

전기영동 젤과 녹차성분에 대한 환원전리수의 침투력과 용해력

류근걸¹ · 이윤배¹ · 이종권¹ · 이미영^{2*}

Permeability and Dissolvability of Cathodic Electrolyzed Water for Electrophoretic Gel and Green Tea Components

Kun-Kul Ryoo¹, Yoon-Bae Lee¹, Jong-Kwon Lee¹ and Mi-Young Lee^{2*}

요 약 본 연구에서는 전기영동 젤에 대한 환원전리수의 침투력과 녹차성분에 대한 환원전리수의 용해력을 일반 물과 서로 비교하였다. 환원전리수로 제조한 CBB-R 염색시약으로 polyacrylamide 젤 상에서 단백질을 다양한 시간 동안 염색한 후, 종류수로 제조한 CBB-R 염색시약에 의한 염색강도와 서로 비교하였다. 그 결과 환원전리수로 제조한 CBB-R 염색시약은 종류수로 제조한 CBB-R 염색시약보다 먼저 단백질을 강하게 염색시켰다. 뿐만 아니라 25°C에서 환원전리수는 일반 물에 비하여 녹차성분에 대해 극히 탁월한 용해력을 나타내었다. 이러한 결과는 환원전리수가 일반 물보다 침투력과 용해력이 매우 강력하다는 것을 보여준다.

Abstract The permeability of cathodic electrolyzed water toward electrophoretic gel and dissolvability of cathodic electrolyzed water toward green tea components were compared with those of general waters in this investigation. Stained band intensities of the proteins by CBB-R prepared in cathodic electrolyzed water were compared with those in deionized water for various time intervals. Proteins were stained first by CBB-R in cathodic electrolyzed water as compared with those by CBB-R in deionized water. Moreover, cathodic electrolyzed water showed dramatically enhanced solubility toward green tea components at 25°C than general waters. These results suggest much greater permeability and dissolvability of cathodic electrolyzed water than those of general waters.

Key Words : Cathodic electrolyzed water, permeability, dissolvability

1. 서 론

최근 전리수 (electrolyzed water)가 환경친화적인 신 개념의 물로 새롭게 소개되고 있다. 물에 직류전압을 가하면 이온의 이동에 의해 pH를 변화시킬 수 있는 전리수를 만들 수 있다. 양극에서 생성되는 물은 H⁺이온의 증가로 pH가 감소되며, 산화·환원전위(oxidation-reduction potential, ORP)가 증가되어 강한 산화성 상태가 되고, 음극에서는 OH⁻이온의 증가로 pH가 상승하여 환원성 상태가 된다. 전리수의 ORP는 다른 수용액보다 매우 강한 pH의존성을 나타내고 있다 [1]. 일반적으로 산성전리수의 ORP는 +1200 mV의 높은 산화 전위를 나타내고 있는 반면 산성수용액의 경우 +600

mV정도의 ORP를 나타낸다. 환원전리수의 ORP는 -850 mV의 환원전위를 가지고 있으나, 알칼리성 수용액의 경우 +20 mV를 나타내고 있다. 전리수를 산업공정에서 사용할 경우, 기존의 알칼리나 산을 사용하는 것보다 오염물을 배출하지 않으며 사용 후 일정시간이 지나면 자연수로 환원될 뿐만 아니라 제조원기도 저렴하여 환경친화적인 측면에서 뿐만 아니라 경제적인 측면에서도 매우 유리하게 된다[2]. 전리수가 가지고 있는 또 다른 특성으로는 다양한 미생물에 대한 강력한 살균력을 들 수 있다[3-7]. 또한 흥미로운 것은 전리수로 실험쥐의 상처와 화상을 치료할 수 있고[8], 당뇨 등의 질병 치료에 긍정적인 효과를 나타낸다고 보고되었다 [8]. 뿐만 아니라 환원전리수가 DNA의 산화적 손상을 억제 할 수 있었는데, 그 이유는 환원전리수가 항산화 활성을 가지고 있기 때문이라고 보고되었다[9, 10]. 환원전리수는 일반 물의 입자보다 작은 클러스터를 가지고 있어서 일반 물보다 운동성이 높고 대상물에 대한 흡수력과 용해력이 높다고 알려져 있다[1, 9]. 또한 인체내 종

이 논문은 과학기술부의 국가지정연구실사업(류근걸: N10302000029-04J000001400) 지원에 의해 연구되었음.

¹공과대학 신소재화학공학부

²순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

*교신저자: 이미영(miyoung@sch.ac.kr)

요한 역할을 하는 주요 미네랄을 풍부하게 지니고 있고 환원력이 커서 체내세포를 파괴하고 노화와 질병에 관련이 있는 활성산소를 제거하여 인간의 건강에 도움을 주는 것으로 알려져 있다[11, 12]. 환원전리수가 가지고 있는 강한 흡수력과 용해력의 기전에 대해서는 아직 자세히 연구되어 있지 않으나 환원전리수의 작은 클러스터가 흡수력과 용해력의 원인 중의 하나일 것이라고 추측되고 있다. 일반 물은 물분자가 직선이 아니라 산소를 중심으로 굽은 모양으로 되어있을 뿐만 아니라 이러한 물분자가 포도의 줄기와 같이 합쳐져서 클러스터가 최소 5개에서 13개 단위로 수소결합을 하고 있는데 비해 환원전리수의 물분자는 매우 세밀한 구조를 이루고 있다고 보고되어 있다[9]. 핵자기공명장치(NMR) 측정 결과를 보면 환원전리수의 클러스터 크기는 54 Hz로 일반 물보다 클러스터 크기가 작아서 운동 에너지가 크고 침투력과 용해력이 높은 특성을 가지고 있다[1, 9]. 본 연구에서는 환원전리수의 polyacrylamide 중합체 안으로의 침투력을 일반 중류수의 침투력과 비교하였다. 이를 위하여 환원전리수로 제조한 단백질용 염색시약을 사용하여 polyacrylamide 중합체상에서 전기이동으로 분리된 단백질을 다양한 시간 동안 염색한 후, 이를 일반 중류수로 제조한 단백질 염색시약에 의한 염색강도와 서로 비교하였다. 뿐만 아니라 환원전리수와 일반 물의 녹차 성분에 대한 용해 및 추출력을 서로 비교함으로써 향후 환원전리수를 생명공학적 세정제로 사용할 수 있는 기초자료로 활용하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 환원전리수의 제조

환원전리수 제조를 위하여 마이크로 뱅크사(Electrolyzed water second generation)의 Redox-water 생성기를 사용하였고, 전리수 제조장치에 사용된 물은 중류와 역삼투압(Reverse Osmosis, RO)을 거쳐 제조되는 최종 3차수의 초순수(Deionized water, DIW)였다. 본 실험에서는 ORP가 -800 ~ -900 mV가 유지되게 제조한 환원전리수를 사용하였다.

2.2. 단백질 추출 및 정량

벼 유묘의 줄기 500 mg을 막자사발에 넣고 액체질소로 파쇄한 후 20 mM Tris-HCl(pH 7.5), 10 mM EDTA, 1 mM DTT, 1% Triton X-100이 들어간 extraction buffer 500 μl를 넣고 다시 파쇄하였다. 12,000×g에서 10 분 동안 원심분리하여 침전물을 제거한 후 다시 원심분리(12,000×g, 10 min, 4°C)하여 상동액을 취한 후 Bradford 법으로 단백질 농도를 측정하였다[13].

2.3. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis

식물 유래 단백질로서 벼 유묘 줄기로부터 추출한 단백질을 0.06 M Tris-HCl(pH 6.8), 2% SDS, 14.4 mM β-mercaptoethanol, 25% glycerol, 0.1% bromophenol blue가 들어있는 sample buffer와 잘 섞은 후 100°C 물에서 5 분간 가열하여 단백질을 완전히 변성시켰다. 100 μg의 벼 단백질 시료와 함께 표준 단백질 시료를 1.5 mm 두께의 5% acrylamide로 된 stacking gel과 11.5%의 separating gel을 포함하는 slab gel에 주입하였다. 전압을 180 V로 유지한 상태로 전기이동을 수행하였다. 동물 유래 단백질로는 bovine serum albumin 20 μg을 사용하였으며 식물 유래 단백질과 동일한 방법으로 변성시켰다. 변성된 bovine serum albumin을 0.75 mm 두께의 5% acrylamide로 된 stacking gel과 11.5%의 separating gel을 포함하는 slab gel에 주입한 후 동일한 조건에서 전기이동을 수행하였다.

2.4. 환원전리수의 침투력과 단백질의 염색강도

환원전리수가 지닌 침투력에 따른 단백질의 염색강도를 살펴보기 위하여 식물유래 단백질과 동물유래 단백질을 각각 1.5 mm와 0.75 mm 두께의 polyacrylamide 중합체 상에서 문자량에 따라 전기이동시켰다. 표준 단백질로는 myosin(205 kDa), β-galactosidase(116 kDa), phosphorylase b(97 kDa), fructose-6-phosphate kinase (84 kDa), bovine serum albumin(66 kDa), glutamic dehydrogenase(55 kDa), ovalbumin(45 kDa), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(36 kDa), carbonic anhydrase(29 kDa), trypsinogen(24 kDa), trypsin inhibitor(20 kDa), α-lactalbumin(14.2 kDa), aprotinin(6.5 kDa) 등을 사용하였다. 1.25% coomassie brilliant blue R을 환원전리수와 중류수로 제조된 50% methanol과 10% acetic acid에 녹여서 단백질용 염색용액을 각각 만들었다. 이를 사용하여 다양한 반응시간 동안 단백질을 염색시킨 후 동일한 조건으로 탈색하였다. 환원전리수로 제조된 염색시약에 의해 염색된 단백질 띠의 염색강도와 염색 소요시간을 중류수의 경우와 서로 비교하였다.

2.5. 환원전리수의 녹차 성분에 대한 용해력

환원전리수와 일반 물의 용질에 대한 용해 및 추출력을 서로 비교하기 위하여 녹차 티백과 녹차 잎을 대상으로 상온에서 용해도를 서로 비교하였다. 녹차 티백 1 개와 1 g의 녹차 잎을 각각 120 ml의 환원전리수(CW)와 정수기 물(W) 그리고 중류수(DW)에 동시에 넣고 25°C의 실온에 방치하면서 녹차 성분이 추출되도록 하였다. 다양한 반응시간별(0, 3, 6, 9, 12, 30, 60, 120

min)로 녹차성분이 추출된 물 1 ml 씩을 취한 후 UV-VIS spectrophotometer(Jasco V-550)로 200-700 nm 범위에서 흡수 스펙트럼을 분석한 후 최대흡수파장을 결정하였다. 녹차 추출액의 최대 흡수파장인 500 nm에서 녹차추출액의 흡광도를 측정하여 용해 및 추출력을 서로 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 환원전리수의 침투력과 단백질의 염색강도

SDS-polyacrylamide gel 전기영동에 의하여 분자량에 따라 polyacrylamide 중합체내에서 분리된 단백질에 대한 coomassie brilliant blue R(CBB-R)에 의한 염색강도와 소요시간을 환원전리수와 증류수로 나누어 살펴보았다. 그림 1A에서 알 수 있듯이 1.5 mm 두께의 polyacrylamide 젤에서 환원전리수로 만든 염색용액과 증류수로 만든 염색용액을 각각 사용하여 식물단백질의 띠를 염색한 결과, 환원전리수 염색용액을 사용했을 때의 염색 강도가 증류수 염색용액을 사용했을 때보다 전반적으로 높았다. 환원전리수로 만든 염색 용액으로 식물 단백질 100 µg을 5 분 동안 염색한 결과, 주요 단백질인 약 40 kDa의 단백질 띠를 비롯하여 거의 모든 단백질 띠가 증류수로 만든 염색용액을 사용했을 때보다 강하게 염색되었다. 단백질을 7 분과 10 분 동안 염색한 경우에도 환원전리수로 만든 염색 용액으로 염색된 단백질 띠의 염색강도가 증류수로 만든 염색 용액의 경우보다 진하게 나타났다. 그러나 20 분 이상 단백질을 염색한 경우 환원전리수와 증류수간에 현저한 차이를 볼 수 없었다. 그림 1B에서는 0.75 mm 두께의 전기영동 젤에서 동물 유래 단백질인 bovine serum albumin(BSA)의 염색정도를 반응시간 별로 보여준다. 환원전리수로 만든 염색용액과 증류수로 만든 염색용액을 사용하여 젤상에서 전개된 BSA 20 µg을 염색한 결과, 환원전리수로 만든 염색용액은 15초 이내에 BSA를 제대로 염색시킬 수 있었다. 이에 비해 증류수로 만든 염색용액은 60초가 지나야 BSA를 염색시킬 수 있었다. 이러한 결과는 환원전리수로 만든 염색 용액이 증류수로 만든 염색용액보다 극히 짧은 반응시간 내에 단백질을 강하게 염색시킬 수 있음을 보여준다. 그러나 환원전리수와 마찬가지로 증류수의 경우에도 염색시간이 120 초로 증가함에 따라 점차 염색강도가 증가하여 두 염색용액군 사이에서 단백질에 대한 염색강도의 차이를 발견할 수 없었다. 일반적으로 단백질에 대한 Coomassie brilliant blue R(CBB-R)의 염색기전으로는 용액상태에서 CBB-R에 존재하는 SO_3^- 음전하와 단백질의 양전하 사이의 정전기적 결합과 함께 CBB-R의 소수성 벤젠고리와 단백질의 소수성 기 사이의 소수성 결합이 보고되어 있다[14-17]. 본 연구 결과에서 환원전리수가 증류수보다 짧은 반응시간내에 먼저 단백질을 염색시키는 이유는, 환원전리수가 단백질에 대한 CBB-R의 염색능 자체를 증가시키는 것이 아니라 polyacrylamide 중합체내로의 CBB-R의 침투력을 증가시켜서 짧은 반응시간 동안 염색반응이 일어나게 한 것으로 추측할 수 있다. 다시 말하면 환원전리수가 증류수보다 polyacrylamide 중합체에 대해 훨씬 탁월한 침투력을 가지고 있음을 보여주고 있다. 실제로 환원전리수가 일반 물분자에 비해 클러스터의 크기가 작아 대상물에 잘 침투하여 흡습이 빠르고 흡습양도 많다고 보고되어 있다[1, 9].

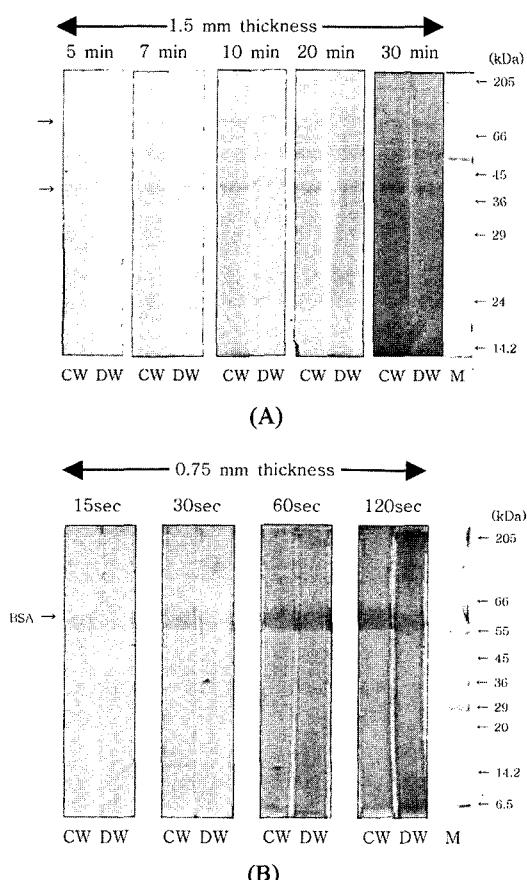


그림 1. 환원전리수(CW)와 증류수(DW)로 만든 염색용액에 의한 단백질 염색의 비교. (A) 1.5 mm 두께의 11.5% 폴리아크릴아미드 젤에서 분리된 100 µg의 식물 단백질, (B) 0.75 mm 두께의 11.5% 폴리아크릴아미드 젤에서 분리된 20 µg의 동물 단백질

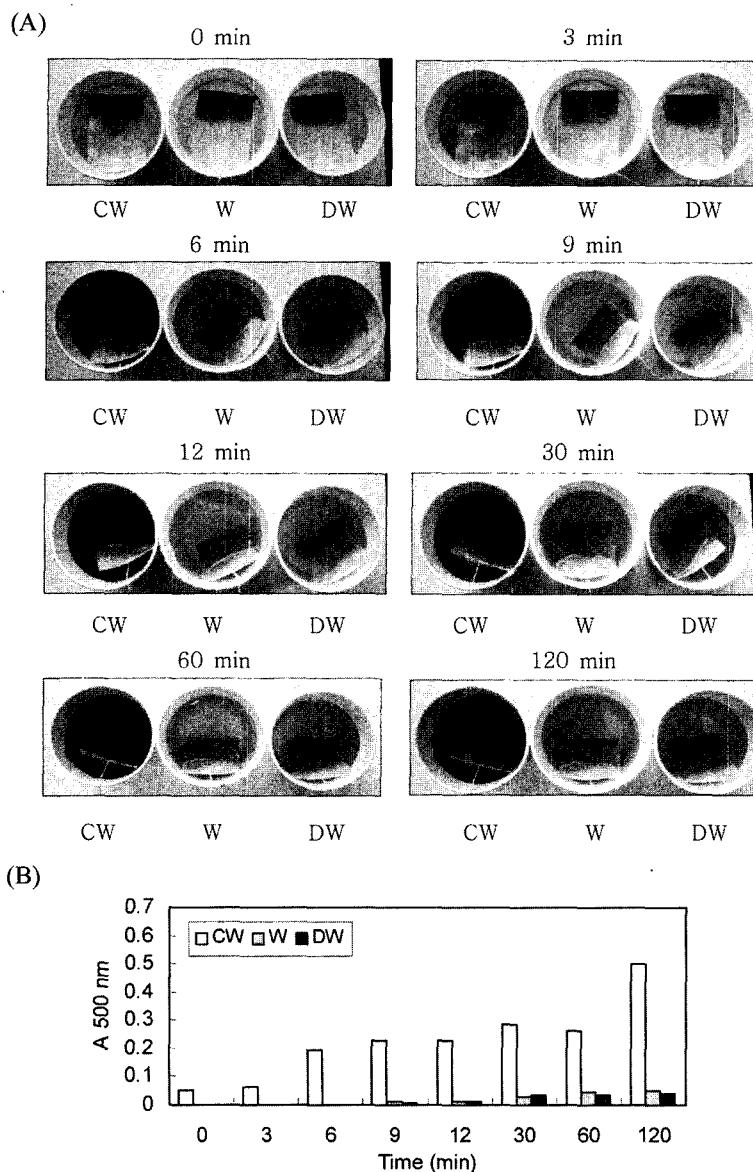


그림 2. 25°C에서 시간에 따른 환원전리수(CW), 정수기 물(W) 및 증류수(DW)의 녹차 티백 성분에 대한 용해력 비교. (A) 시간에 따른 물의 색 변화, (B) 물의 색 변화로 인한 흡광도 차이

3.2. 환원전리수가 녹차성분 추출에 미치는 영향

환원전리수의 용해력이 녹차 성분의 추출에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 그림 2에서는 25°C에서 환원전리수와 정수기 물 그리고 증류수에 녹차 티백을 동시에 일정시간 동안 반응시켰다. 추출된 녹차성분의 흡수스펙트럼을 측정한 결과 녹갈색 영역인 500 nm에서 최대흡광을 하였다(결과 미제시). 그림 2A에서 알 수 있듯이 육안으로도 환원전리수가 지닌 녹차에 대한 용해

력이 정수기물과 증류수보다 훨씬 탁월하였다. 환원전리수의 경우 녹차 티백을 환원전리수에 넣자마자 순간적으로 녹차 성분물질이 추출되어 나왔다. 이에 비해 정수기 물과 증류수의 녹차성분 추출 및 용해력은 상대적으로 매우 미약하였다. 그림 2B에서는 500 nm에서 환원전리수와 정수기물 그리고 증류수로 각각 용해시킨 녹차 추출물의 흡광도를 서로 비교하였다. 그 결과 정수기물과 증류수로 녹차 성분을 각각 3 분 동안 용해시

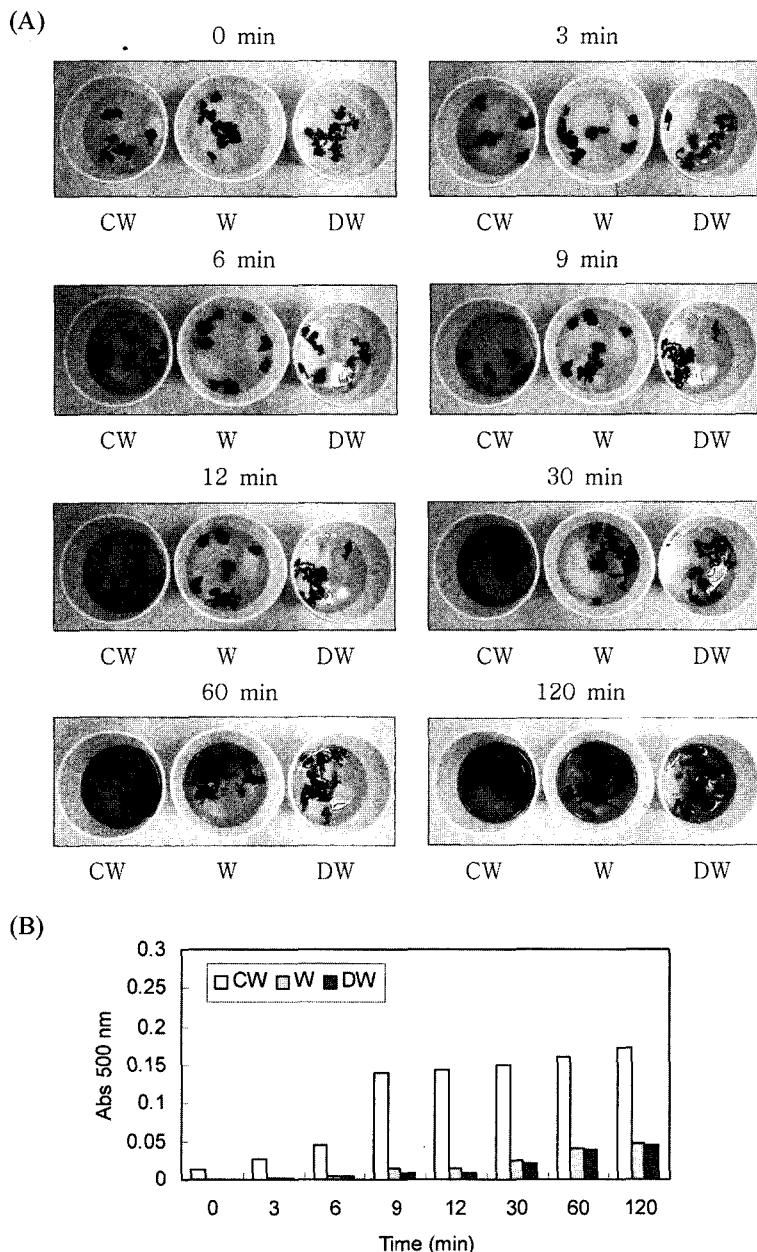


그림 3. 25 °C에서 시간에 따른 환원전리수(CW), 정수기 물(W) 및 중류수(DW)의 녹차 잎 성분에 대한 용해력 비교. (A) 시간에 따른 물의 색 변화, (B) 물의 색 변화로 인한 흡광도 차이

킨 물에서는 500 nm에서 흡광도가 측정되지 않았다. 그러나 6 분 후부터는 정수기 물과 중류수로 녹차 티백을 용해시킨 물에서도 조금씩 녹차성분이 용해되어서 500 nm에서 흡광도가 측정되었다. 환원전리수로 녹차성분을 6 분 동안 용해시킨 경우 500 nm에서의 흡광도가 0.215이었으나, 정수기물과 중류수로 용해시킨 경우 500

nm에서의 흡광도는 각각 0.002와 0.001이었다. 이러한 결과는 6 분의 반응시간 동안 녹차성분에 대한 환원전리수의 용해력이 25°C에서 정수기물에 비하여 약 100 배, 중류수에 비하여 약 200 배 높다는 것을 보여준다.

그림 3에서는 녹차 잎에 대한 환원전리수의 용해력을 측정하였다. 환원전리수의 경우 녹차 잎을 환원전리

수에 넣자마자 순간적으로 녹차 성분물질이 추출되어 나왔다. 뿐만 아니라 전 반응시간 동안 환원전리수가 정수기 물과 종류수에 비하여 녹차 잎 성분에 대하여 매우 탁월한 추출 및 용해력을 보여주었다. 환원전리수의 클러스터 크기가 약 54 Hz인데 비해, 일반 음용수의 클러스터 크기는 약 105 Hz이고 종류수의 클러스터 크기는 약 118 Hz로 알려져 있다[1,9]. 따라서 환원전리수는 클러스터 크기가 작아서 높은 침투력을 가질 뿐만 아니라 운동성이 클 것으로 추측되고 있다[1, 2, 9]. 본 실험결과를 종합해 볼때 환원전리수의 높은 침투력과 운동성이 용질에 대한 용해력을 급격하게 증가시킬 수 있음을 보여준다. 환원전리수는 높은 용해력과 침투력 뿐만 아니라, 산화환원전위의 조절을 통하여 반응표면과의 부착성을 다양하게 조절할 수 있으므로[18] 탁월한 세정력과 선택성을 가진 신개념의 생명공학 세정제로 개발될 수 있을 것이다.

참고문헌

- [1] K. K. Ryoo, B. D. Kang and S. Sumida, "Electolyzed water as an alternative for environmentally-benign semiconductor cleaning", Merteri. Res. Soc., 17, 1298-1304, 2002.
- [2] H. S. Yoon and K. K. Ryoo, "A study on Si-wafer cleaning by electrolyzed water", Kor. J. Mater. Research, 11, 251-257, 2001.
- [3] 박혜린, 김점지, 이종권, 이윤배, 류근걸, 이미영 산성 전리수와 환원전리수에 의한 미생물 제어", 한국산학기술학회 춘계 학술발표논문집, 제5권, 제1호, pp.288-290, 6월, 2004.
- [4] Y. K. Kim, B. S. Min, J. K. Min, J. K. Lee, Y. B. Lee, K. K. Ryoo and M. Y. Lee, "Biological characteristics of anodic electrolyzed water", Korean J. Environ. Biol., 22, 2, 265-272, 2004.
- [5] K. A. Fabrizio and C. N. Cutter, "Stability of electrolyzed oxidizing water and its efficacy against cell suspensions of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*", J. Food. Prot., 66, 1279-1284, 2003.
- [6] H. L. Park, Y. K. Kim, J. K. Lee, K. K. Ryoo, Y. B. Lee and M. Y. Lee, "Inhibition of hygienic microbial growth by anodic electrolyzed water", J. Korean. Acad. Industrial Soc., 5, 3, 232-235, 2004.
- [7] R. R. Sharma and A. Demirci, "Treatment of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds and sprouts with electrolyzed oxidizing water", Int. J. Food Microbiol., 86, 3, 231-237, 2003.
- [8] H. Xin, Y. J. Zheng, N. Hajime and Z. G. Han, "Effect of electrolyzed oxidizing water and hydrocolloid occlusive dressings on excised burn-wounds in rats", Chin. J. Traumatol., 6, 4, 234-237, 2003.
- [9] 김현원, "생명의 물 우리 몸을 살린다", 고려원복스, pp.56-83, 2004.
- [10] S. Sanetaka, S. Kabayama, M. Nakano, T. Miura, K. Kusumoto, M. Gotoh, H. Hayashi, K. Otsubo, S. Morisawa and Y. Katakura, "Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage", Biochemical and Biophysical Research Communications, 234, 269-274, 1997.
- [11] K. C. Huang, C. C. Yang, K. T. Lee and C. T. Chien, "Reduced hemodialysis-induced oxidative stress in end-stage renal disease patients by electrolyzed reduced water", Kidney Int., 64, 2, 704-714, 2003.
- [12] 김윤경, 박혜린, 이종권, 이윤배, 류근걸, 이미영 "전리 수가 생체물질의 분해에 미치는 영향", 한국산학기술학회 춘계 학술발표논문집, 제5권, 제1호, pp. 261-263, 6월, 2004.
- [13] M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding", Anal. Biochem., 72, 248-254, 1976.
- [14] M. Tal, A. Silberstein and E. Nusser, "Why does Coomassie brilliant blue R interact differently with different proteins?", J. Biol Chem., 25, 260, 18, 9976-80, 1985.
- [15] M. Schleicher and D. M. Watterson, "Analysis of differences between coomassie blue stain and silver stain procedures in polyacrylamide gels: conditions for the detection of calmodulin and troponin C", Anal Biochem., 131, 312-317, 1983.
- [16] G. Varghese and A. M. Diwan, "Simultaneous staining of proteins during polyacrylamide gel electrophoresis in acidic gels by countermigration of Coomassie brilliant blue R-250", Anal Biochem., 132, 481-483, 1983.
- [17] J. Borejdo and C. Flynn, "Electrophoresis in the presence of Coomassie brilliant blue R-250 stains polyacrylamide gels during protein fractionation", Anal Biochem., 140, 84-86, 1984.
- [18] K. K. Ryoo, W. H. Kim, Y. G. Kim, M. Y. Lee and Y. B. Lee, "Fabrication of PCR device for heating/cooling", J. Kor. Inst. Met. & Mater., 43, 142-147, 2005.

류 근 결(Kun-Kul Ryoo)



[정회원]

- 1976년 2월 : 서울대학교 금속공학과 (공학사)
- 1978년 2월 : 한국과학원 재료공학과 (공학석사)
- 1986년 8월 : 오레곤 과학기술대학원 재료공학과(공학박사)
- 1998년 3월~현재 : 순천향대학교 신소재공학과 부교수

<관심분야>

디스플레이, 반도체, MEMS, 전리수 응용

이 윤 배(Yoon-Bae Lee)



[정회원]

- 1971년 2월 : 서울대학교 화학과 (이학사)
- 1973년 2월 : 서울대학교 대학원 화학과 (이학석사)
- 1984년 9월 : Temple University 화학과(Ph.D.)
- 1990년 3월~현재 : 순천향대학교 나노화학공학과 교수

<관심분야>

유기합성, 고분자합성, 청정공학, 고분자 재활용.

이 종 권(Jong-Kwon Lee)



[정회원]

- 1977년 2월 : 서울대학교 금속공학과 (공학사)
- 1979년 2월 : 한국과학원 재료공학과 (공학석사)
- 1986년 3월 : 오하이오주립대학교 재료공학과(공학박사)
- 1992년 3월~현재 : 순천향대학교 재료공학과 교수

<관심분야>

표면공학, 부식 및 방식

이 미 영(Mi-Young Lee)



[정회원]

- 1985년 2월 : 연세대학교 생화학과 (이학사)
- 1987년 2월 : 연세대학교 생화학과 (이학석사)
- 1991년 8월 : 연세대학교 생화학과 (이학박사)
- 1992년 3월~현재 : 순천향대학교 생명과학부 교수

<관심분야>

단백질공학, 다이옥신유전체학, 기능성효소