

전자레인지 조리에 의한 적양배추의 항산화력 및 대장암세포 증식억제

권태은·정하숙[†]

덕성여자대학교 식품영양학과

Comparison of Antioxidant and Anti-colon Cancer Activities of Red Cabbage (*Brassica oleracea*) by Microwave Cooking

Tae-Eun Guon · Ha Sook Chung[†]

Department of Foods and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract

The present study was performed to investigate antioxidant and anti-colon cancer activities of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC) according to the cooking conditions (raw, microwave, blanching and steaming). The contents of red cabbage extracts were determined as follow: total phenolic contents, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azino-bis-(3-ethy lbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, western blot analysis. The total contents of polyphenol and flavonoid of red cabbage were 20.27 mg GAE/g Dry weight \pm 0.03 and 2.55 \pm 0.02 mg RE/g Dry weight. In this study, the total contents of polyphenol were decreased to both microwave and steam cooking. Total antioxidant activity and growth inhibition of HCT116 human colon cancer cells were in the order of raw > microwaving > steaming cooking methods. These results indicate that red cabbage extracts might have antioxidant and anti-proliferative activity according to the cooking conditions.

Key words: red cabbage, microwave cooking, antioxidant, anti-proliferative, HCT116 colon cancer cells

I. 서론

적양배추(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC)는 십자화과(Brassicaceae)에 속하는 붉은꽃 양배추로 루비볼이라고 부르며(Panagiotis A 등 2008), 흰색 양배추보다 과당, 라이신, 비타민, 셀레늄 등이 풍부하며(Plumb GW 등 1997), 노화 억제(Heo HJ와 Lee CY 2006), 콜레스테롤 감소(Komatsu W 등 1998), 항균 활성(Lee SM 등 1997, Cha BC 등 1998), 심장과 간 보호작용(Sankhari JM 등 2011), 당뇨 쥐의 혈당 조절기능 회복(Kataya HAH와 Hamza AA 2008), MDA-MB-231 세포사멸 증가(Nam MK와 Kang KJ 2013) 등의 효과가 있다고 보고되었다.

또한 색소 성분인 anthocyanin은 flavonoids의 일종으로, 꽃, 과실, 채소, 곡류 등에 주로 함유된 색소(Jack S 1998, He J와 Giusti MM 2010)로, 라디칼 소거, 항암 및 항염증 활성이 우수한 것으로 알려져 있다(Zhu C 등 2000).

식품의 조리방법은 고유의 음식문화와 함께 소멸되거

나, 새로 생기는 등 많은 변화를 겪어왔으며, 조리는 최적의 방법을 이용하여 음식을 만드는 과정이다(Chae YC 2000). 특히 채소는 특유의 색과 풍미 이외에도 비타민, 무기질, 식이 섬유소를 포함하고 있어 현대인들의 올바른 식습관과 밀접한 관계가 있어 기능성이 강화된 채소에 관한 관심이 증대되고 있으나, 조리과정에서 비타민 등 일부 영양소의 손실이 일어나므로 적절한 조리방법이 제시되고 있다. 즉, 전자레인지(microwave oven)를 이용하여 조리하는 경우, 다양한 인자, 즉, 채소의 종류, 조리량, 재료의 위치, 전자파 이동 경로, 기하학적 요인 및 전자파 강도 등에 의해 영향을 받으며, 전자레인지 조리가 영양소 손실을 최소화한다고 보고된 바 있다(Ramesh MN 등 2002). 찜(steaming)은 지속적으로 끓는 물의 수증기를 활용한 조리법으로 식품재료가 직접적으로 물에 닿지 않아 영양소 손실을 방지할 수 있으며, 특히 항산화력이 강한 페놀 화합물을 보존하기 위해 효과적인 조리방법으로 보고된 바 있으며(Vallejo F 등 2003), 다양한 조리법에 관한 연구가 지속되고 있다.

따라서 본 연구에서는 채소에 함유된 기능성 화합물의 손실을 감소하고, 건강효능이 우수한 최적의 조리법을 선별하기 위한 목적으로, 고유의 색과 맛으로 꾸준히 소비가 증가하고 있는 적양배추를 대상으로, 생 채소, 전자레

[†]Corresponding author: Ha Sook Chung, Department of Foods and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea
Tel:+82-2-901-8593
Fax:+82-2-901-8372
E-mail: hasook@duksung.ac.kr

인지 및 찜의 조리방법에 의한 기능성 성분 함량 및 항산화, 항암 활성을 분석하고 변화를 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 적양배추(*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC)는 2014년 4월, 서귀포시 대정읍 무릉리로부터 무농약 재배 농산물 인증(제18-6-21호)을 받은 생 채소를 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)는 Sigma사(Sigma Chemical. Co., St. Louis, MO, USA)의 특급시약을 사용하였다.

2. 조리 및 추출물 제조

적양배추를 깨끗이 씻어 물기를 뺀 후, 500 g씩 취하여 생 채소, 전자레인지 및 찜 조리 재료로 구분한 후, 조리 전 신선한 상태의 적양배추를 실험 대조군으로 사용하였다. 예비 실험에서 적양배추의 보라색이 변화하지 않은 시간을 설정하여 찜 조리는 찜 전용 냄비(VC102670, Tefal, Seoul, Korea)에서 출력을 900 W로 3, 5, 10분간 조리한 후 사용하였고, 전자레인지 조리는 microwave oven(MW272LC, Samsung, Seoul, Korea)에서 출력을 700 W로 각각 3, 5, 10분간 조리한 후, 식혀서 -20°C에서 냉동보관한 후, 실험 시 냉동시킨 시료가 이장 방지를 위하여 70°C dry oven(MOV-112, Sanyo, Osaka, Japan)에서 건조시킨 후 분쇄하였다. 분쇄된 건조 시료 10 g에 중량대비 10배의 70% ethanol을 첨가하고 실온에서 72시간 동안 침지한 후 추출하여 여과지(Whatman No. 1, Whatman International Ltd, Maidstone, UK)로 여과한 뒤, 60°C 농축기(N-1000S-W, Eyela, Tokyo, Japan)에서 농축하여 수율[(Dried extract weight/fresh weight)×100]로 계산하여 Table 1에 나타내었다. 건조된 시료는 -20°C 이하로 냉동보관 하면서 실험에 사용하였다.

3. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 화합물 함량은 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법(Florence CRF 등 1992)을 이용하여 측정하였다. 10 mg/mL 농도로 methanol에 용해시킨 시료 50 µL와 folin-ciocalteu's phenol reagent(Sigma, Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 50 µL를 첨가하여 혼합한 후 3분간 실온에서 반응시킨 뒤, 10% sodium carbonate(Na₂CO₃) 용액 150 µL를 가하여 암실에서 1시간 동안 방치하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였

Table 1. Extraction yield of 70% ethanol extract from Red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC) samples according to cooking process

Sample	Cooking process	Fresh sample (g)	Dried extract weight (g)	Extraction yield (%) ¹⁾
Red cabbage	Uncooked		17.16	3.43
	Microwave for 3 min		16.87	3.37
	Microwave for 5 min		16.62	3.32
	Microwave for 10 min		16.00	3.20
	Steam for 3 min	500	16.73	3.34
	Steam for 5 min		16.52	3.30
	Steam for 10 min		16.00	3.20

¹⁾ Ratio (%) = (Dried extract weight/fresh weight) × 100

다. Gallic acid(Sigma, Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 검량선을 작성하였고 총 페놀 함량은 건조 시료 중량 당 mg gallic acid equivalent(GAE/g dry weight, DW)로 나타내었다.

시료 속에 함유된 총 플라보노이드 함량은 Lin JY와 Tang CY(2007)의 방법을 일부 변경하여 측정하였으며, 시료의 추출은 총 폴리페놀 함량의 전처리와 동일한 방법을 적용하였다. 추출물 100 µL에 2% AlCl₃ 100 µL를 혼합하여 15분간 방치한 후 반응액의 흡광도 값을 430 nm에서 측정하였다. 표준물질로 rutin을 이용하여 표준곡선을 작성한 후 총 플라보노이드 함량을 산출하였다.

4. 항산화력 측정

1) DPPH free radical 소거활성

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과(radical scavenging effect)를 측정하는 DPPH법(Blois MS 1958)을 활용하였다. 각각의 시료 추출물 100 µL를 가하고 실온에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader(SpectraMax, Molecular Devices, LLC, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 515 nm에서 흡광도(Optical density)를 측정하였다. 측정된 흡광도를 아래의 식에 대입하여 라디칼 소거활성을 계산하고 추출물을 첨가하지 않은 실험 대조군 값 보다 50%의 활성을 보이는 추출물의 농도(half maximal effective concentration, EC₅₀, mg/mL)로 표시하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = (1 - [A - B/C - D]) \times 100$$

A: sample + 시약, B: sample, C: blank + 시약, D: blank

2) ABTS 라디칼 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성은 Fellegrini N 등(1999)의 방법

으로 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS와 2.45 mM K₂S₂O₈을 섞어 어두운 곳에서 16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol로 희석하여 734 nm에서 ELISA reader(Molecular Devices)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군의 흡광도 값이 0.7±0.002가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 측정된 흡광도를 아래의 식에 대입하여 라디칼 소거활성을 계산하고 추출물을 첨가하지 않은 대조군 값보다 50%의 활성을 보이는 추출물의 농도(EC₅₀, mg/mL)로 표시하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = (1 - [A - B/C - D]) \times 100$$

A: sample + 시약, B: sample, C: blank + 시약, D: blank

5. 세포배양 및 세포증식 실험(MTT assay)

인체 대장암 세포주인 HCT116 세포는 Korea Cell Line Bank(Seoul, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 분주 받은 세포주를 10% heat-inactivated FBS와 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 RPMI-1640 배지를 사용하여 5% CO₂를 함유한 37°C 배양기(MCO-15AC, Sanyo Electric Co., Ltd, Osaka, Japan)에서 키우고, 2주 이상 계대 배양하여 배양 환경에 충분히 적응시킨 후 세포밀도가 70~80% 정도로 포화되면 0.05% Trypsin-EDTA 용액을 사용하여 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

HCT116 인체 대장암 세포증식은 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) assay로 측정하였다. HCT116 대장암 세포를 96 well plate에 1.5×10⁴ cells/mL 밀도가 되도록 분주하여 24시간 배양한 후 각각의 시료를 처리하였다. 배양한 후에 MTT 시약을 2.0 mg/mL 농도로 50 µL를 각 well에 처리하여 37°C에서 4시간 동안 반응시킨 후, 배지를 제거한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 첨가하여 형성된 formazan 크리스탈을 용해시켜 540 nm에서 Microplate reader(Model 550, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 흡광도를 측정하였다. 세포의 증식률은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다(Guon TE와 Chung HS 2014).

6. 단백질 발현 실험(Western blotting analysis)

세포 사멸과 증식에 관련된 여러 종류의 단백질 발현을 western blot analysis를 실시하여 확인하였다. HCT116 세포를 1×10⁶ cells/mL 농도로 6 well plate에 분주하고 시료를 농도별로 첨가하여 24시간 동안 배양한 후 sample을 모았다. Sample를 모을 때에는 차가운 PBS로 세척한 후 cell을 모아 2,000 rpm에서 10분간 원심분리 후, protein lysis buffer를 넣어 세포를 파괴하고, 4°C, 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 모아 시료로 사용하였다. 이어서 단백질 정량 후 12% gradient sodium dodecyl

sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)에서 동량의 단백질을 loading하여 2시간 동안 단백질을 분리한 후, nitrocellulose membrane에 옮겼다. 단백질이 옮겨진 membrane에 1% BSA로 blocking한 후, 1차 antibody인 Bcl-2와 Bax(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), cleaved caspase-3, cleaved caspase-9, cleaved PARP(Cell Signaling Technology, Inc., Beverly, MA, USA)를 4°C, overnight으로 반응시켰다. 그리고 TBST로 세척한 후, 다시 2차 goat anti-rabbit IgG-HRP(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), goat anti-mouse IgG-HRP(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), rabbit anti-goat(Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA)로 1시간 동안 반응시켜 TBST로 씻어낸 후, ECL solution으로 확인하였다.

7. 통계처리

실험 결과는 SPSS 21 프로그램을 이용하여 각 실험 군의 평균과 표준편차로 계산하고 ANOVA 분석 후 p=0.05 수준에서 MTT assay는 Tukey's test를 실시하였고, MTT assay를 제외한 나머지 실험 결과는 Duncan's multiple range test를 실시하여 대조군과 처리군 간의 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량 변화

Table 2은 조리하지 않은 적양배추 추출물과 전자레인지

Table 2. Contents of total polyphenols and flavonoids of Red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC) ethanol extracts by cooking conditions

Cooking conditions	Total polyphenol contents (mg GAE/g) ¹⁾	Total flavonoid contents (mg RE/g) ²⁾
Uncooked	20.27±0.03 ^{NS}	2.55±0.02 ^b
Microwave for 3 min	19.51±0.09 ^{NS}	2.45±0.08 ^b
Microwave for 5 min	20.00±0.06 ^{NS}	4.73±0.15 ^a
Microwave for 10 min	20.01±0.08 ^{NS}	2.27±0.05 ^b
Uncooked	20.27±0.03 ^a	2.55±0.02 ^c
Steam for 3 min	18.88±0.02 ^c	3.58±0.07 ^a
Steam for 5 min	19.08±0.02 ^{bc}	2.05±0.02 ^d
Steam for 10 min	19.39±0.02 ^{ab}	3.08±0.06 ^b

¹⁾ Gallic acid equivalents.

²⁾ Rutin equivalents.

^{a-c} Means in a column by different superscripts are significantly different at the p<0.05 level by Duncan's multiple range test.

^{NS} Not significantly different at p<0.05.

지 및 찜 조리법을 이용하여 조리된 적양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량을 나타낸 것이다. 조리되지 않은 대조군의 총 폴리페놀 함량은 20.27 mg이며, 전자레인지로 이용하여 3, 5, 10 분간 조리한 적양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량은 19.51 mg~20.01 mg을 나타냈다. 찜을 이용한 적양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량은 18.88 mg~19.39 mg으로 대조군 보다 다소 감소하는 것으로 나타났지만 유의적이지 않았다. 또한 살짝 데치는 조리법인 블렌칭(blanching)의 경우, 총 폴리페놀 함량도 18.5 mg으로 대조군보다 낮은 수치를 나타내었다(data not shown). 따라서, 적양배추 조리 시, 데치거나 찌는 방법 보다 전자레인지를 이용한 조리법이 폴리페놀 화합물을 보존하는데 적합한 것으로 확인되었다. 페놀 화합물은 천연물에 널리 포함되어 있는 물질로 항산화, 항암 등의 생리활성을 나타내는 것으로 보고된 바 있다(Kim HS와 Kang YH 2010). Quenzer NM과 Burn EE(1981)은 전자레인지를 이용한 조리법이 영양소 손실을 방지한다고 보고하였고, Cha MN과 Oh MS(1996)은 데치기, 압력조리, 찌기, 전자레인지를 이용하여 시금치, 배추, 양배추를 조리한 경우, 무기질 잔존률이 우수한 것으로 발표하였다. 이번 연구를 통해 전자레인지를 이용한 조리법이 적양배추에 함유된 폴리페놀 화합물의 함량을 보존하는 데 적합하며, 10분간 조리 시 함량이 가장 높은 것으로 확인되었다.

2. 총 플라보노이드 함량 변화

조리방법에 의한 적양배추 추출물의 총 플라보노이드 함량을 확인하기 위해, rutin을 표준용액으로 하여 총 플라보노이드 함량을 조사하였다. Table 2에 나타난 바와 같이, 총 플라보노이드 함량은 대조군의 경우, 2.55 mg을 나타내었고, 전자레인지를 이용한 조리법의 경우, 3분 및 10분간 조리 시 총 플라보노이드 함량의 변화가 발생하지 않았다. 그러나, 전자레인지를 이용하여 5분간 조리하는 경우, 총 플라보노이드 함량이 4.73 mg으로 증가하였다. 또한 찜을 이용하여 3분, 10분간 조리한 적양배추 추출물의 경우 대조군보다 증가하였지만 유의적이지는 않았다. Choi NS 등(2001)도 조리 방법과 시간이 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량에 영향을 미칠 수 있다고 발표하였다.

3. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성

조리되지 않은 적양배추 추출물과 전자레인지와 찜을 이용하여 조리된 적양배추 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성을 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거활성은 조리 전 대조군의 경우 88.7%를 나타냈고, 3분간 찜을 한 적양배추 추출물의 경우, 91%로 대조군 보다 상승하였으나 유의차를 보이지 않았

Table 3. DPPH free radical and ABTS scavenging activity of Red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC) ethanol extracts by cooking conditions

Cooking conditions	DPPH radical scavenging activity (%)	ABTS radical scavenging activity (%)	F-value
Uncooked	88.67±0.01 ^b	76.00±0.04 ^b	8.112
Microwave for 3 min	81.27±0.07 ^a	57.99±0.02 ^a	
Microwave for 5 min	84.55±0.02 ^{ab}	67.26±0.02 ^{ab}	
Microwave for 10 min	80.64±0.04 ^a	55.52±0.09 ^a	4.374
Uncooked	88.67±0.01 ^b	76.00±0.04 ^b	
Steam for 3 min	91.04±0.02 ^b	69.50±0.02 ^b	
Steam for 5 min	84.70±0.01 ^a	43.94±0.02 ^a	4.374
Steam for 10 min	85.11±0.01 ^a	52.27±0.04 ^a	

^{a-b} Means in a column by different superscripts are significantly different at the $p<0.05$ level by Duncan's multiple range test.
^{NS} Not significantly different at $p<0.05$.

고 5분과 10분 조리시 유의적으로 감소하였다. 또한, 전자레인지로 조리한 적양배추의 경우, 3분과 10분 조리시 대조군과 비교하여 활성이 유의적으로 감소하였다. Hwang ES와 Kim GH(2011)은 전자레인지와 찜으로 조리한 배추 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거활성도 증가한다고 보고하였다. ABTS 라디칼 소거활성의 경우, 대조군인 조리 전의 적양배추 추출물과 비교 시, 전자레인지와 찜을 이용하여 조리한 경우, 라디칼 소거활성이 감소하였다. 또한 ABTS 라디칼 소거활성의 경우, 본 연구에서는 전자레인지로 조리한 경우, 76%의 소거능을 나타내었으며, 모든 실험군에서 대조군 보다 활성이 감소하였다. 또한 3분간 찜을 한 시료의 경우, 69.50%로, 가장 우수한 가열조건으로 확인되었다. 문헌에는 브로콜리를 전자레인지로 조리한 경우 항산화 능력이 감소하지 않았고(Ng ZX 등 2011), 찜 조리된 브로콜리의 ABTS 라디칼 소거능이 증가(Pellegrini N 등 2010)하였다고 보고되었으나, 본 연구에서는 전자레인지와 찜을 한 적양배추 추출물이 조리 시간이 증가할수록 ABTS 라디칼 소거활성이 감소하는 것으로 확인되어, 이는 추후 동일한 조건에서 가식 부위가 다른 채소의 종류별로 비교 연구가 필요하다고 생각된다.

4. 대장암세포 증식 억제 활성

본 실험에서는 인체 대장암 세포주인 HCT116 세포를 이용하여 조리방법에 의한 대장암세포 증식 억제 활성을 측정하였다. 적양배추 추출물 0.2, 0.4, 1.0 mg/mL를 첨가하여 24시간 처리하였을 때 세포증식 결과는 Fig. 1과 같다. 조리하지 않은 적양배추 추출물의 세포 생존율은 각각 70.8%, 66.8%, 62.4%로, 시료 1.0 mg/mL 농도에서

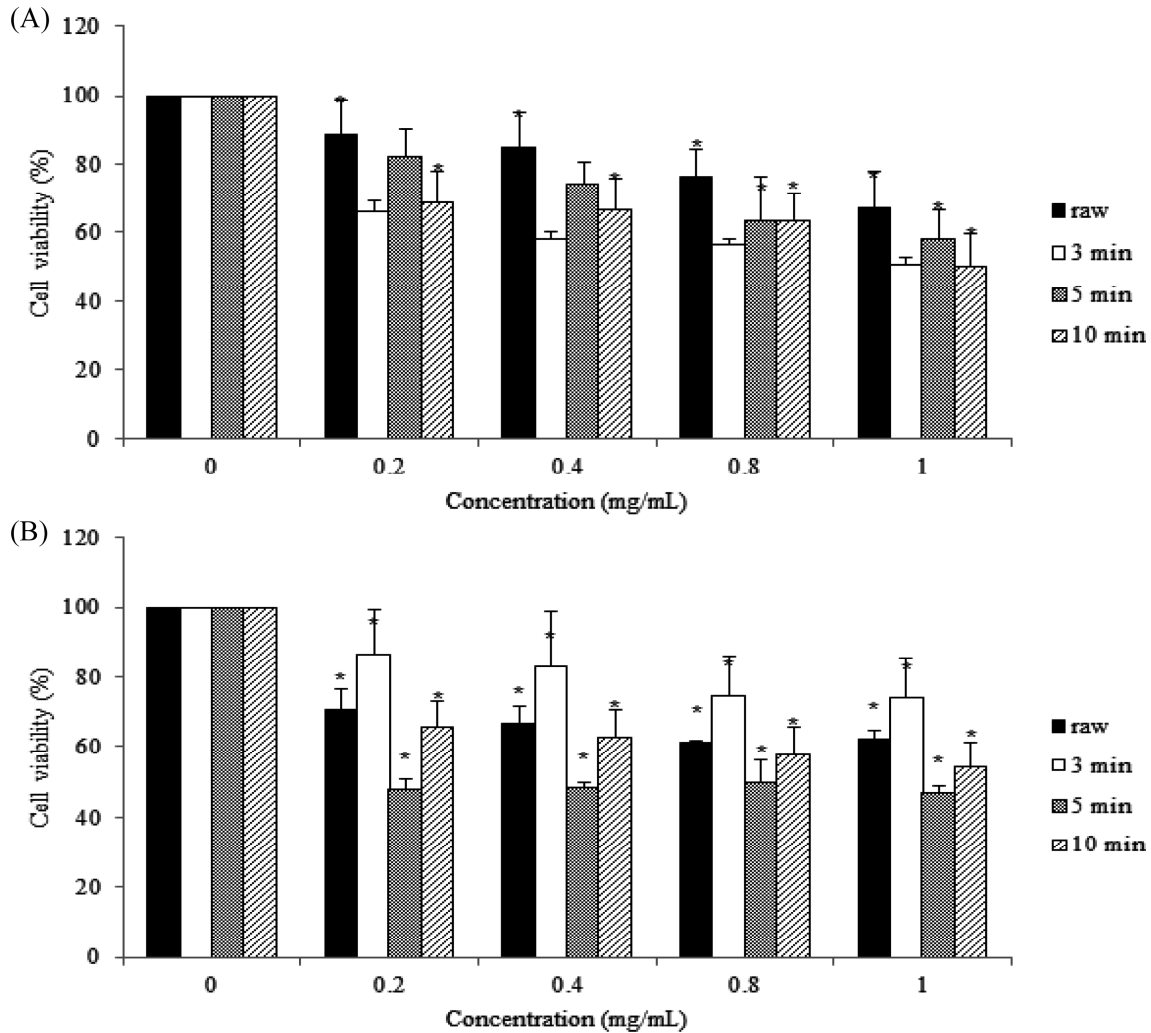


Fig. 1. Effects of cooking conditions, microwave (A) and steam (B) of Red cabbage (*Brassica oleracea* L, var. *capitata* f. *rubra* DC) on HCT116 colon cancer cell viability by MTT assay. * $p < 0.05$, significantly different from control cells (One way ANOVA, Tukey's test).

37.6%의 세포 증식억제 효과를 나타내었다($p < 0.05$). 동일한 조건으로 전자레인지로 조리된 적양배추의 대장암세포 증식 억제율은 대조군 보다 높았으며, 특히 3분과 10분간 조리한 경우에 약 50%의 대장암세포 증식 억제 효과를 보여주었다($p < 0.05$). 또한 찜 조리법의 경우, 3분과 10분간 조리 시 대장암세포 증식 억제율이 대조군 보다 감소하였으나, 5분간 찜 조리된 적양배추의 경우 약 52.8%의 대장암세포 증식 억제 효과를 나타내었다($p < 0.05$). Ju 등은 메탄올로 추출한 적양배추가 MCF-7 유방암세포 증식 억제 효과가 있다고 발표(Ju YH 등 2000)하였으며, 본 연구에서는 조리된 적양배추 추출물의 농도가 높을수록 HCT116 대장암세포의 생존율이 유의적으로 감소하였고, 특히 1.0 mg/mL 농도에서 대장암세포 증식 억제율이 가장 효과적인 것으로 관찰되어 western blotting 실험을 위한 기준 농도로 결정하였다($p < 0.05$).

5. 대장암세포 사멸에 미치는 영향

조리하지 않은 적양배추 추출물과 각각의 조건에 따라 조리된 적양배추 추출물이 대장암세포 사멸에 미치는 영향을 조사하기 위해 western blotting을 시행하였다. 본 연구에서는 MTT assay 결과를 근거로, 시료 최종 농도인 1.0 mg/mL에서의 세포사멸 관련 단백질 발현량을 관찰하였으며 실험 결과는 Fig. 2와 같다. 조리하지 않은 대조군과 함께 모든 실험군에서 세포 생존을 조절하는 것으로 알려진 Bcl-2가 감소하였고, 미토콘드리아 막의 투과성과 cytochrome c의 방출을 증가시켜 apoptosis를 유도하는 Bax는 증가하였으며, cleaved caspase-8, -9, -3 및 분절된 cleaved PARP 농도도 현저히 증가하였다. 특히 전자레인지로 3분간 조리된 적양배추 추출물의 단백질 발현량이 가장 높게 나타났는데, 이는 MTT assay에서 대장암세포 증식 억제율이 가장 높게 나온 결과(Fig. 1A)와 일치하는

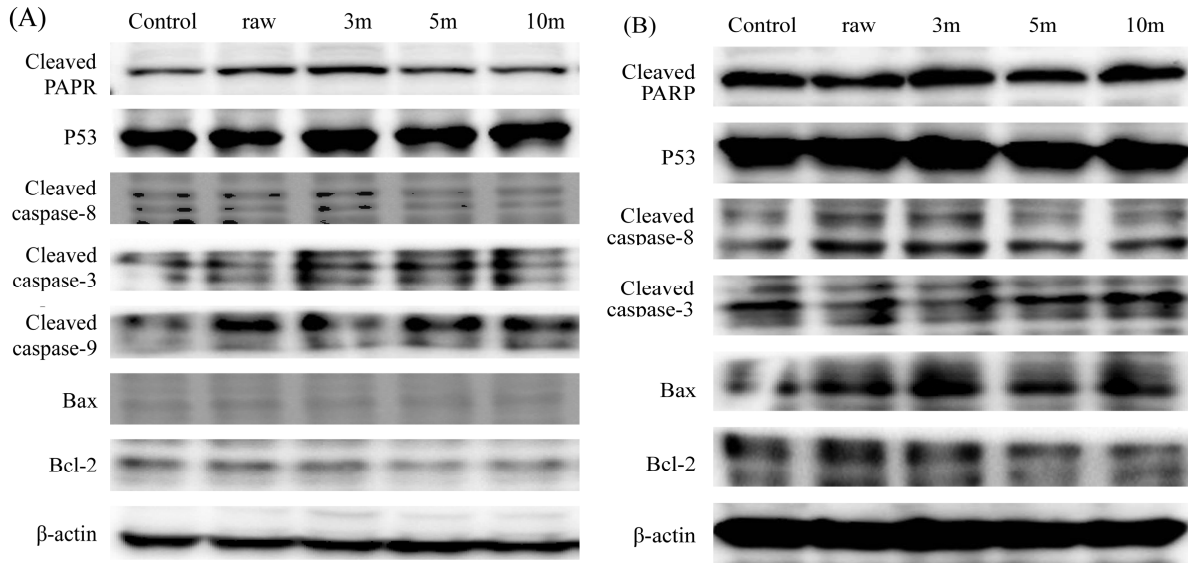


Fig. 2. Induction of apoptosis-related protein by cooking conditions, microwave (A) and steam (B) of Red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* DC).

것으로 확인되었다. 세포사멸(apoptosis)은 intrinsic apoptosis와 extrinsic apoptotic pathway로 나뉘어지며, intrinsic apoptosis는 Bcl-2, Bcl-xL, Bax, Bak 등을 포함하는 Bcl-2 family 단백질(Jin Z와 Eldeiry WS 2005)로, 미토콘드리아 막의 투과성과 cytochrome c의 방출 등 조절자의 역할을 하여 세포사멸에 관여(Schultz DR과 Harrington WJ 2003, Yao J 등 2008)한다. 또한 세포질로 방출된 cytochrome c는 Apaf-1과 함께 apoptosome을 형성하여 caspase-9, caspase-3을 활성화시키며(Villa P 등 1997), extrinsic apoptosis는 death receptor에 의하여 caspase-8과 caspase-3를 활성화시키며, 최종적으로 활성화된 caspase-3이 PARP를 절단하여 apoptosis를 유도한다(Kang HI 등 2010).

IV. 결론

적양배추는 고유의 색 및 건강 기능성분을 모두 함유한 우수한 채소로 항산화, 항암, 노화억제 등에 효과가 높은 것으로 알려져 있으나, 다양한 조리방법에 의해 고유 성분들이 어떻게 변화하는지에 대한 연구는 많이 알려지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 일상에서 흔히 사용되는 조리법인 전자레인지와 찜 조리 시 적양배추 추출물의 항산화 및 대장암세포 활성 변화를 조사하였다. 실험 결과, 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 조리 시 큰 차이를 보이지 않았으며, DPPH와 ABTS 라디칼 소거 활성은 대조군 보다 전자레인지와 찜 방법으로 조리된 적양배추 추출물이 대조군과 비교 시 감소하는 것으로 나타났다. 또한 HCT116 대장암세포에 시료를 처리하였을 때, 조리된 적양배추 추출물이 대장암세포 증식 억제 효과가 유의적으로 높은 것으로 확인되었으며, 세포 생존

을 조절하는 것으로 알려진 Bcl-2는 감소하였고, 미토콘드리아 막의 투과성과 cytochrome c의 방출에 관여하는 Bax와 cleaved caspase-8, -9, -3, PARP 함량이 모두 증가하였다. 본 연구 결과, 적양배추를 조리할 때는 플라보노이드 등 폴리페놀 화합물의 손실을 최소화하며, 항산화 활성 및 HCT116 세포사멸 효능이 우수한 전자레인지 조리법이 적합한 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 덕성여자대학교 교내연구비에 의해 수행되었으며, 지원에 감사 드립니다.

References

- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181(4):1199-1200
- Cha BC, Lee HW, Choi MY. 1998. Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *J Korean Pharm* 29(1):28-34
- Cha MN, Oh MS. 1996. Changes in mineral content in several leaf vegetables by various cooking methods. *J Korean Soc Food Sci* 2(1):34-39
- Chae YC. 2000. The study of differences Korean food and western food cooking style. *J Korean Culinary Res* (1):103-121
- Choi NS, Oh SS, Lee JM. 2001. Changes of biologically functional compounds and quality properties of *Aster scaber* (chamchiwi) by blanching conditions. *J Korean Food Sci Technol* 33(6):745-752
- Fellegriani N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for

- antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol* 299(11):379-389
- Florence CRF, Pascale MG, Jacques JN. 1992. Cystine as an inhibitor of enzymatic browning. Kinetic studies. *J Agric Food Chem* 40(11):2108-2113
- Guon TE, Chung HS. 2014. Effects of *Nelumbo nucifera* root extract on proliferation and apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *J East Asian Soc Dietary Life* 24(1):20-27
- He J, Giusti MM. 2010. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Ann Rev Food Sci Technol* 1(8):163-87
- Heo HJ, Lee CY. 2006. Phenolic phytochemicals in cabbage inhibit amyloid β protein-induced neurotoxicity. *LWT* 39(4):331-337
- Hwang ES, Kim GH. 2011. Different cooking methods for Korean cabbage and their effect on antioxidant activity and carotenoid and tocopherol contents. *Korean J Food Cook Sci* 27(6):713-721
- Jack S. 1998. Anthocyanin. *Carnivorous Plant Newsletter (CPN)*. 27(3):86-88
- Jin Z, ElDeiry WS. 2005. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 4(2):139-163
- Ju YH, Carlson KE, Sun J, Pathak D, Katzenellenbogen BS, Katzenellenbogen JA, Helferich WG. 2000. Estrogenic effects of extracts from cabbage, fermented cabbage, and acidified brussels sprouts on growth and gene expression of estrogen dependent human breast cancer (MCF-7) cells. *J Agric Food Chem* 48(10):4628-4634
- Kang HI, Kim JY, Cho HD, Park KW, Kang JS, Seo KI. 2010. Resveratrol induces apoptosis in primary human prostate cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(8):1119-1125
- Kataya HAH, Hamza AA. 2008. Red cabbage (*Brassica oleracea*) ameliorates diabetic nephropathy in rats. *J Evidence-Based Complement Altern Med* 5(3):281-287
- Kim HS, Kang YH. 2010. Antioxidant activity of ethanol extracts of non-edible parts (stalk, stem leaf, seed) from oriental melon. *Korean J Plant Res* 23(5):451-457
- Komatsu W, Miura Y, Yagasaki K. 1998. Suppression of hypercholesterolemia in hepatoma-bearing rats by cabbage extract and its component, S-methyl-L-cysteine sulfoxide. *Lipids* 33(5):499-503
- Lee SM, Rhee SH, Park KY. 1997. Antimutagenic effect of various cruciferous vegetables in Salmonella assaying system. *J Food Hyg Safety* 12(4):321-327
- Lin JY, Tang CY. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem* 101(1):140-147
- Nam MK, Kang KJ. 2013. The effect of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) extract on the apoptosis in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(1):8-16
- Ng ZX, Chai JW, Kuppusamy UR. 2011. Customized cooking method improves total antioxidant activity in selected vegetables. *Int J Food Sci Nutr* 62(2):158-163
- Panagiotis A, Sjoberg PJR, Turner C. 2008. Characterisation of anthocyanins in red cabbage using high resolution liquid chromatography coupled with photodiode array detection and electrospray ionization-linear ion trap mass spectrometry. *Food Chem* 109(1):219-226
- Pellegrini N, Chiavaro E, Gardana C, Mazzeo T, Contino D, Gallo M, Riso P, Fogliano V, Porrini M. 2010. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. *J Agric Food Chem* 58(7):4310-4321
- Plumb GW, Chambers SJ, Lambert N, Wanigatunga S, Williamson G. 1997. Influence of fruit and vegetable extracts on lipid peroxidation in microsomes containing specific cytochrome P450s. *Food Chem* 60(2):161-164
- Quenzer NM, Burns EE. 1981. Effect of microwave steam and water blanching on freeze dried spinach. *J Food Sci* 46(2):410
- Ramesh MN, Wolf W, Tevini D, Bognár A. 2002. Microwave blanching of vegetables. *J Food Sci* 67(1):390-398
- Sankhari JM, Thounaojam MC, Jadeja RN, Devkar RV, Ramachandran AV. 2011. Anthocyanin-rich red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extract attenuates cardiac and hepatic oxidative stress in rats fed an atherogenic diet. *J Sci Food Agric* 92(8):1688-1693
- Schultz DR, Harrington WJ. 2003. Apoptosis: programmed cell death at a molecular level. *Semin Arthritis Rheum* 32(6):345-369
- Vallejo F, TomásBarberón FA, GarcíaViguera C. 2003. Phenolic compound contents in edible parts of broccoli inflorescences after domestic cooking. *J Sci Food Agric* 83(14):1511-1516
- Villa P, Kaufmann SH, Earnshaw WC. 1997. Caspases and Caspase inhibitors. *Trends Biochem* 22(10):388-393
- Yao J, Jiang Z, Duan W, Huanq J, Zhanq L, He L, Li F, Xiao Y, Shu B, Lin C. 2008. Involvement of mitochondrial pathway in triptolide-induced cytotoxicity in human normal liver L-02 cells. *Biol Pharm Bull* 31(4):592-597
- Zhu C, Poulson HE, Loft S. 2000. Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts of brussels sprouts. *Free Rad Res* 33(2):187-196

Received on Jan.14, 2015/ Revised on Feb.26, 2015/ Accepted on Feb.27, 2015