

새싹 추출물의 항산화 작용과 미량 성분

조완구[†]

전주대학교 대체의학대학 기초의과학과
(2010년 1월 20일 접수 ; 2010년 3월 11일 채택)

Anti-oxidative Activity and Trace Component of a Sprout Serum

Wan-Goo Cho[†]

College of Alternative Medicine, Jeonju University,
Hyoja-Dong, Wansan-Gu, Jeonju, 560-759, Korea
(Received January 20, 2010 ; Accepted March 11, 2010)

Abstract : In this study, the anti-oxidative effects and components of sprout serum were investigated. In the buds, high levels of zinc, iron and manganese were analyzed in addition to copper, magnesium, and potassium. The free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) scavenging activity of sprout serum was evaluated with IC₅₀. IC₅₀ of sprout serum was 58.0 mgmL⁻¹, and that of vitamin C was 3.7 mgmL⁻¹. In the test of superoxide scavenging activity of sprout serum, the activity was dependent on the concentration of serum. In this case, the IC₅₀ was 2.0 wt%. Cell viability was detected by using the MTT method. Cultured human fibroblast was treated with 15 mM H₂O₂ and cell viability was 70 % in case of control. However, the effect of treating 0.5% of sprout serum was similar to that of 0.0001% of vitamin C.

Key words : sprout, anti-oxidative, mineral, ROS

1. 서론

피부는 다양한 환경적 요인에 접촉하기 때문에, 산화적 스트레스 요인의 공격에 직접적으로 노출되어 있다. 많은 양의 자외선에 노출되면 피부에서는 높은 농도의 활성산소종(ROS)이 생성되며, 항산화 방어계는 붕괴되고, 결과적으로 피부에 산화적 스트레스에 의한 세포 손상을 발생시키며, 노화를 가속화시킨다[1-4]. 이러한 활성산소종은 반응성이 크며 다양한 종이 존재

한다[5,6]. 따라서 산화적 스트레스에 의한 항산화 방어막의 붕괴로부터 피부를 보호하기 위한 항산화 효과를 가진 천연 소재 개발 연구가 다양하게 이루어지고 있다[7-12].

건강을 중시하는 웰빙 시대에 부흥하여 다양한 채소들이 상업적으로 각광을 받고 있으며 그중에서도 무순, 청경채, 알팔파의 공통점은 바로 새싹 채소라는 것이다. 최근 들어 새싹채소가 각광을 받고 있는데 이 새싹 채소가 1석 3조의 즐거움을 만끽 할 수 있는 주인공이다. 새싹 채소란 콩나물, 숙주나물, 무순처럼 씨앗을 받아시켜 그 싹을 먹는 채소를 말한다. 종류도 많고 효능도 다양한 새싹채소는 신선한 향

[†]주저자 (E-mail : wgcho@jj.ac.kr)

이 그대로 살아있고 어린 채소의 부드럽고 연한 맛을 느낄 수 있을 뿐만 아니라 다 자란 채소에 비해서 비타민, 무기질, 미네랄, 효소 등 우리 몸에 좋은 각종 영양성분이 풍부하다. 그 중에서도 브로콜리에는 항암물질인 Sulforaphane의 함량이 브로콜리에 비해 새싹에 50배 많다[13]. 비타민 A의 함량은 성숙한 무에 비해 싹에 40배 많으며 녹두는 싹에 비타민 C가 없으나 싹에는 100 g 중 13.2 mg을 함유하고 있으며 비타민 B군은 발아 시작 후 4~16배 증가한다. 특히 비타민 B12는 20배까지 증가한다. 새싹에서는 미량원소의 함량이 증가하며 알팔과 싹은 싹에 비해 100배의 마그네슘과 3배의 아연을 포함한다. 이것의 양은 새싹 100 mg으로써 미국 일일영양권장량의 2배에 해당하며 피부 비타민인 나이아신을 성숙한 무에 비해 싹은 10배 가지고 있으며 이것은 우유의 30배, 달걀의 45배에 해당한다[14].

본 연구에서는 브로콜리(Broccoli), 유채유(Blossica), 다채(Tatsoi), 배추(Chinese cabbage)의 새싹 추출물의 미량원소 분석과 항산화 효과 정도를 측정하여 화장품에의 이용 가능성을 검토 및 보고 하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)의 Cary 50을 사용하였다. L-Ascorbic acid와 free radical 소거활성에 사용한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 H_2O_2 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea) 제품을 사용하였다. 완충용액제조에 사용된 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, NaCl, trizma base, HCl 그리고 ethanol (EtOH), methanol (MeOH), ethyl acetate (EtOAc) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. MTT (3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하였다.

2.2. 새싹 추출물 (sprout serum)의 제조

경동시장에서 브로콜리, 유채유, 다채 및 배추

의 싹을 구입한 후 실온에서 물에 넣어 24시간 발아 시킨 후 물이 잘 빠지는 용기에 섬유를 덮고 발아 싹을 뿌려 실온 암소에서 하루에 3회 물을 주어 7일 동안 재배하였다. Fig. 1에 발아 성숙된 새싹의 사진을 나타냈다. 이렇게 재배한 브로콜리, 유채유, 다채 및 배추의 새싹 10 Kg을 냉압착법으로 압착 착즙하고 물 10 Kg을 가한 후 6시간 냉침하여 0.2 mm 필터를 여과하여 멸균과 침전물을 제거하여 시료 10 Kg을 제조 하고 실험에 사용하였다. 분석 실험을 제외한 모든 실험은 4가지 새싹의 추출물을 동량 혼합하여 새싹 추출물 (sprout serum)로 하고 항산화 활성 등의 실험을 실시하였다.

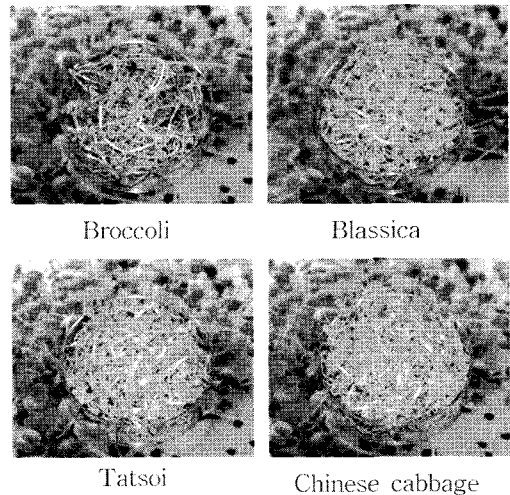


Fig. 1. Photographs of sprouts.

2.3. 세포 배양

인체의 섬유아세포(WI-38 fibroblast)를 가지고 배양을 하였다. 세포는 사용 전까지 액화 질소에 냉동보존 하였고 실험은 3차례의 계대배양을 진행한 후에 진행되었다. 배양방법은 37 °C 5.0% CO_2 가 함유된 절대 습도공간에서 10%의 fetal bovine serum (FBS Hyclone, Logan, UT)과 5.0% penicillin/streptomycin (Gilsen, Rockville, MD)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Life Technologies, Inc., Rockville, MD)에서 배양하였다.

2.4. 새싹 추출물의 미량 원소 분석

Sprout serum을 감압 농축하여 시험관에 넣

고 미량 무기성분 분해용 질산 6 mL와 과산화수소 1 mL을 가한 후 microwave digestion system (MLS 1200 MEGA, Milstone, Italy)에서 시료를 용액화 하였다. Hot plate에서 시료를 휘발시켜서 1 mL로 한 후 1% 질산으로 희석하여 30 g으로 정량한 후 ICP-AES (ICPS 1000 IV, Shimadzu, Japan)로 무기성분을 정량하였다. 이때 표준물질은 Accustandard (USA) 사 제품을 사용하였다.

2.5. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

새싹 추출물에 대한 free radical 소거활성 측정에는 DPPH를 이용하였다. 실험방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 ethanol 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL을 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 분 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다, 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군으로 하여 식 [1]에 의해 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다. 소거활성은 DPPH의 농도가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, IC₅₀, mgmL⁻¹)로서 표기하였다.

Inhibition (%) =

$$\left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100 \quad [1]$$

2.6. SOD(superoxide dismutase) 유사 활성 시험

새싹 추출물의 SOD 유사활성은 S. Marklund와 G. Marklund의 방법에 따라 H₂O₂로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다[15]. 각 시료 0.2 mL에 Tris-Cl buffer (50 mM tris[hydroxymethyl]aminomethane, 10 mM EDTA, pH 8.4) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25 °C에서 10분간 반응시키고, 1N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 추출물 첨가구와 무 첨가구의 흡광도차이를 백분율(%)로 환산한 값으로 다음과 같이 계산하였다.

SOD scavenging activity (%) =

$$\frac{[(\text{대조군 흡광도} - \text{시료의 흡광도}) / \text{대조군 흡광도}] \times 100}{[2]}$$

2.7. 세포 viability를 이용한 손상 억제능 시험

배양된 섬유아세포를 24 well plate에 well 당 2x10⁵ cell 수로 세포를 분주하고 24 시간 배양하였다. 각 시료를 세포 독성을 나타내지 않는 범위 내에서 새싹 추출물을 농도별로 첨가하고 24시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 well 당 60 mL의 MTT 용액을 넣은 후 2시간 동안 배양하고 세포를 용해하여 96 well에 옮긴 후 microplate를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하고 이를 세포 생존율로 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 새싹 추출물의 미량 원소 분석

Table 1에 각 새싹의 추출물로부터 미량 원소를 정량한 결과를 나타냈다. 모든 새싹에서 아연, 철 및 망간은 높은 함량을 보였으며 그 외에도 구리, 마그네슘, 칼륨 등이 분석되었다. 피부에서 아연은 각화조절, 상처치유, 세포활성이 보고되어 있으며 구리는 피부 산화적 손상 방지, 철은 피부 저항력 증진, 산소공급 그리고 칼슘은 표피 turn over 증진, 보습에 관여하는 중요 원소임이 보고되고 있다[16]. 특히 미량 원소는 피부의 보습 기작에 중요한 역할을 담당한다[17].

Table 1. Concentration of Trace Element of Dried Sprout

분석항목 (ppm)	배추	브로커리	유채	다채
Zn	48.7	47.4	45.8	55.0
Cu	1.6	3.1	1.8	1.9
Fe	71.3	50.7	44.9	30.7
Mn	35.9	22.8	27.2	22.0
Mg	0.32	0.40	0.21	0.16
Ca	0.30	0.35	0.23	0.46
Na	0.29	0.31	0.24	0.27
K	0.79	0.81	0.66	0.47

3.2. DPPH법을 이용한 free radical 소거활성

생체막에 있어 활성산소 또는 지질 라디칼에 의해 개시된 지질과산화 반응은 자동산화 과정을 경유한 연쇄반응이다. Vitamin C 등의 항산화제는 연쇄반응에서 지질 과산화라디칼에 수소 도너로 작용하여 연쇄반응을 종결시킨다. 이때 수소 도너로 작용하는 항산화제의 능력은 안정한 free radical인 DPPH와의 반응을 통하여 알아 볼 수 있다.

새싹 추출물 그리고 비교물질인 L-ascorbic acid의 free radical 소거활성(IC₅₀) 측정 결과는 Table 2와 같다. 새싹 추출물은 IC₅₀가 58.0 mgmL⁻¹, 비교 물질로 사용한 수용성의 Vitamin C의 free radical 소거활성은 3.7 mgmL⁻¹ 이었다.

Table 2. Free Radical Scavenging Activities of Extracts from Sprout and References

시료명	sprout serum	Vitamin C
IC ₅₀	58.0 mg/mL	3.7 mg/mL

3.3. SOD 유사 활성

새싹 추출물의 superoxide radical 소거 활성을 측정된 결과 농도 의존적으로 활성을 보였다. IC₅₀ 값은 Fig. 2에 나타난 것과 같이 2.0 wt%의 값을 보였으며 농축하지 않은 추출물인 점을 감안하면 소거 활성이 높은 편이다.

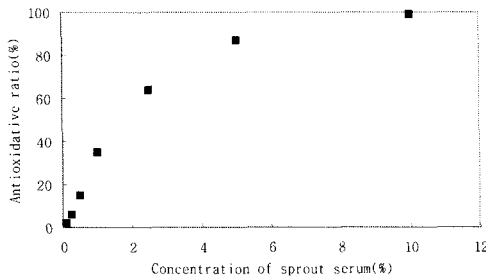


Fig. 2. Superoxide scavenging activity of sprout serum.

3.4. H₂O₂ 처리 후의 회복된 항산화 활성

배양한 Human 유래 섬유아세포에 15 mM

H₂O₂를 처리하고 새싹 추출물의 농도에 따른 세포 회복 활성도를 MTT 방법으로 평가하였다. Fig. 3에 나타난 것과 같이 과산화수소를 처리하지 않은 것을 control로 하여 과산화수소 15 mM을 처리한 경우 70% 정도의 세포 생존력을 보였으나 새싹추출물 0.5 %를 처리하면 vitamin C 0.001% 처리 후와 유사한 정도의 세포 생존력을 보였다.

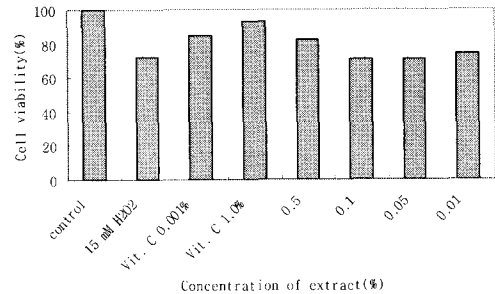


Fig. 3. Cell viability depending on the concentration of sprout serum against treating H₂O₂.

상기 실험 모두에서 새싹 추출물은 항산화 활성을 보이고 있으며 농도가 높을수록 그 활성 역시 크게 나타났다. DPPH 실험 결과 새싹 추출물은 0.5% 이상에서 매우 좋은 라디칼 소거능을 보였으며 SOD의 경우 5% 이상의 농도에서 singlet oxygen을 scavenging하는 효과를 보였고 섬유아세포를 이용한 실험에서는 0.5% 이상의 농도에서 카타라제의 효과를 보였다.

4. 결론

상기의 실험 결과로부터 하기의 결론을 얻을 수 있었다.

1. 모든 새싹에서 아연, 철 및 망간은 높은 함량을 보였으며 그 외에도 구리, 마그네슘, 칼륨 등이 분석되었다.
2. DPPH법을 이용한 free radical 소거활성 실험 결과 새싹 추출물은 IC₅₀가 58.0 mgmL⁻¹, 비교 물질로 사용한 수용성의 Vitamin C의 free radical 소거활성은 3.7 mgmL⁻¹ 이었다.
3. 새싹추출물의 superoxide radical 소거 활성을 측정된 결과 농도 의존적으로 활성을 보

였다. IC₅₀ 값은 2.0 wt%의 값을 보였으며 농축하지 않은 추출물인 점을 감안하면 소거 활성이 높은 편이었다.

4. 배양한 Human 유래 섬유아세포에 15 mM H₂O₂를 처리하고 새싹 추출물의 농도에 따른 세포 회복 활성도를 MTT 방법으로 평가한 결과, 과산화수소를 처리하지 않은 것을 control로 하여 과산화수소 15 mM을 처리한 경우 70% 정도의 세포 생존력을 보였으나 새싹추출물 0.5 %를 처리하면 vitamin C 0.001% 처리 후와 유사한 정도의 세포 생존력을 보였다.

참고문헌

1. J. H. Kim, Y. J. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative activity of *Securinega suffruticosa* extract, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, 26(3), 269 (2009).
2. I. C. Kim and S. S. Hur, Antioxidative properties and whitening effects of the *Astragali Radix*, *Atractylodis Rhizoma Alba* and *Acanthopanax Cortex*, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, 26(2), 110 (2009).
3. D. L. Black, R. Chatterjee, and D. P. Hannon, Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photo-protective effect of topically applied iron chelators, *Photochem. Photobiol.*, 54(2), 215 (2008).
4. M. Kubo and H. Matsuda, Development studies of cuticle and medicinal drugs from natural sources on melanin biosynthesis, *Fragrance J.*, 8, 48 (1995).
5. S. N. Park, Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 35(3), 510 (2003).
6. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis Georgi* and its application to cosmetics (I), *J. Kor. Ind. Eng. Chem.*, 14(5), 657 (2003).
7. R. J. Nijveldt, E. Van Nood, D. EC Van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, and P. AM van Leeuwen, Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418 (2001).
8. S. S. Ham, D. H. Oh, J. K. Hong, and J. H. Lee, Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs, *J. Food Sci. Nutr.*, 2, 155 (1997).
9. S. Jun, K. Goto, F. Nanjo, S. Kawai, and K. Murata, Antifungal activity of plant extract against *Arthrinium sacchari* and *Chaetomium funicola*, *J. Biosci. Bioeng.*, 90, 442 (2000).
10. S. T. Kim, K. T. Lee, and T. J. Min, Characteristics of antimicrobial activities for the human pathogenic microorganism by extracts from Korean mushrooms, *Kor. J. Mycol.*, 31, 67 (2003).
11. K. S. Lee, J. C. Lee, K. H. Han, and M. J. Oh, Antimicrobial activities of extract of *Perilla frutescens Britton var. acuta Kudo* on food spoilage or food borne disease microorganism, *Kor. Soc. Food Preserv.*, 6, 239 (1999).
12. M. H. Oh and H. J. Whang, Chemical composition of server herb plant, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 35, 1 (2003).
13. J. H. Kim, M. J. Kim, H. K. Oh, M. J. Chang, and S. H. Kim, Seasonal variation of mineral nutrients in Korean common fruits and vegetables, *J. East Asian Soc. Dietary Life*, 17(6), 860 (2007).
14. S. D. Cho, J. Y. Park, E. J. Kim, D. M. Kim, and G. H. Kim, Quality evaluation of fresh cut products in the market, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, 36(5), 622 (2007).
15. S. Marklud and G. Marklud, Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.*, 47, 469 (1974).

16. D. H. Kim, K. J. Lee, X. F. Q, Y. M. Lee, Y. S. Yoon, J. L. Kim, B. S. Chang, and Y. S. Ryang, The effects of magnesium rich sea mineral water on atopic dermatitis-like skin lesions in hairless mice, *Kor. J. Microsc.*, 38(3), 167 (2008).
17. M. G. Shah and H. I. Maibach, Estrogen and Skin: An Overview, *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2(3), 143 (2001).