120-127.
- Lee MY, Chang YD, Jeong JH, Jeong HS, Lee CH. Effect of temperature and light on seed germination of nine compositae species. Proceeding of the 87th Annual Meeting of Korea Society for Horticultural Science. 2007 Jun 1-2. Seoul, Korea. p 62.
- Matsubara Y, Kumamoto H, Iizuka Y, Murakami T, Okamoto K, Miyake H, et al. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in *Citrus unshiu* peelings. *Agric Biol Chem*. 1985. 49:909-914.
- Moskang JO, Carlsen H, Myhrstad MCW, Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr*. 2005. 81:277S-283S.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999. 26:1231-1237.
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr*. 2005. 81:215S-217S.
- Shin GH, Lee YJ, Kim JH, Kim YH, Kim DB, Lee JS, et al. Antioxidant activities of commonly used *Brassica* spp. sprout vegetables in Korea. *Korean J Food Preserv*. 2014. 21:587-592.
- Shin J, Kang MJ, Kim HJ, Park JI, Yang JY, Kim GD. Effect of LED light strength for enhancing rutin content in tatar buckwheat sprouts and antioxidant activity. *Life Sci*. 2018. 977-984.
- Sikin AM, Zoellner C, Rizvi SSH. Current intervention strategies for the microbial safety of sprouts. *J Food Prot*. 2013. 76:2099-2123.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999. 299:152-178.
- Suttar J, Mášová L, Dyr JE. Influence of citrate and EDTA anticoagulants on plasma malondialdehyde concentrations estimated by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B: Biomed Sci Appl*. 2001. 751:193-197.
- Türker N, Erdog̃du F. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.). *J Food Eng*. 2006. 76:579-583.
- You SH, Pyo YH. Antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extracts from wheat sprout. *J Invest Cosmetol*. 2015. 11:231-238.
- Zhang XH, Choi SK, Seo JS. Effect of dietary grape pomace on lipid oxidation and related enzyme activities in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr*. 2009. 42:415-422.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999. 64:555-559.