

Anti-inflammatory Effect and Antioxidative Activities of Ingredients used in *Bibimbab*Yu-Jin Ko<sup>1</sup>, Hui-Gyeong Seol<sup>1</sup>, Gyeong-Ran Lee<sup>1</sup>, Gye-Im Jeong<sup>2</sup> and Chung-Ho Ryu<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Division of Applied Life Science (BK21 program), Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea<sup>2</sup>Ilsin Cooking School, Jinju 660-140, Korea

Received July 8, 2012 / Revised January 8, 2013 / Accepted February 15, 2013

*Bibimbab* (mixed rice) is a traditional Korean one-dish meal. This study was carried out to investigate the anti-inflammatory and antioxidative effects of raw and seasoned ingredients used in *Bibimbab* (*Cucurbita moschata* P., *Platycodon grandiflorum* A., *Vigna radiata* L., *Porphyra yezonensis* uckea, *Allium ampeloprasum* L., *Pteridium aquilinum*, *Raphanus sativus*). Human mast cells (HMC-1) were pretreated with 70% ethanol extracts of *Bibimbab* and further cultured for an appropriate time after the addition of phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and calcium ionophore A23187. Cell viability was determined by an MTT assay. None of the ingredients showed cytotoxic effects at a concentration of 1.0 µg/ml. Anti-inflammatory effects were analyzed at 0.01, 0.1, and 1.0 mg/ml concentrations of the raw, seasoned ingredients of PMA. A23187 stimulated HMC-1. Among the various ingredients, seasoned *A. ampeloprasum* L. extract showed the highest inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-6 secretion (90% and 93%, respectively) at a concentration of 1.0 mg/ml. The *R. sativus* extract showed the highest inhibition (85%) of IL-8 secretion. DPPH analysis of the antioxidation properties of the ingredients showed that raw and seasoned *A. ampeloprasum* extracts exhibited the highest DPPH free radical scavenging activity (67.50 and 73.65%, respectively). These results suggest that seasoned ingredients used in *Bibimbab* have lower anti-inflammatory effects in relation to TNF- $\alpha$  and IL-6 secretion than raw ingredients in PMA- and A23187-treated HMC-1. In addition, the seasoned ingredients showed a tendency to increase antioxidative activity. Therefore, the ingredients used in *Bibimbab* have potential as anti-inflammatory and antioxidation agents.

**Key words** : *Bibimbab*, anti-inflammatory effect, anti-oxidative activity

## 서 론

비빔밥은 궁중 요리로 점심 때 가볍게 먹던 음식이라고 전해지며 여러 가지 나물을 비벼 먹는 것으로 각 지방마다 특산 농산물의 사용을 바탕으로 발전되어 왔는데 특히 진주, 전주, 해주에서 향토명물 음식으로 발전하였다. 비빔밥에는 여러 가지 채소가 첨가되므로 각종 채소가 함유한 phytochemical 성분들은 건강에도 유용할 뿐만 아니라 여러 가지 나물에 밥을 넣어 비벼 먹으면 맛도 좋고 편리하게 먹을 수 있으며 포만감도 갖게 된다. 또한 섬유질도 많이 섭취할 수 있어서 분명 훌륭한 건강식이라 할 수 있다[21].

현대 의학의 혁신적인 발전에 의거하여 사람의 수명이 연장되고 있으며, 이와 더불어 건강에 대한 관심이 높아지면서 성인병, 노화의 억제와 관련된 천연 항산화, 항염증 물질

에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다[21]. 특히, 염증반응이란 생체 조직이 손상을 입었을 때에 체내에서 일어나는 방어적 현상으로 몸의 어떤 부분이 붉어지면서 붓고, 열이나 통증, 기능장애 등을 일으키는 것을 말하여 여러 가지 요인이 있으나 주로 섭취나 접촉에 의한 감염에 의해 유발되며 [12] 자가 면역질환, 피부손상 및 노화 등 각종 질병의 주요 원인으로 알려져 있다[19]. 반응의 치료에는 약물치료가 가장 많이 사용되고 있으나 약물치료 시 부작용이 커서 사용하는데 상당한 어려움이 있어 천연 재료를 이용한 염증억제에 관한 연구가 다양하게 이루어지고 있다.

곰취, 들깨잎, 부추[29], 생강, 들깨, 쑥갓, 방아 등의 식용식물[32], 버섯[18], 도라지[15], 고사리[36] 등의 항산화 효과, 무 [5]의 면역독성 감화효과, 비빔밥 조리 시 양념으로 사용되는 마늘의 에탄올 추출물 생리활성[30] 등 많은 연구가 보고되어 있지만 대부분이 조리 전의 재료들을 열수 혹은 에탄올 추출 시료를 이용한 연구였다. 그러나 실제로 사람들이 섭취하는 것은 생 시료뿐만 아니라 시료를 볶거나 데치는 조리조작과 양념을 첨가하는 조작 등의 조리 과정을 거친 음식을 섭취하게 되므로 생 시료와는 성분이나 생리활성이 상이하다고 볼 수 있다. 또한 조리과정에서도 파, 마늘, 소금, 참기름, 깨소금 등의 양념을 첨가하므로 항염증이나 항산화성에 변화가 있을

**\*Corresponding author**

Tel : +82-55-772-1905, Fax : +82-55-772-190

E-mail : ryu@gnu.ac.kr

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.

것으로 예상된다[21].

비빔밥은 식사하기에 간편하고 맛과 영양적인 면에서 매우 우수하며 최근 한류열풍에 힘입어 세계적으로 각광받은 음식임에도 불구하고 비빔밥 생 재료에 대한 개별적인 연구결과는 다양한 반면 조리과정을 거친 비빔밥에 대한 기능성을 입증할 연구는 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 비빔밥 재료 (애호박, 도라지, 숙주, 속대기, 부추, 고사리, 무)를 대상으로 생 시료, 양념을 첨가한 조리 조작을 한 시료의 ethanol 추출물을 이용하여 인간유래 비만세포인 HMC-1에 처리한 후 염증 반응의 원인인 cytokine TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8의 유리량 및 DPPH 자유라디칼 소거활성을 측정함으로써 생 시료 및 조리후의 섭취의 항염증성 및 항산화성 변화를 검토하고 우수한 비빔밥 제조법의 지표를 제시하여 비빔밥의 우수성을 검증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 제조 및 추출

애호박(*Cucurbita moschata* P.), 도라지(*Platycodon grandiflorum* A.), 숙주(*Vigna radiata* L.), 속대기(*Porphyra yezonensis udea*), 부추(*Allium ampeloprasum* L.), 고사리(*Pteridium aquilinum*), 무(*Raphanus sativus*) 총 7종의 비빔밥 재료를 구입하여 가볍게 수세, 건조한 후 조리 전과 후로 구분하여 준비하였다. 조리는 계 등[23]의 방법을 변형하여 blanching한 재료에 간장, 소금, 설탕, 파 다진 것, 마늘 다진 것, 깨소금, 참기름을 첨가하여 양념 조리하였다. 시료의 추출은 각 시료 무게의 4배량(w/v)의 70% ethanol을 가하여 믹서기로 분쇄하고, 실온에서 12 시간 동안 진탕하여 총 3회 반복 추출하였다. 추출액을 여과지(Whatman No. 2, Maidstone, England)를 사용하여 여과하고, 여과액은 rotary vacuum evaporator (EYELA UNI TRAP UT-1000, Tokyo, Japan)로 55°C에서 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.

### 세포 배양

인간유래 비만세포주인 HMC-1 세포(HMC-1, a kind gift from Dr. H.M. Kim at *Kyeonghee* University, Seoul, Korea)는 10% FBS (fetal bovine serum)와 1% antibiotics (penicillin/streptomycin)를 첨가한 IMDM (Isocove's modified Dulbecco's medium) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1주일에 2~3 회 계대 배양하였다.

### 세포 생존율 측정

시료의 세포 생존율을 측정하기 위해 MTT (3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazoliumbromide) assay 를 Green 등의 방법[13]으로 측정하였다. 이 분석법은 노란색의 수용성 기질인 MTT를 진청색의 비수용성 formazan으로

변환시키는 살아있는 세포의 mitochondria dehydrogenase 능력을 이용한 방법으로, 생성된 formazan 의 양은 살아있는 세포 수에 비례한다[24]. HMC-1 세포 5×10<sup>5</sup> cells/well에 비빔밥 재료 추출물을 1.0 mg/ml로 조절하여 450  $\mu$ l 배양액에 50  $\mu$ l를 처리하고 30 min 동안 incubator에서 반응 후 PMA (Phorbol 12-myrostate 13-acetate)와 calcium ionophore A23187로 8시간 자극하였다. 자극 후 MTT 용액 50  $\mu$ l를 각 well에 넣고 overnight한 후, dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA)를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 비빔밥 재료 추출물과 자극제를 처리하지 않은 배양액으로 설정한 후 흡광도를 측정하였다. 세포의 생존 능력은 다음의 식에 따라 계산하였다.

세포 생존율(%)=시료 첨가군의 흡광도/대조군의 흡광도 × 100

### TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 분비량 측정

조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물의 항염증 효과 실험을 위하여 HMC-1 세포에 비빔밥 재료 추출물을 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml 농도로 처리한 후 PMA와 A23187로 자극하여 유도된 cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) 분비량을 sandwich ELISA법으로 측정하였다. 96 well plate에 TNF- $\alpha$ , IL-6와 IL-8의 monoclonal antibody를 넣어 4°C에서 하룻밤 코팅하고, 0.05% tween 20을 첨가한 PBST (phosphate buffer saline)로 세척한 후 standard로 사용되는 recombinant TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8과 비빔밥 재료와 자극제를 처리한 세포 배양액을 각각 첨가하여 실온에서 2 hr 동안 반응시켰다. 세척 후 biotinylated anti-human TNF- $\alpha$ , IL-6와 IL-8을 첨가하여 실온에서 2 hr 동안 반응시킨 후 avidin peroxidase를 넣어 40 min 동안 반응시키고 ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline- 6-sulfonic acid))를 첨가하여 microplate reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### DPPH ( $\alpha$ - $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl radical) 소거 활성 측정

다양한 비빔밥 재료의 DPPH radical에 대한 각 시료의 소거활성을 측정하기 위해 Blois [6]의 방법에 따라 1.0 mg/ml 농도의 시료 1 ml에 0.2 mM의 DPPH 용액 0.5 ml를 가하여 실온에 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 구와 흡광도 차를 비교하여 radical의 소거활성을 백분율(%)로 나타내었다[14]. 대조구로는 대표적인 항산화 활성 물질로 알려진 L-ascorbic acid의 값을 100%로 환산하여 사용하였다.

### 통계학적 분석

모든 실험은 3회 반복실험을 실시하여 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 실험결과의 통계처리는 SPSS (Statistical

Package for Social Science for Windows, Rel 18.0) program을 이용하여 분산분석을 실시하였다. 비빔밥 재료의 조리 전, 후의 기능성변화를 비교하기 위하여 조사항목들 간 Duncan's multiple range test로 사후검정을 수행하였으며  $p < 0.05$ 를 유의수준으로 평가하였다.

### 결과 및 고찰

#### 조리 전, 후의 비빔밥 재료의 세포 생존율 측정

비만세포는 아토피 피부염, 기관지 천식, 알레르기성 비염과 같은 염증반응에 관련되는 주요 세포 중 하나[4]로써 IgE가 매개하는 면역반응과 관계되어 있으며, Th2 type에 의존적인 면역과민성 반응과 알레르기성 질환 및 특정 선천성 면역반응을 유도하는 것으로 알려져 있다[22, 41]. 특히 외부자극으로부터 활성화된 비만세포는 다양한 protease나 histamine과 같은 혈관확장 물질들을 분비하며, 염증유발물질인 다양한 tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8)와 같은 proinflammatory cytokine 을 증가시키는 것으로 알려져 있다[34]. 따라서 비빔밥 추출물의 첨가가 비만세포의 염증반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 인간 유래 비만세포인 HMC-1 세포에 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물을 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, 세포 생존율을 측정 한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. HMC-1의 생존율은 대조군을 100%로 환산한 결과 82.7~107.7%로 모든 구에서 80% 이상의

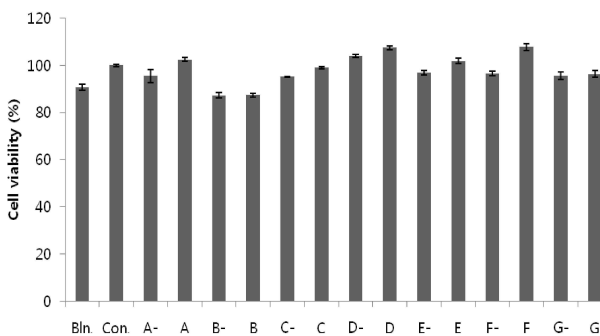


Fig. 1. Cell viability of extracts from *Bibimbab* materials on HMC-1. HMC-1 cells were treated with 1.0  $\mu$ g/ml of extracts. Bln: Stimulation (PMA, A23187), Con: Not treated, A-: raw *Cucurbita moschata* P., A: seasoned *Cucurbita moschata* P., B-: raw *Platycodon grandiflorum* A., B: seasoned *Platycodon grandiflorum* A., C-: raw *Vigna radiate* L., C: seasoned *Vigna radiate* L., D-: raw *Porphyra yezonensis udea*, D: seasoned *Porphyra yezonensis udea*, E-: raw *Allium ampeloprasum* L., E: seasoned *Allium ampeloprasum* L., F-: raw *Pteridium aquilinum*, F: seasoned *Pteridium aquilinum*, G-: raw *Raphanus sativus*, G: seasoned *Raphanus sativus*. Data represent the mean $\pm$ SD from three separate experiments.

세포 생존율을 보여 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물에 의한 유의적인 세포 독성은 나타나지 않았다. 김 등[20]의 연구에서 비빔밥에 사용되는 곰취, 미역취, 삼나물의 세포독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행한 결과 농도별(0, 1, 10, 100, 1,000  $\mu$ g/ml)로 24시간 처리시, 100  $\mu$ g/ml 이하의 농도에서 세포독성이 낮아 세포의 생존율에 영향을 주지 않는다고 보고 하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

#### 비빔밥 재료 추출물이 TNF- $\alpha$ 분비에 미치는 영향

비만세포에서 분비되는 TNF- $\alpha$ 는 tumor cell에서 세포독성을 나타내고 만성염증과 관련되어 있으며[9], 자가 분비할 뿐만 아니라 IL-6, IL-8과 같은 염증성 cytokine의 유도인자이다 [2, 7]. HMC-1에 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물을 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, PMA와 A23187로 자극하여 염증반응을 유도하였을 때 TNF- $\alpha$ 의 분비량의 변화를 조사하여 Fig. 2에 나타내었다. 염증관련 cytokine인 TNF- $\alpha$ 의 분비량은 7종의 비빔밥 재료 추출물 처리에 의해 전체적으로 급격히 감소되었으며, 특히 조리 후의 애호박, 부추 추출물은 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml로 처리한 모든 구에서 TNF- $\alpha$  분비량이 대조구인 Blank와 비교하여 약 50% 이상 감소하였다. 특히, 조리 후의 부추 추출물과 무 추출물은 1.0 mg/ml 농도에서 90%의 감소율을 보였고 조리 후의 도라지, 숙주, 속대기, 고사리, 무 추출물 0.1 mg/ml 이하의 농도에서도 TNF- $\alpha$  분비량이 약 50%로 감소하였다. 그러나, 도라지 추출물을 농도별로 처리했을 때는 다른 구에 비해 감소되는 분비량 차이가 낮은 것으로 나타났다. 또한 재료의 조리 전·후의 TNF- $\alpha$  분비량 억제효과는 대부분 조리 후에 더욱 효과적으로 나타났으며, 특히 조리후의 애호박과 고사리를 0.1 mg/ml 농도로 세포에 처리하였을 때 조리전에 비해 TNF- $\alpha$  분비량이 유의적으로 감소( $p < 0.05$ )하였음을 확인할 수 있었다. 최근 생리활성 물질로 채소에 들어있는 특정성분에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 무나 무청에 들어있는 phenolic compound나 flavonoid에 대한 항산화, 항염, 항암의 효능이 연구를 통해 밝혀지고 있다[38, 42]. 심 등[40]의 연구에서 야채 스프가 TNF- $\alpha$ 의 분비에 미치는 영향을 살펴본 결과, LPS (lipopolysaccharide)를 처리한 군에서의 농도가 1.76 mg/ml, 야채스프를 처리한 실험군은 1.35 ng/ml로 TNF- $\alpha$  분비가 억제되었다고 보고하여 본 연구와 유사하게 나타났다. 채 등[8]의 연구에서는 가자, 라벤다, 강향 추출물을 각각 10, 100  $\mu$ g/ml로 처리했을 때 100  $\mu$ g/ml의 농도에서 TNF- $\alpha$  생성능은 약 50%로 감소하였고, 라벤더 추출물은 별다른 영향을 미치지 못했으며 강향 추출물은 미미한 감소를 나타냈다고 보고한 바 있다. 비빔밥에 사용되는 재료가 함유한 TNF- $\alpha$  분비량을 억제하는 성분은 열처리에 의해 더욱 활성화되거나, 조리 시 첨가된 마늘, 참기름 등의 성분과 함께 더욱 효율적인 상승 효과를 가져오는 것으로 사용된다.

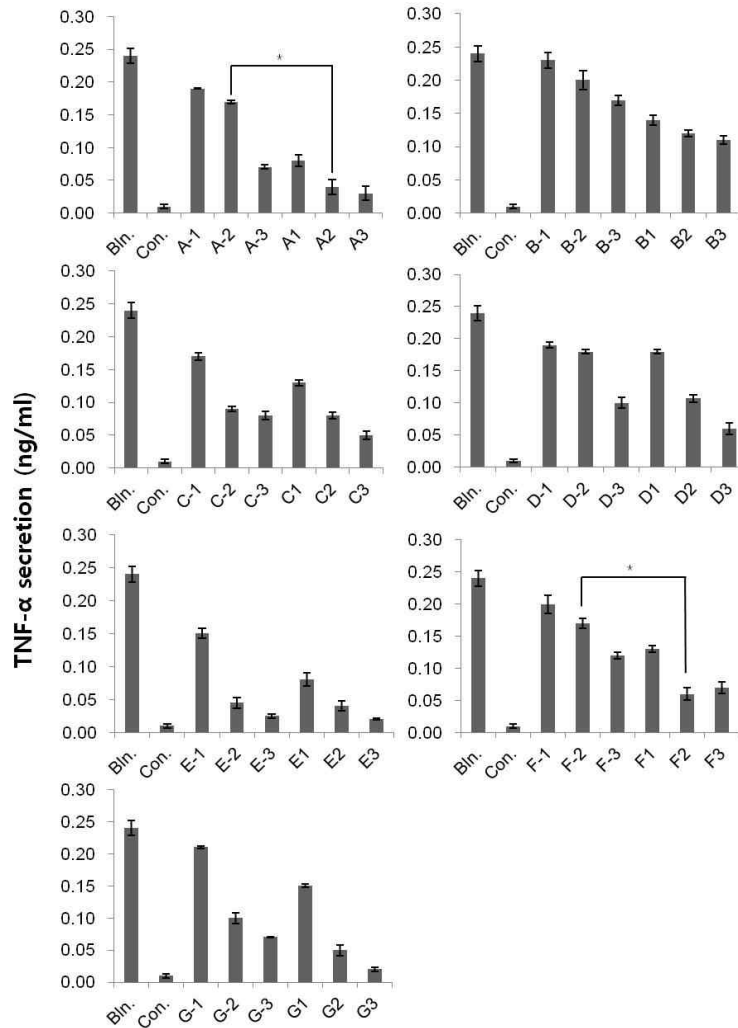


Fig. 2. Effect of extracts from materials of *Bibimbab* on the secretion of TNF- $\alpha$  stimulated by PMA and A23187 on HMC-1. Bln: Stimulation (PMA, A23187), Con: Not treated, A-1~A-3: raw *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), A1~A3: seasoned *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B-1~B-3: raw *Platyocodon grandiflorum* A. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B1~B3: seasoned *Platyocodon grandiflorum* A. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), C-1~C-3: raw *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), C1~C3: seasoned *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D-1~D-3: raw *Porphyra yezonensis uckae* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D1~D3: seasoned *Porphyra yezonensis uckae* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E-1~E-3: raw *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E1~E3: seasoned *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F-1~F-3: raw *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F1~F3: seasoned *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G-1~G-3: raw *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G1~G3: seasoned *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively). Data represent the mean $\pm$ SD from three separate experiments. Significant compared each blank. \*  $p < 0.05$ .

비빔밥 재료 추출물이 IL-6 분비에 미치는 영향

IL-6는 T cell, monocytes, macrophage 등에 의해 생성되는 다면발현 염증성 cytokine으로, B cell 분화의 유도 와 T cell의 성장, 분화 등의 기능을 가진다[4]. HMC-1에 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물을 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, PMA와 A23187로 자극하여 염증반응을 유도하였을 때 IL-6의 분비량을 조사하였다. 염증 관련 cytokine 인 IL-6의 분비량은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 7종의 비빔밥 재료 추출물

처리에 의해 농도 의존적으로 감소하였으며, 특히 조리 후의 애호박, 부추, 고사리, 무 추출물은 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml로 처리한 모든 구에서 IL-6 분비량이 대조구인 Blank와 비교하여 약 50% 이상 감소했다. 특히, 부추 추출물은 다른 재료에 비해 IL-6 분비를 더욱 효율적으로 감소시켰으며, 조리전보다 조리 후 유의적인 효과( $p < 0.05$ )가 관찰되었다. 부추와 같은 *Allium* 속 식물의 함황 화합물이 항암, 항균, 심혈관계질환 예방 활성, 항산화 활성 및 독성물질에 대한 간독성 완화작용 등의 생리

활성을 가지는 것으로 보고[1, 33, 35]되고 있는 것으로 보아 재료 자체가 가지는 성분에 의한 항염증 효과도 뛰어나다고 사료되며, 열처리 및 마늘 등 조미료의 혼합에 의해 그 효과가 더욱 상승된다고 사료된다. 도라지, 고사리 추출물은 IL-6 분비를 효율적으로 감소시켰으나 조리 전·후의 유의적인 차이가 발견되지 않은 반면, 애호박은 조리전보다 조리 후 IL-6 분비를 유의적으로 감소( $p < 0.05$ )시켰으며, 조리 후의 애호박은

0.01~1 mg/ml, 숙주, 속대기 추출물은 1 mg/ml의 농도에서 조리 전에 비해 유의적인 IL-6 분비량의 감소효과( $p < 0.05$ )를 나타내었다. 김 등[20]의 연구에서 울릉도 자생 식물 추출물을 농도별로 처리한 결과 IL-1 $\beta$ , IL-6는 각각 50  $\mu$ g/ml의 농도에서 50%, 55%의 생성 억제 효과를 나타내었고, 이 등[25]의 연구에서는 LPS에 의해 증가되었던 IL-6 mRNA 발현이 등골나물 추출물 처리에 의해 유의적으로 감소하였으며, 최종농도인

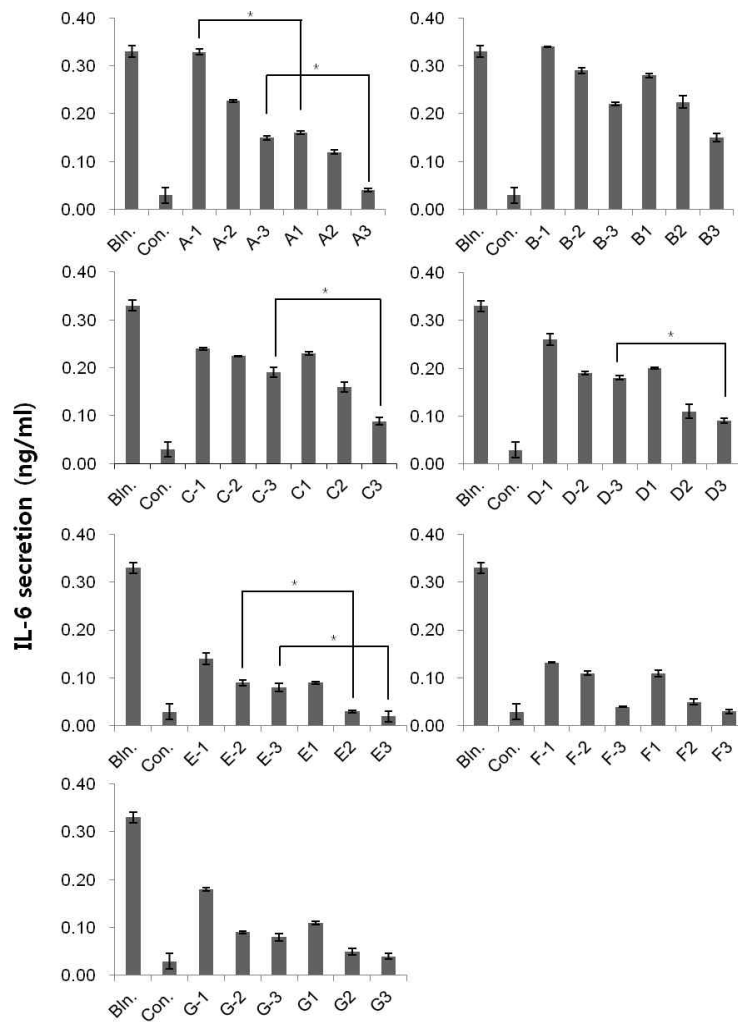


Fig. 3. Effect of extracts from materials of *Bibimbab* on the secretion of IL-6 stimulated by PMA and A23187 on HMC-1. Bln: Stimulation (PMA, A23187), Con: Not treated, A-1~A-3: raw *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), A1~A3: seasoned *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B-1~B-3: raw *Platycodon grandiflorum* A. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B1~B3: seasoned *Platycodon grandiflorum* A. (0.01, 0.01 and 0.1 mg/ml, respectively), C-1~C-3: raw *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), C1~C3: seasoned *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D-1~D-3: raw *Porphyra yezonensis uckea* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D1~D3: seasoned *Porphyra yezonensis uckea* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E-1~E-3: raw *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E1~E3: seasoned *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F-1~F-3: raw *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F1~F3: seasoned *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G-1~G-3: raw *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G1~G3: seasoned *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively). Data represent the mean $\pm$ SD from three separate experiments. Significant compared each blank. \*  $p < 0.05$ .

10 mg/ml의 등골나물 추출물을 처리한 군에서 발현 억제율은 91.1%로 나타났다고 보고한 바 있다.

비빔밥 재료 추출물이 IL-8 분비에 미치는 영향

IL-8은 류머티즘과 같은 염증질환에서 많이 발견되며[4], 호중구, T 림프구, B 림프구, 호산구와 같은 염증관련 세포에 영향을 미친다[31]. HMC-1에 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물

을 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, PMA와 A23187로 자극하여 염증반응을 유도하였을 때 IL-8의 분비량을 조사하였다. 염증성 cytokine인 IL-8의 분비량은 Fig. 4에 나타난 바와 같이 7종의 비빔밥 재료 추출물 처리에 의해 눈에 띄는 감소율이 나타나지는 않았다. 특히 애호박과 숙주 추출물을 처리한 구에서는 대조군인 Blank와 비교했을 때 아주 미미한 감소를 나타냈다. 도라지와 고사리 추출물은 조리 전·후의 차

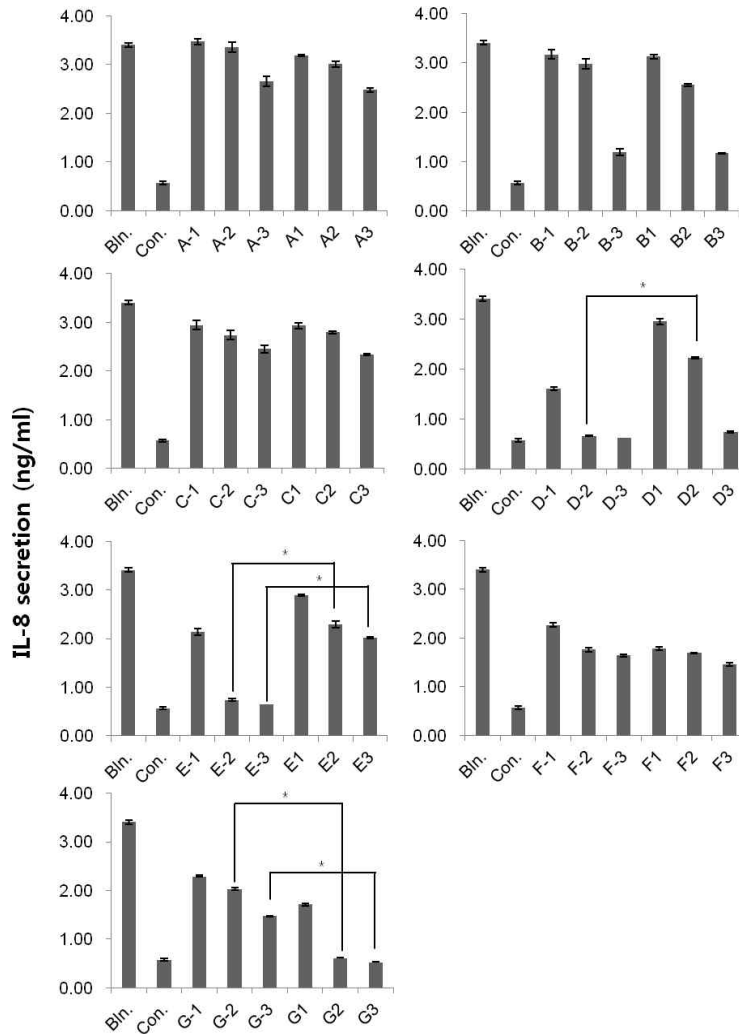


Fig. 4. Effect of extracts from materials of *Bibimbab* on the secretion of IL-8 stimulated by PMA and A23187 on HMC-1. Bln: Stimulation (PMA, A23187), Con: Not treated, A-1~A-3: raw *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), A1~A3: seasoned *Cucurbita moschata* P. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B-1~B-3: raw *Platycodon grandiflorum* A. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), B1~B3: seasoned *Platycodon grandiflorum* A. (0.01, 0.01 and 0.1 mg/ml, respectively), C-1~C-3: raw *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), C1~C3: seasoned *Vigna radiate* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D-1~D-3: raw *Porphyra yezonensis udea* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), D1~D3: seasoned *Porphyra yezonensis udea* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E-1~E-3: raw *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), E1~E3: seasoned *Allium ampeloprasum* L. (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F-1~F-3: raw *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), F1~F3: seasoned *Pteridium aquilinum* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G-1~G-3: raw *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively), G1~G3: seasoned *Raphanus sativus* (0.01, 0.1 and 1.0 mg/ml, respectively). Data represent the mean±SD from three separate experiments. Significant compared each blank. \*  $p < 0.05$ .

이는 크게 나타나지 않았으나 IL-8의 분비가 Blank구에 비해 효율적으로 감소됨을 확인할 수 있었다. 반면, TNF- $\alpha$ 와 IL-6 분비량의 결과와 대조적으로, 속대기와 부추 추출물은 조리 후보다 조리 전의 샘플을 처리하였을 때 IL-8 분비량이 유의적으로 감소( $p < 0.05$ )하였다. 이는 부추의 allyl sulfide, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide 와 같은 함황 화합물, 함황 아미노산의 최종 산물인 타우린, linalool, kaempferol과 같은 flavonoid를 함유[17]하고 있기 때문인 것으로 판단된다. 또한 부추와 같은 *Allium* 속 식물이며 조리중 첨가된 마늘은 가열처리시 130~150°C의 고온처리에는 생마늘 상태일 때보다 polyphenol 성분이 증가하였으나 110°C의 열처리시 50% 정도 감소하였다고 보고하여[27] 정확한 기작은 아직 밝혀지지 않았지만 조리시 가해진 열처리는 부추의 IL-8 분비를 감소시키는 성분의 감소를 유발한 것으로 사료된다. 조리 후의 무 추출물을 HMC-1 세포에 1 mg/ml의 농도로 처리하였을 때 조리 전에 비해 IL-8분비량이 유의적으로 감소( $p < 0.05$ )하는 것으로 나타났다. 손 등[37]의 연구에서 무는 *Helicobacter pylori*에 의해 증가된 proinflammatory cytokine인 IL-8의 분비를 억제시켰다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈다. 또한 무는 염증반응에 의한 세포막 인지질의 유리와 관련된 phospholipase A<sub>2</sub> 활성화 그 결과 생성된 arachidonic acid의 대사에 관여하는 COX-2 활성화 및 과량의 nitric oxide도 효과적으로 저해시킬 수 있는 물질[39]임이 보고되어 있다.

결론적으로, 비빔밥에서 자극에 의한 염증성 cytokine인 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8의 분비를 비빔밥 재료들이 억제한 사실은, 병원균들로부터 유도되는 염증반응이나 염증성 질환의 예방 혹은 치료를 위한 물질로서의 응용 가능성을 시사한다고 볼 수 있다.

**비빔밥 재료 추출물의 항산화 활성 검색**

인체 내에서 생성된 free radical은 지질, 단백질 등과 반응하여 생체의 노화를 촉진할 수 있는 물질로, 이러한 free radical을 제거할 수 있는 천연물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 DPPH radical 소거법은 항산화 물질의 전자공여능을 이용한 항산화 측정법으로 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물을 대상으로 많이 사용되는 방법이다[10, 11]. 시료의 free radical 소거활성 측정은 stable radical인 DPPH를 사용하여 측정하였는데, DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는 원리이다[28]. 총 7종의 비빔밥 재료의 조리 전, 후의 ethanol 추출물에 대한 항산화성을 Fig. 5에 나타내었다. 조리 전의 항산화성은 애호박 6.37%, 도라지 7.37%, 고사리 8.50%, 숙주 9.70%, 속대기 18.60%, 무 33.33%, 부추 67.50% 순으로 부추가 가장 높게 나타났으며, 이 결과는 항염증 효과와도 유사함을 알 수 있었다. 이 등[26]의 연구에서

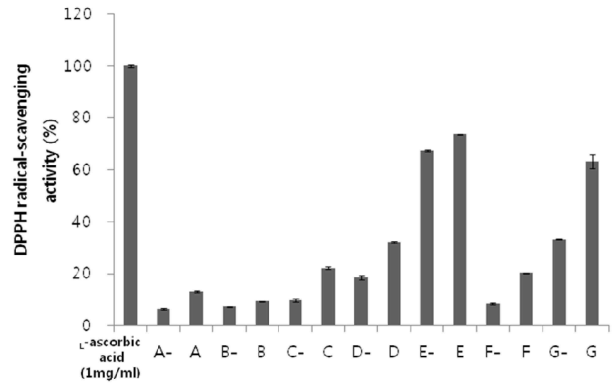


Fig. 5. DPPH radical scavenging ability of extracts from *Bibimbab* materials. A-: raw *Cucurbita moschata* P., A: seasoned *Cucurbita moschata* P., B-: raw *Platycodon grandiflorum* A., B: seasoned *Platycodon grandiflorum* A., C-: raw *Vigna radiate* L., C: seasoned *Vigna radiate* L., D-: raw *Porphyra yezonensis udea*, D: seasoned *Porphyra yezonensis udea*, E-: raw *Allium ampeloprasum* L., E: seasoned *Allium ampeloprasum* L., F-: raw *Pteridium aquilinum*, F: seasoned *Pteridium aquilinum*, G-: raw *Raphanus sativus*, G: seasoned *Raphanus sativus*. Data represent the mean±SD from three separate experiments.

부추의 *in vivo*에서의 항산화 및 항노화 효과를 알아보기 위해 ICR 마우스에 부추를 1년간 투여한 결과, 부추 속에 함유된 항산화 물질들과 함황 화합물들이 ICR 마우스의 가령에 따른 항산화 시스템을 적극적으로 보호함을 확인하였다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사하였다. 조리 후의 경우, 도라지 9.30%, 애호박 13.18%, 고사리 20.20%, 숙주 22.10%, 속대기 32.18%, 무 63.18%, 부추 73.65%, 순으로 조리 전의 경우가 크게 다르지 않았다. 모든 구에서 조리 전보다 후의 항산화성이 향상되었는데, 양념재료로 사용되는 마늘, 고추, 참깨 등이 항산화력이 높은 재료들이므로 이러한 결과를 나타낸 것이라 판단된다. 정 등[16]의 무 에탄올 추출물의 *in vitro* 생리활성 분석 연구에서 항산화 활성 분석 결과, 무줄기 추출물이 43%, 무뿌리 추출물은 61.5%를 나타내어 본 연구와 차이를 보였지만, 본 연구 결과로서도 무 추출물은 항산화제로서 이용 가능성이 충분한 것으로 판단된다. 항산화 활성은 염증관련 세포에서 ROS와 RNS의 생성억제와 대식세포의 염증반응 억제와도 깊은 관련이 있는데[3] 조리 후의 비빔밥 재료 추출물은 조리 전보다 항산화 활성이 대체적으로 우수하였고 이 결과는 앞의 항염증 효과와도 동일함을 보였다. 향후, 비빔밥 재료의 추가적인 기전연구를 통해 기능성 소재로서의 가능성이 시사된다.

## 감사의 글

본 연구는 BK21 program 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

## References

- Agarwal, K. C. 1996. Therapeutic actions of garlic constituents. *Medicinal Res Reviews* **16**, 111-124.
- Arend, W. P. and Dayer, J. M. 1995. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **38**, 151-160.
- Azad, N., Rojanasakul, Y. and Vallyathan, V. 2008. Inflammation and lung cancer: roles of reactive oxygen/nitrogen species. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* **11**, 11-15.
- Baggiolini, M. 2001. Chemokines in pathology and medicine. *J Intern Med* **250**, 91-104.
- Ben Salah-Abbès, J., Abbès, S., Houas, Z., Abdel-Wahhab, M. A. and Oueslati, R. 2008. Zearalenone induces immunotoxicity in mice: possible protective effects of radish extract (*Raphanus sativus*). *J Pharm Pharmacol* **60**, 761-70.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Butler, D. M., Maini, R. N., Feldmann, M. and Brennan, F. M. 1995. Modulation of proinflammatory cytokine release in rheumatoid synovial membrane cell cultures. Comparison of monoclonal anti TNF-alpha antibody with the interleukin-1 receptor antagonist. *Eur Cytokine Netw* **6**, 225-230.
- Chae, I. G., Yu, M. H., Kim, H. I. and Lee, I. S. 2011. Anti-inflammatory and anti-oxidative activity of methanol extract from *Terminalia chebula* Retz., *Lavandula spica* L. and *Dalbergia odorifera* T. in raw 264.7 cells. *J Life Sci* **21**, 561-567.
- Chen, F., Castranova, V. and Shi, X. 2001. New insights into the role of nuclear factor-kappaB in cell growth regulation. *Am J Pathol* **159**, 389-397.
- Cho, E. K., Jeong, B. R. and Choi, Y. J. 2010. Physiological activities of hot water extract from pine bud (*Pinus densiflora*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* **39**, 1573-1579.
- Choi, C. S., Song, E. S., Kim, J. S. and Kang, M. H. Antioxidative activities of *Castanea Crenata Flos*. Methanol extract. *Korean J Food Sci Technol* **35**, 1216-1220.
- Chung, E. K., Seo, E. H., Park, J. H., Kim, Y. N., Kim, K. H. and Lee, B. R. 2009. Anti-inflammatory and anti-allergic effect of soybean extracts produced by organic cultivation. *Korean Association Organic Agric* **4**, 105-113.
- Green, L. C., Reade, J. L. and Ware, C. F. 1984. Rapid colorimetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lympholines. *J Immun Methods* **126**, 131-138.
- Han, E. K., Lee, J. Y., Jung, E. J., Jin, Y. X. and Chung, C. K. 2010. Antioxidative activities of water extracts from different parts of *Taraxacum officinale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **39**, 1580-1586.
- Jang, J. R., Hwang, S. Y. and Lim, S. Y. 2011. Inhibitory effect of extracts of *Platycodon grandiflorum* (the Ballon Flower) on oxidation and nitric oxide production. *Korean J Food Preserv* **18**, 65-71.
- Jeong, M. S., Lee, G. S. and Chae, H. J. 2004. *In vitro* biological activity assay of ethanol extract of radish. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **47**, 67-71.
- Kameoka, H. and Miyake, A. 1974. The constituents of the steam volatile oil from *Allium tuberosum rotter*. *Nippon Nogei-dagaku Kaishi* **48**, 385-392.
- Kang, M. Y., Kim, S. Y., Yun, H. J. and Nam, S. H. 2004. Antioxidative activity of the extracts from oak mushroom (*Lentinus edodes*) with unmarketable quality. *Korean J Food Sci Technol* **36**, 648.
- Kawamata, H., Ochiai, N., Mantani, N. and Terasawa, K. 2000. Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS-activated RAW 264.7 cells, a murine macrophage cell line. *Am J Chin Med* **28**, 217-226.
- Kim, D. H., An, B. J., Kim, S. G., Park, T. S., Park, G. H. and Son, J. H. 2011. Anti-inflammatory effect of *Ligularia fischeri*, *Solidago virga-aurea* and *Aruncus dioicus* complex extracts in raw 264.7 cells. *J Life Sci* **21**, 678-683.
- Kim, U. S., Yoon, H. K., Yoon, S. K. and Koo, S. J. 2004. Electron donating ability and nitrite scavenging activity of materials in a traditional one-dish meal (*Bibimbab*). *Korean J Soc Food Cookery Sci* **20**, 677-683.
- Ko, Y. J., Kim, H. H., Kim, E. J., Kim, J. Y., Kang, S. D., Son, Y. H., Choi, S. Y., Cha, S. K., Kim, J. W., Lee, J. O. and Ryu, C. H. 2011. Anti-allergic inflammatory effect of bacteria isolated from fermented soybean and *Jeotgal* on human mast cell line (HMC-1). *J Life Sci* **21**, 393-399.
- Kye, S. H., Moon, H. K., Yum, C. A., Song, T. H. and Lee, S. H. 1995. Standardization of the preparation methods of Korean foods. *Korean J Soc Food Sci* **11**, 557-564.
- Lee, E. J., Bae, S. Y., Woo, K. W. and Lee, Y. H. 2010. Antibacterial and anti-inflammatory effects of medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Soc Cosmet Scientists Korea* **36**, 57-63.
- Lee, H. N., Lim, D. Y., Lim, S. S., Kim, J. D. and Yoon, J. H. 2011. Anti-inflammatory effect of ethanol extract from *Eupatorium japonicum*. *Korean J Food Sci Technol* **43**, 65-71.
- Lee, M. J., Ryu, B. M., Lee, Y. S. and Moon, G. S. 2002. Effect of long term *Buchu* (*Chinese chives*) diet on antioxidant system of ICR mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **31**, 834-839.
- Lee, Y. R., Woo, K. S., Hwang, I. G., Kim, H. Y., Lee, S. H., Lee, J. S. and Jeong, H. S. 2012. Physicochemical properties and antioxidant activities of garlic (*Allium sativum* L.) with different heat and pressure treatments. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **41**, 278-282.
- Lee, S. G., Yu, M. H., Lee, S. P. and Lee, I. S. 2008. Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **37**, 269-275.



29. Lee, Y. S. Studies of *Ligularia fischeri*, *Perilla leave*, *Taraxacum platycarpum* and *Allium tuberosum* Rottler extracts on the anti-oxidative activity. M. D. Thesis, Chuncheon, Hallym University, Korea.
30. Lim, S. W. and Kim, T. H. 1997. Physiological activity of allin and ethanol extract from Korean garlic (*allium sativum* L.). *Korean J Food Sci Technol* **29**, 348-354.
31. Mukaida, N. 2000. Interleukin-8: an expanding universe beyond neutrophil chemotaxis and activation. *Intern J Hematol* **72**, 391-398.
32. Mun, S. I., Ryu, H. S., Lee, H. J. and Choi, J. S. 1994. Further screening for antioxidant activity of vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium*. *J Korean Soc Food Nutr* **23**, 466-471.
33. Pinto, J. T., Qiao, C., Xing, J., Rivlin, R. S., Protomastro, M. L., Weissler, M. L., Tao, Y., Thaler, H. and Heston, W. D. 1997. Effects of garlic thioallyl derivatives on growth, glutathione concentration, and polyamine formation of human prostate car-cinoma cells in culture. *Am J Clin Nutr* **66**, 398-405.
34. Seo, U. K., Lee, J. I., Park, J. H. and Park, Y. K. 2008. The ethylacetate extract of north *Kangwhal* (*Ostericum koreanum*) attenuates the inflammatory responses in PMA/A23187-stimulated mast cells. *Korean J Herbol* **23**, 81-89.
35. Senapati, S. K., Dey, S., Dwivedi, S. K. and Swarup, D. 2001. Effect of garlic (*Allium sativum* L.) extract on tissue lead level in rats. *J Ethnopharmacol* **76**, 229-232.
36. Shin, S. L. and Lee, C. H. 2011. Antioxidant activities of Ostrich Fern by different extraction methods and solvents. *J Life Sci* **21**, 56-61
37. Shon, Y. H., Surh, J. I., Park, I. K., Kim, H. C., Hwang, C. W., Kim, C. H. and Nam, K. S. 2005. Inhibitory effect of radish on gastric cell toxicity and interleukin-8 production induced by *Helicobacter pylori*. *J Life Sci* **15**, 595-599.
38. Shimotoyodome, A., Meguro, S., Hase, T., Tokimitsu, I. and Sakata, T. 2001. Sulfated polysaccharides, but not cellulose, increase colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Digest Dis Sci* **46**, 1482-1489.
39. Shon, Y. H., Chung, Y. S., Suh, J. I., Park, I. K. and Nam, K. S. 2006. Effect of radish on inflammatory reaction in human epithelial gastric cell. *J Life Sci* **16**, 17-21.
40. Sim, J. G., Lee, J. H., Shin, T. Y., Shin, H. Y., Jeong, S. H., Kim, M. H., Ku, H. J. and Park, J. H. 2010. Anti-inflammatory effects of vegetable soup in murine macrophage raw 264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **39**, 1097-1101.
41. Wedemeyer, J., Tsai, M. and Galli, S. J. 2000. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Curr Opin Immunol* **12**, 624-631.
42. Yim, H. B., Lee, G. and Chae, H. J. 2004. Cytotoxicity of ethanol extract of *Raphanus sativus* on human lung cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 287-290.

#### 초록 : 비빔밥 재료의 항염증 및 항산화 효과

고유진<sup>1</sup> · 설희경<sup>1</sup> · 이경란<sup>1</sup> · 정계임<sup>2</sup> · 류충호<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부(BK 21 프로그램) · 농업생명과학연구원, <sup>2</sup>일신요리전문학원)

본 연구에서는 우리나라 전통 음식인 비빔밥의 우수성을 검증하고자 비빔밥에 들어가는 재료인 애호박, 도라지, 숙주, 속대기, 부추, 고사리의 조리 전과 후의 항염증 및 항산화 효과를 조사하였다. 인간유래 비만세포인 HMC-1 (human mast cell)에 70% ethanol로 추출한 조리 전, 후의 다양한 비빔밥 재료의 추출물을 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, PMA와 A23187로 자극하여 염증반응을 유도하였다. MTT 분석에 의한 세포 생존율 결과, 모든 구에서 82% 이상의 세포 생존율을 보여 조리 전, 후의 비빔밥 재료 추출물에 의한 세포 독성은 나타나지 않았다. HMC-1 비빔밥 재료의 추출물을 0.01, 0.1, 1.0 mg/ml의 농도로 처리한 후, 자극제로 염증반응을 유도하였을 때 그 효과를 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8의 분비량으로 알아보았다. 전체적으로 cytokine의 분비가 감소하였는데, 특히 1.0 mg/ml 농도에서 조리 후의 부추 추출물이 TNF- $\alpha$ , IL-6 분비량을 각각 90%, 93% 저해하였고, 무 추출물은 IL-8 분비량을 85% 저해하여 다양한 비빔밥 재료 중 가장 높은 저해율을 나타냈다. DPPH 분석에 의한 항산화 활성 결과, 조리 전, 후의 부추 추출물에서 각각 67.50%, 73.65%로 재료 중 가장 높았으며 전반적으로, 조리함으로써 항산화 활성이 향상되었다. 결론적으로 조리 전보다 조리 후의 재료에서 세 가지의 cytokine을 유의성 있게 억제하였고, 항산화 활성 또한 높게 나타나 비빔밥의 우수성을 검증하는 기초자료로 활용이 가능하다고 사료된다.