

콩나물 당 침지액의 항산화 효능 및 알코올 분해 효소 활성 연구

김경미 · 정현정 · 성혜미 · 위지향 · 김태용¹ · 김기명^{2,*}
(재)전남생물산업진흥원 식품산업연구원, ¹이조은산소(주), ²호남대학교 식품영양학과

Study of the Antioxidant and Alcohol-degrading Enzyme Activities of Soybean Sprout Sugar Solutions

Kyoung Mi Kim, Hyun Jung Jung, Hea Mi Sung, Ji-Hyang Wee, Tae Yong Kim¹, and Ki Myong Kim^{2,*}

Department of Research and Development, Food Research Institute, Jeonnam Bioindustry Foundation

¹eJoeunSanso, Co., Ltd.

²Department of Food and Nutrition, Honam University

Abstract The antioxidant and alcohol-degrading enzyme activities of soybean sprout sugar solutions (oligosaccharide and sucrose, 50°Bx) were characterized under different soaking conditions. The ratio of sugar solution to sprout content was 25%, 50%, and 75% (w/w), and the soaking times studied were 1, 3, 6, 12, and 24 h. Higher 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity was detected in case of the oligosaccharide solution, compared to the sucrose solution. A similar tendency was observed for alcohol-degrading enzyme activity. When the ratio of sugar solution to sprout content was 50% (w/w), the total phenol and flavonoid contents were found to be higher, compared to those observed at 20% (w/w). However, we did not observe a significant difference between 50% and 75% (w/w). Soaking time did not significantly affect the antioxidant and alcohol-degrading enzyme activities of the solutions. As a result, when oligosaccharide solution was used for soaking soy sprouts at a ratio of >50% (w/w), higher antioxidant and alcohol-degrading enzyme activities were observed.

Keywords: soybean sprout, antioxidant activity, alcohol-degrading enzyme activity

서 론

알코올은 영양이나 건강적인 측면보다는 스트레스 해소나 사교 등을 목적으로 오랫동안 애용되어온 기호품으로 소량을 섭취하면 기분전환을 위해서도 좋고 혈액순환에도 도움이 되어 건강에 유익할 수 있으나, 많은 양을 섭취할 경우 급성 알코올 중독으로 인한 메스꺼움, 구토, 현기증, 갈증, 무기력, 두통, 근육통 등의 증상은 업무능률 저하로 인한 사회 경제적 손해를 초래하고 있으며, 만성적인 알코올 섭취 시에는 체지방, 심근경색, 신경장애, 결핵 등의 장애가 나타나고, 영양 불량이 초래되기 쉬우므로 알코올에 의한 독성효과가 더 심하게 나타나고 심하면 간조직의 구조 및 기능에 치명적인 손상을 가져오게 된다(1-4). 알코올은 섭취 시 체내에 흡수되어 전신에 고루 분포되며, 대부분은 간에서 alcohol dehydrogenase (ADH), acetaldehyde dehydrogenase (ALDH), endoplasmic reticulum내의 알코올 산화계(microsomal ethanol oxidizing system, MEOS), catalase 및 peroxidase 등의 특정한 효소들에 의해서 대사되고 흡수된 알코올의 10% 미만은 대사되지 않은 채 신장이나 폐를 통하여 배설된다. 체내의

다른 장기에 비하여 알코올이 간에 미치는 영향은 매우 크기 때문에 알코올성 간 손상을 억제 하고 간의 기능을 회복시켜주는 기능성 소재의 연구개발이 필요하다.

알코올은 체내에 흡수된 후 인체에 해를 주는 acetaldehyde가 되어 체내에 축적됨으로써 숙취 증상을 나타내는데 콩나물에 다량으로 함유되어 있는 aspartate의 전구체인 asparagine은 체내에서 aspartate-malate shuttle에서 NAD⁺를 생성하여 알코올 탈수소 효소의 합성을 촉진시켜 숙취에 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다(5). Asparagine이 인체에 흡수되면 aspartate-malate shuttle에서 NAD⁺를 생성하여 알코올과 acetaldehyde를 분해한다고 하였다. 이런 기능과 무관하지 않게 콩나물국은 전통적으로 숙취해소법 중의 하나로 알려져 있다. 또한 콩나물은 담백하고 시원한 독특한 맛을 갖고 가격이 저렴하고 구하기 쉽기 때문에 한국인 다소비 부식 7위, 채소류 3위에 이를 정도로 많이 상용되는 식품재료이다. 콩나물은 콩에는 함유되어 있지 않은 비타민 C, 비타민 B₂가 발아에 의해 생성되며(6,7), 향이 개선되고 소화율이 증진되며 장내의 가스발생인자, 항영양인자 및 트립신 저해제의 활성이 억제될 뿐만 아니라 무기성분과 결합하는 phytic acid가 감소되어 무기질의 이용이 증가한다고 알려져 있다(8). 이와 같이 콩나물은 양질의 단백질 및 비타민류, 무기질의 공급원이며 저열량, 저포화지방산, 무콜레스테롤, 고식이섬유 식품 재료로 가정에서 쉽게 재배, 식용되어 온 우리나라 고유의 전통 식품이지만 콩나물을 가열처리하여 추출할 경우 콩나물 특유의 비린 향미와 맛으로 인해 기호성이 떨어져 가공식품 원료로서의 가치가 떨어진다.

*Corresponding author: Ki Myong Kim, Department of Food and Nutrition, Honam University, Gwangju 506-714, Korea
Tel.: 82-62-940-5421
Fax: 82-63-940-5005
Email: kimhusker@honam.ac.kr
Received May 3, 2014; revised August 12, 2014;
accepted August 12, 2014

설탕은 쉽게 에너지원으로 사용되어 숙취해소에 효과적이라고 알려져 있으며, 최근 식품 소재의 다양화와 생물공학 기술의 급속한 발전으로 기존의 당류를 대체하는 새로운 당질의 개발이 활발해지고 있다. 이들 새로운 당질 중에서 기존 당류와 비슷한 물성을 가지면서 기존 당류를 다량 섭취하였을 때 생기는 비만, 충치, 당뇨병 등의 문제점을 보완할 수 있는 올리고당이 개발되었다(9). 올리고당은 종류에 따라 조금씩 차이가 있으나 비피더스균의 생육인자, 혈중 콜레스테롤 개선, 저충치성, 면역력 강화 등 다양한 생리특성을 갖는 저열량 감미료이다(10-12).

삼투압처리는 과일과 채소 등의 고상식품을 높은 삼투압의 당과 염 용액에 침지하여 농축하는 유용한 기술로서 이 때 식품과 용액 사이에 삼투압 효과로 인하여 용질의 확산, 용액 속으로의 수분 이동, 식품으로부터 용질 용출 등이 일어나게 된다(13).

방울 토마토의 삼투건조에 관한 연구(14), 삼투 건조 시 물질 이동 특성에 관한 연구(15,16) 등 기존 연구에서는 당을 이용한 삼투처리 시 과채류의 조직변화를 유도하고 저장성을 증가시키는 등 물리적 변화와 관능에 대한 연구가 많고 침지하는 당의 종류 및 침지시간, 침지 농도에 따른 기능성 효능 변화에 관한 연구는 미진한 실정이다. 콩나물의 경우 콩나물을 착즙하거나 열수 또는 알코올을 이용한 추출물의 기능성에 대한 연구가 많고(17-20) 당 침지에 관한 연구는 없어 본 연구에서는 기존 추출방법과 달리 당침지를 통한 삼투효과에 따라 콩나물의 기능성에 어떤 변화가 있는지 알아보고자 하였다. 따라서 본 연구에서는 설탕 대체제로 각광받는 올리고당 침지방법을 설탕의 침지와 비교하여 항산화적 기능성에 관련이 있는 추출물의 양적 변화와 숙취해소에 미치는 효과를 살펴보고자 하며, 숙취해소 효과를 높일 수 있는 최적의 당침지 조건을 설정하여 콩나물 당침 용액을 이용한 숙취해소 음료소재로 활용성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 콩나물은 재래품종인 준저리콩으로 농업회사법인 이조은산소(주)(Gwangju, Korea)에서 7일 재배하여 5-6 cm 자란 것을 원료로 사용하였다. 설탕은 백설하얀설탕(CJ Cheil Chedang, Seoul, Korea)을 정제수에 녹여 사용하였고, 올리고당은 이소말토올리고당(Deasang, Gunsan, Korea)을 사용하였다.

콩나물 당침 용액 제조

이조은산소(주)에서 재배한 콩나물을 수세하여 마른 수건으로 물기를 제거한 후 믹서(SMX-4000DY, Shin-il, Seoul, Korea)로 실온에서 3분 동안 균일하게 갈아 시험 재료로 사용하였다. 균일하게 갈아 콩나물을 100 g씩 입병하고, 정제수를 이용하여 50°Bx로 제조한 설탕 및 올리고당 용액을 콩나물 중량 대비 25, 50, 75%(w/w)의 비율로 첨가하여 밀봉한 뒤 25°C에서 각 1, 3, 6, 12, 24시간 당침 및 숙성하였다. 당침한 콩나물을 살균된 거즈로 여과한 후 얻어진 여과액을 콩나물 당침 용액으로 사용하였다. 당침 용액과 비교하기 위한 대조군으로서 당을 사용하지 않고 동량의 콩나물을 분쇄하여 여과한 것을 대조군으로 사용하였다. 콩나물 당침 용액의 Brix는 각 시료액 1 g을 취하여 25°C에서 당도계(Brix 0 to 32, 28 to 62%, Master refractometer, ATAGO, Tokyo, Japan)를 이용하여 각 3회 반복 측정된 수치의 평균값을 나타내었다. 콩나물 당침 용액의 수율은 콩나물 100 g 당 콩나물에 당을 혼합하여 침지한 액을 여과하여 얻어진 용액의 무게를 측정하여 표기하였다.

총페놀 함량 측정

총페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 비색법(21)을 이용하였다. 당침용액을 8,000×g에서 5분간 원심분리 후 상등액을 취해 시료로 사용하였다. 시료(100 μL)에 정제수 900 μL를 혼합한 희석액 1 mL에 Folin-ciocalteu reagent (Fluka, Buchs, Switzerland)를 100 μL를 가하고 5분간 방치한 다음 7% (w/v) Na₂CO₃ 용액을 1 mL 첨가 후 정제수 400 μL를 첨가해 잘 혼합한 후 90분간 실온에 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 총 페놀 함량은 chlorogenic acid (0-500 μg/mL; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 분석시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였으며 시료 g 당 mg chlorogenic acid equivalent로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

총플라보노이드 함량 측정은 Moreno 등(22)의 방법을 변형하여 사용하였다. 당침용액 1 mL에 정제수 4 mL를 넣은 후 5% (w/v) NaNO₂ 0.3 mL를 첨가하고 상온에서 5분간 반응시킨 후 10% (w/v) AlCl₃ 0.3 mL를 첨가하여 균일화 시킨 후 6분간 반응시켰다. 1 N NaOH 2 mL씩을 첨가한 후 정제수 2.4 mL씩을 추가해 잘 혼합한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin (0-500 μg/mL; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 분석시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 플라보노이드 함량을 산출하였다.

DPPH radical 소거능 측정

당침 용액에 대한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 전자 소거능은 Blois(23)의 방법을 변형하여 사용하였다. 농도별로 제조한 당침 용액 10 μL에 0.2 mM DPPH reagent 190 μL를 혼합하여 암실에서 30분간 반응을 유도한 후 517 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 소거능을 비교하기 위한 양성대조군은 ascorbic acid를 사용하였다. 전자공여능(%)은 (1-As/Ac)×100으로 나타내었고, As와 Ac에 실험군과 대조군의 흡광도 값을 각각 대입하여 계산하였다.

세포내 산화적 스트레스 억제 효과

본 실험에 사용된 인간 간암 세포인 HepG2는 American type culture collection (Manassas, VA, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다. 세포 배양은 MEM (10% FBS와 100 Units/mL penicillin 첨가)배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂, 95% humid air의 조건 하에서 배양하였다. HepG2 세포에 대한 각 농도별, 시간별 당침 용액의 세포 독성은 XTT assay로 측정하였다. HepG2 세포는 5×10⁴ cells/24-well로 분주하여 20시간 동안 배양한 후, 콩나물 당침용액을 0-3,000 μg/mL 농도로 처리 하였다. 그리고 배지를 제거 및 PBS로 세척하고 XTT-phenazine methosulfate (PMS) 용액 (1 mg XTT-10 μg PMS/mL) 250 μL를 첨가하여 37°C에서 2시간 배양한 다음 생성된 formazan을 macroplate reader를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 산화적 스트레스 억제효과를 확인하기 위하여 HepG2 세포에 활성산소의 일종인 H₂O₂를 처리하여 산화적 손상을 일으킨 후 산화적 스트레스 억제효과는 XTT assay로 측정하였다. HepG2 세포는 5×10⁴ cells/24-well로 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 배지를 제거하고 phosphate-buffered saline (PBS)로 2회 세척한 다음 콩나물 당침용액(2,000 μg/mL) 1 mL을 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. 산화적 스트레스를 일으키기 위하여 0.3 mM H₂O₂를 처리한 후, 24시간 동안 배양한 후 XTT-

Table 1. Yield (%) of soybean sprout soaking solutions under various extracting conditions

Sugar	Sugar added ratio	Soaking time (h)				
		1	3	6	12	24
Oligosaccharide	25%	76.0±0.01 ^(c1)	77.0±0.01 ^a	76.5±0.01 ^b	76.5±0.01 ^b	76.0±0.01 ^c
	50%	64.0±0.01 ^c	70.5±0.01 ^b	63.4±0.01 ^d	63.5±0.01 ^d	72.2±0.01 ^a
	75%	66.1±0.01 ^a	66.0±0.01 ^a	60.9±0.01 ^c	56.7±0.01 ^d	61.1±0.01 ^b
Sucrose	25%	77.5±0.01 ^c	79.0±0.01 ^c	78.0±0.01 ^d	79.5±0.01 ^b	80.5±0.01 ^a
	50%	68.5±0.01 ^a	59.4±0.01 ^d	63.0±0.01 ^b	56.5±0.01 ^c	59.8±0.01 ^c
	75%	59.9±0.01 ^a	50.3±0.01 ^c	56.5±0.01 ^b	47.9±0.01 ^d	48.0±0.01 ^d

¹⁾Values with different letters (a-e) in a row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Extraction yield and Brix of soybean sprout sugar solutions by soaking time and sugar added ratio

	Soaking time (h)				
	1	3	6	12	24
yield (%)	68.7±0.01 ^(a1)	67.0±0.01 ^a	66.4±0.01 ^a	63.4±0.01 ^a	66.3±0.01 ^a
	Sugar added ratio (%)				
	25	50	75		
yield (%)	77.7±6.47 ^a	64.1±10.24 ^b	57.4±6.53 ^c		
Brix (°Bx)	17.7±0.88 ^a	28.5±0.61 ^b	38.6±0.46 ^c		

¹⁾Values with different letters (a-c) in a row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

PMS 용액을 넣고 37°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 세포생존율은 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하고 대조군과 비교하여 백분율(%)로 표시하였다(24).

ADH 효소 활성 측정

알코올 분해효소(alcohol dehydrogenase, ADH)의 활성 측정은 ethanol assay kit (ab65343, Abcam, MA, USA)의 procedure에 따라 Bucher과 Redetzki(25) 방법을 변형하여 측정하였다. Potassium diphosphate buffer (pH 9.0) 3 mL에 NAD 1 tablet (0.8 mg)을 녹여 20°C가 되도록 하였다. 이 혼합액 300 µL에 50 µL의 당칩용액을 가했다. 그 다음 상온에서 3분 방치 후 340 nm에서 흡광도를 측정(A1)한 후 ADH 효소를 5 µL 씩 샘플에 넣고 상온에서 10분 방치 후 340 nm에서 흡광도를 측정(A2)해 2의 값과 1의 값의 차이(Δ)를 사용해 $ADH(\%) = (\Delta_{\text{sample}} (A2-A1) / \Delta_{\text{control}} (A2-A1)) \times 100$ 로 결과 값을 계산하였다.

ALDH 효소 활성 측정

아세트알데하이드 분해 효소(aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성측정은 acetaldehyde assay kit (10668613035, Roche, Penzgerg, Germany)의 procedure에 따라 Lundquist(26) 방법을 변형하여 측정하였다. Potassium diphosphate buffer (pH 9.0) 3 mL에 NAD 1 tablet (0.8 mg)을 녹여 20°C가 되도록 하였다. 이 혼합액 300 µL에 50 µL의 콩나물 건조물을 가하여 상온에서 3분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정(A1)하였다. ALDH 효소를 5 µL 씩 샘플에 넣은 후 상온에서 5분간 방치하고 340 nm에서 흡광도를 측정(A2)한다. $ALDH(\%) = (\Delta_{\text{sample}} (A2-A1) / \Delta_{\text{control}} (A2-A1)) \times 100$ 로 결과 값을 계산하였다.

통계분석

본 실험결과는 SPSS 21.0 program (SPSS Statistics, Chicago,

IL, USA)을 이용하여 각 실험군에 대해 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 일원배치 분산분석을 한 후 $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

콩나물 당칩 용액의 수율 및 Brix

콩나물 당칩 용액의 수율은 Table 1에서 보는 바와 같다. Table 1은 당 종류, 함량, 추출 시간의 차에 따른 콩나물 당칩 용액의 수율을 나타낸 것으로, 올리고당이 설탕에 비해 추출 수율이 높아 두 개의 당 사이에 유의적 차이가 나타났다($p<0.05$). 당 농도 간에도 유의적 차이를 보였는데($p<0.05$), 당 농도가 낮을수록 콩나물 분쇄물 자체가 함유하는 수분이 상대적으로 많아 수율이 높은 것으로 보였다. 시간 및 추출 농도에 따른 수율과 Brix의 평균은 Table 2에서 보는 바와 같다. 당용액의 첨가비율이 높을수록 점도가 증가하고, 여과에서 충분히 추출액이 여과되지 않아 콩나물 100 g 당 첨가되는 당칩 용액의 비율이 증가됨에도 당 첨가비율이 25, 50, 75% 증가할수록 각각 77.7±6.47, 64.1±10.24, 57.4±6.53% 수준으로 수율이 감소되었다. 반면 추출 시간에 따른 수율은 63.4%에서 68.7% 범위에서 유의적 차이를 나타내지 않았다. 당용액을 첨가한 직후 Brix는 당 첨가 비율 25%에서는 17.70±0.88°Bx, 50%에서는 28.5±0.61°Bx, 75%에서는 38.64±0.46°Bx이며, 당 첨가 비율에 따라 유의적인 차이가 발생($p<0.05$)하였으나 추출 시간에 따른 유의적 차이는 없었다.

총페놀 함량 측정

당 첨가량에 따른 콩나물 내에 함유되어 있는 총페놀 함량을 측정된 결과(Fig. 1), 당칩을 하지 않은 대조구의 총 페놀 함량은 566.02±18.03 mg/g으로 올리고당 50°Bx를 50% (w/w) 비율로 첨가하여 추출했을 때와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 올리고

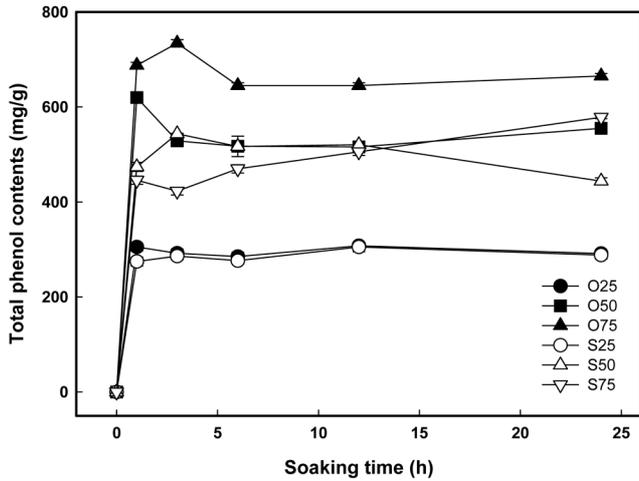


Fig. 1. Total phenol contents of soybean sprout sugar solutions. O: oligosaccharide, S: sucrose, the number after O or S indicates the sugar added ratio.

당과 설탕 50°Bx를 25% (w/w) 비율로 첨가한 시료구에는 오히려 당침을 하지 않은 시료보다도 낮은 수준으로 페놀이 추출되어 현실적으로 적합하지 못한 당침 비율이라는 것을 확인할 수 있었다. 총 페놀 함량은 올리고당으로 추출한 시료가 설탕으로 추출한 것보다 유의적으로 높았으며($p < 0.05$), 당 첨가비율이 25% 일 때 보다 50% 그리고 75%의 순으로 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 이미 올리고당과 설탕 모두 추출 3시간에 총 페놀은 급격히 추출되었으나 이후 시간에 따른 함량변화는 거의 일어나지 않았다. 이상의 결과로 총 페놀 함량은 평균적으로 1-3시간 추출했을 때 높은 값을 나타내 3시간만 추출이 총페놀 함량 증가에 적합한 것으로 판단된다. 이는 콩나물의 세포구조가 매우 연약하여 올리고당이나 설탕이 침투가 용이하여 단시간에 삼투평형에 도달하는 것이라고 생각되며, Yoon 등(14)이 방울토마토에 설탕을 이용해 삼투 건조하였을 때 건조 초기에는 빠른 속도로 삼투가 일어나지만 일정 시간이 지나도 큰 변화가 없다고 보고한 내용과 유사한 결과이다.

총 플라보노이드 함량 측정

당 종류, 농도 및 추출시간에 따른 콩나물 내에 함유되어 있는 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과(Fig. 2), 총 플라보노이드 함량도 총 페놀 함량과 유사하게 설탕보다 올리고당으로 당침 추출했을 때 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 대조구의 총 플라보노이드 함량은 287.40 ± 3.27 mg/g으로 올리고당 50°Bx를 25% (w/w) 비율로 첨가했을 때 대조구보다 플라보노이드 함량이 높지 않았으며 시간의 경과에 따라 총 플라보노이드 함량의 증가 폭도 낮았다. 설탕 50°Bx를 25% (w/w) 비율로 첨가했을 때는 모든 침지시간에서 당침을 하지 않은 대조구보다 플라보노이드 함량이 높지 않았다. 그러나 올리고당과 설탕 모두 당 첨가비율이 50% 이상에서 플라보노이드 함량이 증가되었고 추출시간이 1-3시간 일 때의 플라보노이드 함량이 높은 것으로 확인되었다. 결과적으로 올리고당과 설탕의 당 첨가비율을 50% 이상으로 하여 짧은 시간으로 추출하는 것이 콩나물의 총 플라보노이드 추출을 위한 최적의 추출 조건으로 판단되었다.

DPPH radical 소거능

당 종류별, 농도별, 시간별 추출 용액의 DPPH radical 소거능

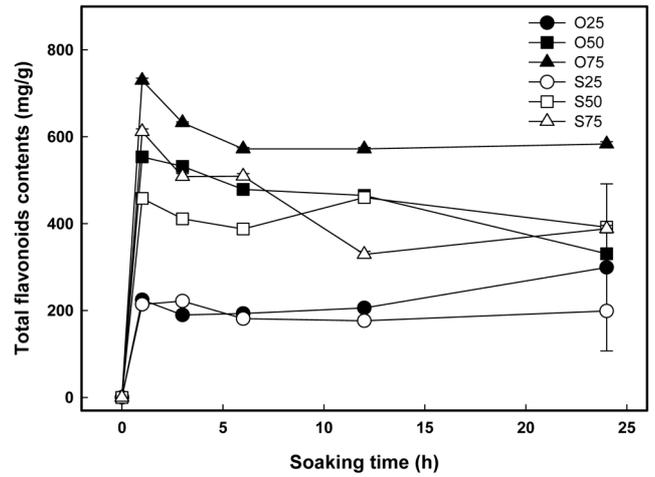


Fig. 2. Total flavonoids contents of soybean sprout sugar solutions. O: oligosaccharide, S: sucrose, the number after O or S indicates the sugar added ratio.

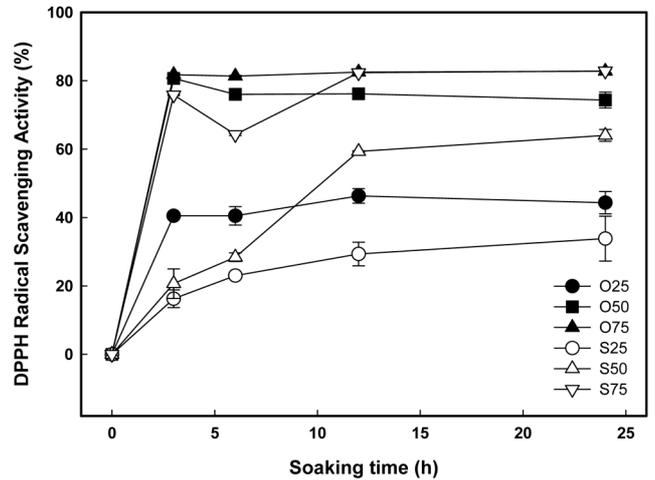


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity in soybean sprout sugar solutions. O: oligosaccharide, S: sucrose, the number after O or S indicates the sugar added ratio.

을 측정된 결과(Fig. 3), 당침용액으로 올리고당을 사용한 것이 설탕에 비해 DPPH radical 소거능이 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 이는 흑마늘에 프락토올리고당과 설탕을 각각 첨가하여 DPPH radical 소거능을 비교한 실험에서 프락토올리고당의 DPPH radical 소거능이 설탕에 비해 높게 나온 것과 유사한 결과이다 (27). 대조구의 DPPH radical 소거능은 $76.42 \pm 2.02\%$ 로 올리고당 50%와 75% 첨가 비율로 추출한 당침용액의 DPPH radical 소거능 수준과 거의 같은 수준이었으며, 설탕의 경우 75%로 설탕용액을 첨가한 시료 외에 모든 시료에서 대조구에 비하여 더 낮은 DPPH radical 소거능을 보였다. 그러나 모든 시료에서 당 첨가비율이 높을수록 항산화능이 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 당의 종류 및 첨가비율에 따라 소거능이 유의적으로 증가하는 모습을 보이는 것과는 달리 올리고당과 설탕 모두 침지시간을 증가시키면 따라 DPPH radical 소거능이 비례하여 증가하지는 않아, 당침을 이용한 삼투공정에 관한 대부분의 연구(15,16)에서와 마찬가지로 침지 시간보다는 침지 농도와 당의 종류에 더 영향을 받았으며 농도가 높을수록 삼투작용에 의한 콩나물 내의 유용성분 추출이 많이 이루어진 것으로 생각된다.

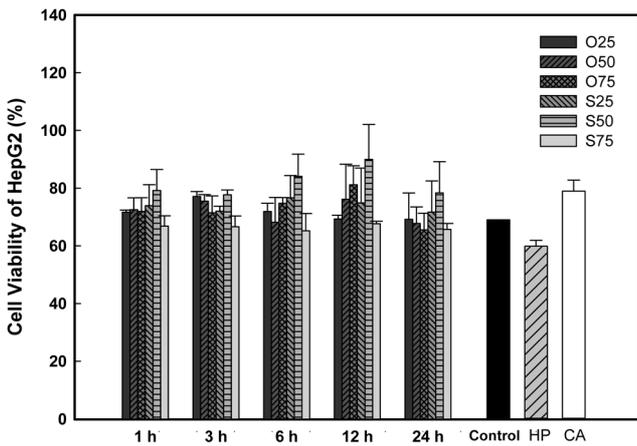


Fig. 4. Effects of soybean sprout sugar solutions on cell viability in HepG2. HP, hydrogen peroxide; CA, caffeic acid. Each bar represents the mean±SD.

세포내 산화적 스트레스 억제 효과

콩나물 당침용액의 인간 간암 세포주 HepG2에 대한 세포 독성을 알아보기 위하여 XTT assay를 실시하였다. 예비실험을 통하여 대조구와 콩나물 당침 용액은 모든 농도(0-3,000 µg/mL)에서 세포독성이 나타나지 않음을 확인하였고 본 실험에서는 세포 독성이 없는 2,000 µg/mL의 농도를 사용하여 실험하였다. 본 연구에서는 인간의 간세포인 HepG2 cell에 각각의 시료를 처리한 후 과산화수소를 처리하여 유발된 산화적 스트레스에 대하여 세포 사멸에 미치는 영향을 확인하였다. 체내로 흡수된 알코올은 혈액을 통해 주로 간으로 이동되고, 간의 microsome인 MEOS (microsomal ethanol oxidizing system)에서 산화되어 아세트알데히드를 거쳐 초산으로 전환된 후 산화되어 에너지를 생산하거나 지방산이나 다른 대사산물로 전환되기도 한다(28). 알코올에 의한 간조직의 항산화력 저하는 지질과산화뿐 아니라 단백질의 산화적 손상을 증대시켜 알코올성 손상의 원인이라고 보고된 바 있다. 또한 알코올 섭취는 유도하는 CYP2E1 경로의 산화 과정에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 항산화 기전 감소는 알코올성 간 손상의 주요 원인으로 주목 받고 있다(29).

각 시료의 산화적 스트레스에 대한 세포 사멸을 확인 한 결과 (Fig. 4), caffeic acid와 대조구에 대한 유사활성은 올리고당 50%Bx 첨가비율이 25, 50%에서는 3시간, 75%에서는 12시간에 가장 높았다. 반면 설탕을 사용한 당침액은 첨가비율 25%에서 1시간, 50%에서 6시간 추출 했을 때 높은 활성을 확인할 수 있었다. 올리고당 및 설탕을 이용하여 당침 추출할 경우 당 농도가 높을수록 추출 시간이 길수록 세포내 산화적 스트레스 억제효과가 높은 농도의존적인 현상을 확인할 수 있었다. 하지만 설탕을 이용한 당침액의 경우 첨가비율이 75%일 때는 오히려 스트레스 억제 효과가 떨어져 추출에 적합하지 않은 농도라고 생각된다. 이에 대한 원인은 추후의 실험을 통하여 더 규명되어야 할 것으로 보인다. 산화적 스트레스에 대한 세포 사멸에 대한 콩나물 당침액의 활성의 결과로는 올리고당 50%Bx 용액을 25% 또는 50% 비율로 첨가하고 3시간 추출 하는 것이 세포내 생성된 과산화 생성물을 감소시켜 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는데 도움이 되는 것으로 확인되었다. 페놀함량이 높았던 올리고당 50%, 3시간 추출조건이 과산화수소에 의한 산화적 스트레스에 대한 세포 생존률도 높은 결과를 보이는데, 이는 Lee 등(30)이 효소처리

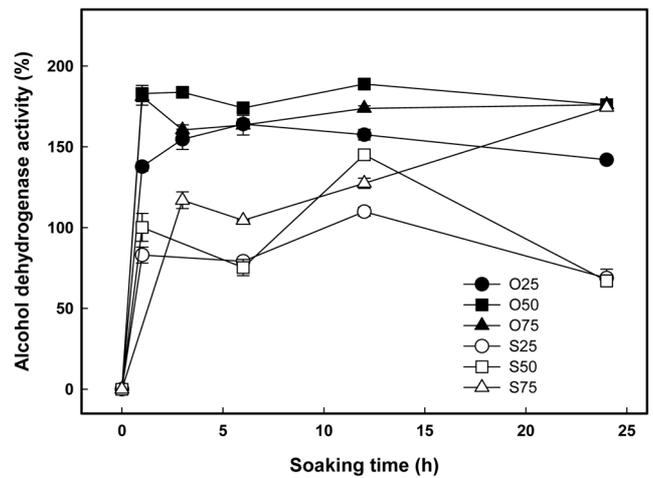


Fig. 5. Alcohol dehydrogenase activity of soybean sprout sugar solution. O: oligosaccharide, S: sucrose, the number after O or S indicates the sugar added ratio.

하여 추출한 감태추출물에서 페놀함량이 증가하였고, 페놀함량의 증가에 따라 H₂O₂에 의한 산화적 스트레스에 대한 세포 생존률이 증가되었다고 보고한 내용과 유사한 결과이다.

ADH 및 ALDH 효소 활성도

체내 알코올 대사에 1차적으로 관여하는 ADH 효소 활성 평가 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 2종의 당(올리고당, 설탕) 모두 당 농도에 의한 활성의 차이는 25%와 50%에서만 유의적인 차이가 발생하였고($p < 0.05$), 50%와 75%에서는 차이가 나타나지 않았다. 하지만, 당 종류에 의한 활성의 차이에 있어서는 세포내 산화적 스트레스 억제효과와 마찬가지로 대조구(ADH 효소 활성; 157.19±4.12%)나 설탕으로 당침한 용액보다 올리고당으로 당침한 용액의 ADH 효소 활성이 더 높은 것을 확인할 수 있었다. 설탕은 첨가비율 25%와 50%로 처리한 구에서 모든 침지시간에서 대조구보다 ADH 효소 활성이 낮았고, 75% 첨가비율 24시간 침지한 경우에만 대조구보다 높은 활성을 보였다. 하지만 올리고당은 첨가비율 50%와 75%에서의 ADH 효소 활성이 대조구에 비해 모든 침지 시간에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 추출시간에 있어서는 시간이 증가함에 따라 ADH 효소 활성이 일정한 증가추세를 보이지는 않으나 항산화능 실험 결과 및 세포내 산화적 스트레스 억제 효과와 마찬가지로 평균 3시간 내로 추출 했을 때 효과적인 결과를 보였다.

숙취의 주 원인물질인 acetaldehyde는 체내에서 흡수된 알코올이 분해 시 생성되는 대사산물로서 콩나물 당침용액이 단순히 ADH만 활성화 시키면 혈중 알코올 농도는 빠르게 감소시킬 수 있으나 간이나 혈액에 남아 있을 수 있는 acetaldehyde는 계속 축적되어 심한 숙취를 일으킬 가능성이 있다. 따라서 콩나물 당침용액이 acetaldehyde 분해에 직접적인 영향을 미치는 효소인 ALDH의 활성에 미치는 영향을 분석하였다.

콩나물 당침용액이 ALDH 효소 활성에 미치는 효과는 Fig. 6에 나타낸 바와 같이 올리고당 첨가비율 50% 이상에서 일부 침지시간을 제외한 모든 구간에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. 그러나 ALDH 효소활성은 ADH와는 달리 올리고당과 설탕 간의 활성 차이는 나타나지 않고 당의 첨가비율에 따른 유의차만 발생하였다. 설탕 당액의 첨가비율을 비교하였을 때 25%와 50% 이상 첨가비율은 상호 유의적 차이가 발생하

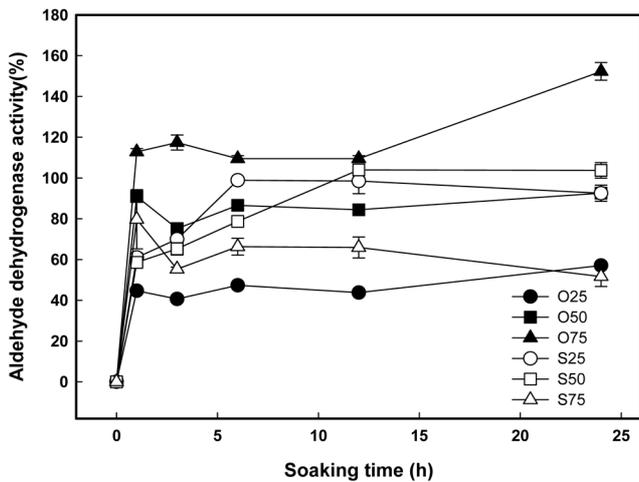


Fig. 6. Aldehyde dehydrogenase activity of soybean sprout sugar solution. O: oligosaccharide, S: sucrose, the number after O or S indicates the sugar added ratio.

였다($p < 0.05$). 대부분 추출 시간에 따라 ALDH 효소 활성도가 비례적으로 증가되지 않았으며, 추출 1시간 때 이미 높은 효소 활성을 나타내었다. ADH와 ALDH 효소 활성도 앞서 확인한 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 및 DPPH radical 소거능 평가에서와 마찬가지로 당 침지 시간보다는 당의 종류와 첨가한 당의 농도가 더 크게 영향을 주고 있음을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 올리고당 첨가비율 50% 이상에서 1-3시간 정도 침지할 경우 ADH 활성을 증가시켜 알코올 분해를 촉진 시킬 뿐만 아니라 ALDH의 활성을 증진시킴으로써 알코올 분해 결과 생성되는 acetaldehyde의 분해 또한 촉진시키는 것으로 생각된다.

요 약

콩나물은 숙취해소에 좋은 식품으로 잘 알려져 있으나 콩나물 특유의 비린 맛으로 인해 가공식품 원료로 이용하기에 어려움이 있다. 이에 숙취해소효과로 잘 알려진 설탕 및 올리고당과 같은 당을 이용하여 콩나물의 비린 맛을 없애고 섭취를 용이하게 하며 항산화 효과 증진 및 숙취해소에 긍정적인 효과를 기대하고 실험을 설계하였다. 콩나물에 설탕과 올리고당의 2종류 당액(50°Bx)을 25, 50, 75%(w/w) 비율로 첨가하여 1, 3, 6, 12, 24시간 침지하였으며, 침지한 콩나물의 여액을 여과하여 콩나물 당침용액을 샘플로 사용하였다. 세포내 산화적 스트레스 억제 효과를 제외한 모든 실험 결과에서 올리고당이 대조구나 설탕 침지보다 DPPH radical 소거능, 알코올 분해능이 좋은 것을 확인하였다. 총 페놀, 총플라보노이드 함량 및 ADH·ALDH 효소 활성 실험 결과, 당액 첨가비율 25%에 비해 50%에서 유의적으로 높은 활성을 띄었고, 50%와 75%에서는 유의적인 차이가 발생하지 않았다. 추출시간에 따른 항산화능과 알코올 분해능은 시간 증가에 따른 일정한 증가 추세를 나타내지 않았다. 추출 시간만을 고려하였을 때, DPPH radical 소거능 및 총페놀, 플라보노이드 함량과 알코올 분해능 실험에서 1-3시간 추출 시 대부분 대조구보다 높은 활성을 보였고 추출 시간이 길어질수록 오히려 활성이 떨어지는 경우가 더 많았다. 이러한 결과를 종합할 때 콩나물을 올리고당 당액(50°Bx) 50% (w/w) 비율 이상의 수준에서 단시간 침지하여 추출하는 것만으로도 항산화능과 알코올 분해능이 좋은 콩나물 추

출액을 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 본 연구를 통하여 콩나물을 이용한 숙취해소 음료를 제조하기 위하여 과량의 당액을 사용함으로써 발생할 수 있는 비윤리적인 절감의 근거를 마련할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 3G-Bio 연계사업(과제번호:R0000480)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Tuskamoto S, Muto T, Nagoya T, Shimamura M, Saito M, Tainaka H. Determination of ethanol, acetaldehyde and acetate in blood and urine during alcohol oxidation in man. *Alcohol Alcoholism* 24: 101-108 (1989)
2. Tuskamoto S, Kanegae T, Uchigasaki S, Kitazawa M, Fusjioka T, Fusjioka S, Imamura Y, Nagoya T, Shimamura M, Mieda Y. Changes in free and bound alcohol metabolites in the urine during ethanol oxidation. *JPN J. Alcohol Drug Depend.* 28: 441-452 (1993)
3. Jerez SJ, Coviello A. Alcohol drinking and blood pressure among adolescents. *Alcohol* 16: 1-5 (1998)
4. Nagaya T, Yoshida H, Takahashi H, Matsuda Y, Kawai M. Dose-response relationships between drinking and serum tests in Japanese men aged 40-59 years. *Alcohol* 17: 133-138 (1999)
5. Park SC. Effect of bean sprout extracts on metabolism and biological functions of ethanol *in vitro* and *in vivo*. *Korea Soybean Soc.* 11: 121-130 (1994)
6. Chavan JK, Kadam SS. Nutritional improvement of cereals by sprouting. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 28: 401-437 (1989)
7. Jang HK. Soybean sprouts. *The Korean society of food science and nutrition.* *Nutr. Dietetics* 9: 30-32 (1995)
8. Kim WJ, Kim NM, Sung HS. Effect of germination on phytic acid and soluble minerals in soymilk. *Korean J. Food Sci. Technol.* 16: 358-362 (1984)
9. Hidaka H, Eida T, Saitoh Y. Industrial production of fructo-oligosaccharides and its application for human and animals. *Nippon Nogeik. Kaishi* 61: 915-923 (1987)
10. Heo KT. Physiological effects of oligosaccharides. *Food Sci. Industry* 28: 24-28 (1995)
11. Ishibash N and Shimamura, S. Bifidobacteria-research and development in Japan. *Food Tech.* 35: 126-134 (1993)
12. Hitaka H. Functions of fructooligosaccharides. *Food Sci.* 36: 25-28 (1983)
13. Lazarides HN, Katsanidis E, Nicoklaidis A. Mass transfer kinetics during osmotic pre-concentration aiming at minimal solid uptake. *J. Food Eng.* 25: 151-166 (1995)
14. Yoon KY, Yoon KS, Lee KH, Shin SR, Kim KS. Changes of quality in the osmotic dehydration of cherry-tomatoes and optimization for the process. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26(5): 866-871 (1997)
15. Na KM, Hong JH, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Lee WY. Optimization of osmotic dehydration process for manufacturing a dried sweet pumpkin. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33(2): 433-438 (2004)
16. Kim MH. Mass transfer and optimum processing condition for osmotic concentration of potatoes prior to air dehydration (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 497-502 (1990)
17. Park GH, Back IY. Effect of ozone water on germination and growth of soybean sprout. *Korean Soybean Digest.* 17: 20-26 (2000)
18. Kim EJ, Lee KI, Park KY. The growth inhibition against gastric cancer cell in germanium or soybean sprouts cultured with germanium. *Korean J. Food Cook. Sci.* 20: 287-291 (2004)
19. Kim HY. Development of alpha soybean sprout by chlorella culture fluid. *Korean Soybean Digest.* 20: 63-70 (2003)
20. Kang JH, Park CJ, Yoon SY, Jeon SH, Hong DO. Lateral root

- formation and growth of soybean sprouts treated with various solutions. Korea J. Medicinal Crop Sci. 13: 6-10 (2005)
21. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 299: 152-178 (1999)
 22. Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentiniana. J. Entheropharmacol. 71: 109-114 (2000)
 23. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
 24. Kim OK, Ho JN, Nam DE, Jun WJ, Hwang KT, Kang JE, Chae OS, Lee JM. Hepatoprotective effect of curdrania tricuspidata extracts against oxidative damage. J. Korean Soc. Food Sci. 41(1): 7-13 (2012)
 25. Bucher T, Redetzki H. Specific photometric determination of ethyl alcohol based on an enzymatic reaction. Klin. Wochenschr. 29: 615-616 (1951)
 26. Lundquist F. Methods for determination of enzyme activity. Vol. II, pp. 1509-1513 In: Methods of Enzymatic Analysis. Bergmeyer HU. Academic Press, New York, USA (1974)
 27. Kim MH, Kim SM, Kim MR. Quality characteristics and antioxidant activities and of black garlic jam prepared with fructooligosaccharide. J. East Asian Soc. Dietary Life 20(6): 916-922 (2010)
 28. Noh KH, Jang JH, Kim JJ, Shin JH, Kim DK, Song YS. Effect of dandelion juice supplementation on alcohol-induced oxidative stress and hangover in healthy male college students. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 38(6): 683-693 (2009)
 29. Caro AA, Cederbaum AI. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 44: 27-42 (2004)
 30. Lee KT, Sohn IC, Kong EA, Kim DH, Choi SK, Choi JW, Park HJ. Antioxidative and cytoprotective effects of isoflavones isolated from *Pueraria thunbergiana* flowers. Yakhak Hoeji 43: 736-742. (1999)