

열처리된 무 추출물의 항산화 활성 및 암세포 증식억제 효과

김 현 경[†]

[†]서원대학교 식품공학과

Anti-Oxidant Activity and Anti-Proliferativity Effect of Cancer Cell using Heated Radish Extract

Hyun-Kyoung Kim[†]

[†]Department of Food Science and Engineering, Seowon University, Cheongju, Korea

(Received : Apr. 27, 2018, Revised : Jun. 18, 2018, Accepted : Jun. 25, 2018)

Abstract : Radish bark and radish greens (*mucheong*) are edible parts of radish but often they are removed prior to consumption of radish and either utilised as a byproduct or an animal feed material for their tough and rough texture. This study has proceeded an experiment that can increase such physiological properties of radish. As a result, during the extraction of radish, including the byproduct, an increase in antioxidant properties of radish depending on the heating temperature was performed. Upon the extraction of radish bark and green extract, its antioxidant activity and its contribution to inhibiting the growth of cancer cells were investigated. As a result, the color of radish ethanol extract in dependence of heating temperature, showed light brown color at low heating temperature and black color from 150°C. The total polyphenol content significantly increased as a result of heat treatment; 6.7 times and 22 times higher than the control at 110°C and 150°C, respectively. DPPH radical scavenging ability and antioxidant property increased with increasing heating temperature; in comparison to heat-treated radish at 110°C and 150°C, IC₅₀ decreased by 1/22 times. IC₅₀ of the control was 23times higher than 150°C heat treated radish (Control IC₅₀:130.305). According to the graph that represents ABTS activity, antioxidant activity increased in dependence of heat treatment likewise to the total polyphenol content and DDPH radical scavenging activity. Upon heat treatment at 150°C, antioxidant activity in consequence of ABTS assay increased 23 times higher than the control. Efficacy of heat treated radish on inhibition of cancer cell growth was examined. The growth stability of colon cancer (HCT-116, LOVO) and lung cancer (H460) cells decreased with increasing heating temperature.

Keyword : Anti-oxidant activity, Heated radish extract, PolyPhenol, Anti-proliferative effect, Functionality

1. 서 론

최근 바이오 웰빙 시대의 시작과 더불어 우리나라도 고령화 시대에서 고령사회로 진입함에 따라 국민들의

건강에 대한 관심이 점점 고조되고 있고 건강의 유지 및 증진이 무엇보다 중요하다는 사회적 트렌드가 이어지면서 생리기능성을 이용하여 각종 성인병을 예방할 수 있는 건강기능식품 소재들이 주목받고 있다. 특히 우리나라 대표 채소류인 무 추출물을 이용하여 제조되는 건강식품들은 많은 효소와 생리활성 물질들을 함유하고 있으므로 새로운 생리조절 기능과 신진대사 기능의 촉진 및 각종 질병에 대한 예방 효과가 커져 근래에 수요가 급증하고 있고, 국내외 시장규모도 확대되고 있다. 한편 근래의 식생활은 생활수준의 급속한 향상으로 인해 고지방과 고단백질이 함유된 육류와 인스턴트식품 등 고칼로리 식품의 섭취가 증가된 반면에

[†] Corresponding Author

성 명 : 김 현 경

소 속 : 서원대학교 식품공학과

주 소 : 충북 청주시 서원구 무심서로 377-3(모충동)

전 화 : 043-299-8474

E-mail : kimhk4@seowon.ac.kr

채소 등 섬유질 섭취 감소 등의 잘못된 식생활과 스트레스, 환경오염 등의 여러 가지 복합적 요인들로 인해 대장암과 유방암 등을 비롯한 각종 암과 대사 관련 질병이 조기에 시작하여 그 수가 크게 증가하였으며, 앞으로 더욱 증가 될 것으로 전망된다. 또한 인간의 수명이 증가하고 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 노화억제와 건강유지를 위한 기능성 및 생리활성 물질에 대한 연구가 광범위하게 진행되고 있다[1, 2, 3]. 무(Radish, *Raphanus sativus* L.)는 십자화과(Cruciferae) 채소로 휘발성 함황 성분을 가지고 있어 독특한 매운 맛을 지니고 있다. 무의 독특한 매운 맛은 무에 함유된 티오글루코사이드가 잘리거나 세포가 파괴되었을 때 자체 내에 있는 글루코시이다아제라는 효소에 의하여 티오시아네이트와 이소티오시아네이트로 분리되는 것에 의한다. 무에는 다른 채소에 비해 유리아미노산, 당, 칼슘 및 인 등이 많이 함유되어 있다. 뿌리에 함유된 당분은 주로 포도당, 과당이고 이외에 쿠마르산, 카페인산(caffeic acid), 페룰린산(ferulic acid), 페닐피루빈산(phenylpyruvic acid), 겐티딘산(gentidin acid), 히드록시 안식향산 및 다량의 아미노산이 함유되어 있다. 특히, 비타민 C의 함량이 20~25mg이나 함유되어 예로부터 겨울철 비타민 공급원으로 중요한 역할을 해왔다. 무 뿌리인 나복(蘿蔔)은 가래, 기침해소, 이질 등에 효과가 있고, 어패류 또는 면류의 중독을 해소 하는데도 효과가 있다고 고전에 기록되어 있다[4, 5, 6, 7]. 무에 함유된 디아스타제(diestase)는 소화촉진, 식중독, 숙취해소에 효과가 있으며 라핀(rapine)은 세균, 곰팡이, 기생충 등에 대한 항균 작용이 있는 성분으로 알려져 있다. 인체에는 항산화 물질(라디칼 소거제)인 슈퍼옥사이드 디스무타제(SuperOxide Dismutase : SOD), 카탈라아제, 비타민 E, 비타민 C 등이 있지만, 나이, 공해, 자외선, 스트레스에 의해 항산화 체계가 무력화되고, 슈퍼옥사이드라디칼, 하이드록시 라디칼, 과산화수소, 일중항산소와 같은 반응성이 매우 큰 활성산소의 농도가 증가하며 생체에 치명적인 산소독성을 일으키게 된다[8, 9, 10]. 따라서 이와 같은 활성산소를 소거할 수 있는 화합물 또는 과산화물 생성 억제물질과 같은 항산화제는 이들 산화물들에 의하여 야기되는 각종 질환 치료제 및 노화억제제로서 기대된다. 또한 식품의 산패로 인한 식품의 영양가 및 품질의 저하를 억제하는 항산화제로서 의약산업, 농업, 식품공업 등 다방면으로 이용될 수 있다. 무의 껍질과 무청은 식용으로 사용하기도 하지만, 질기고 거친 식감으로 인하여 제거 후 식용하는 경우가 많아 부산물로서 폐기되거나 가축의 사료로 이용되는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 노화억제관련 항산화 활성 및 암 세포의 성장억제 물질 개발의 일환으로 무의 생리활성을 더욱 증가시킬 수 있는 가공방법 중 무껍질 및 무청을 포함한 무의 간단한 처리 공정에 의해 항산화 활성 및 암 세포의 성장억제 활성이 현저하게 증가할 수 있음을 알아보고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1 실험재료

본 실험에 사용한 실험 재료는 농수산물 도매시장에서 국내산 무(청운무)를 구입하여 껍질과 무청을 포함하여 세척한 후 사용하였다.

2.2 무의 열처리 조건

열처리 장치는 10 kg/cm² 이상의 압력에서도 견딜 수 있도록 고안, 제작된 열처리장치(Jisco, Seoul, Korea)를 사용하였다[11]. 무 시료는 통째로 용기에 담은 후, 일정량의 물이 첨가된 외부용기 안에 넣고 정해진 온도와 시간에 따라 가열하는 것에 의해 직접적인 열전달에 의한 시료의 탄화를 방지하였으며, 열처리 과정 중 수증기가 처리될 수 있도록 하였다. 열처리 온도는 110, 120, 130, 140 및 150°C로 설정하였고, 열처리 시간은 6시간으로 설정하였다. 열처리하지 않은 시료를 대조구로 하였으며 모든 실험은 3회 반복하였다.

2.3 열처리된 무 추출물의 제조

열처리된 시료를 냉각한 후, 분쇄기를 사용하여 마쇄하고 10배의(v/v) 70% 에탄올(v/v)을 넣고 환류하며 3시간 추출하였다. 추출액을 여과한 후 농축하여 사용하였다. 비교를 위하여 열처리하지 않은 시료로부터 동일한 방법에 의해 추출물을 제조하여 대조구로 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복처리 하였다.

2.4 열처리에 따른 무추출물의 이화학적 측정

각각의 온도에서 열처리한 추출물의 색변화는 색차계(Minolta, CR-200, Tokyo, Japan)를 이용하여 명암도를 나타내는 L값(lightness), 적색도를 나타내는 a값(redness), 황색도를 나타내는 b값(yellowness)을 측정하였다. 갈변도는 열처리 시료 추출물을 15배 희석한 후 spectrophotometer (Shimadzu, UV-1650, PC, Tokyo, Japan)를 이용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였다[12].

2.5 총 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Ciocalteu 법으로 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 추출물 100 μL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 넣고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 100 μL를 가하였다. 암소에서 30분 반응시킨 후, 750 nm에서 흡광도를 측정하여 페놀의 함량을 정량하고 표준물질로는 tannic acid를 사용하였다[13].

2.6 DPPH 라디칼 소거능 측정

추출물에 0.8 mL의 0.02 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma Aldrich) 용액을 가하였다. 혼합물을 vortex mixer로 10초간 진탕

하고 30분간 실온에서 방치한 뒤, 분광광도계(Beckman Coulter, DU-650, Anaheim, CA, USA)를 이용하여 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 농도에 따른 라디칼 소거능(%)을 다음 식으로 계산한 후 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 농도(IC₅₀)을 구하여 그 결과를 구하였다[14].

$$\text{DPPH 항산화활성 (\%)} = [1 - \{A(\text{시료구 흡광도}) - B(\text{시료구 blank 흡광도})\} / C(\text{대조구 흡광도})] \times 100$$

2.7 ABTS cation decolorization assay

추출물의 총 항산화력을 ABTS.⁺ cation decolorization assay 방법에 의하여 측정하였다. 7.4 mM 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazolyl-6-sulfonic acid) (ABTS)와 2.6 mM potassium persulphate를 하루 동안 암소에서 방치하여 ABTS.⁺ 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS.⁺ 용액 1 mL에 추출액 50 μL 을 가하여 흡광도의 변화를 정확히 60분 후에 측정하였다. 표준물질로서 L-ascorbic acid (Sigma Aldrich)를 사용하여 AEAC(ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)로 나타내었다[13].

2.8 생리기능성 측정

SOD 유사활성은 Markland 등의 방법[15]에 따라 시료액 20 mL를 가한 후 균질화하고 원심 분리하여 얻은 상등액을 pH 8.2로 조정 한 후 Tris-cacodylic acid buffer(TCB)를 사용하여 50 mL로 정용한 후 시료 액으로 사용하였다. 시료액 950 μL 에 50 μL 의 24 mM pyrogallol을 첨가하여 420 nm에서 초기 2분간의 흡광도 증가율을 측정하여 시료 액을 무 첨가구와 비교하였다[15].

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = [\{A(\text{시료구}) - B(\text{대조구})\} / A(\text{시료구})] \times 100$$

Xanthine oxidase 저해 활성은 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 600 μL 에 1 mg/mL로 녹인 시료 100 μL 을 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 200 μL 을 가하여 반응을 정지 시켰다. 이 때 12,000 rpm으로 10분간 원심분리 하여 단백질 제거 후 생성된 uric acid 292 nm에서 측정 하였다.

$$\text{Xanthine oxidase 저해활성 (\%)} = [1 - \{A(\text{시료구}) - B(\text{시료구 blank})\} / C(\text{대조구})] \times 100$$

Angiotensin I-converting Enzyme(ACE) 저해 활성은 Cushman 등의 방법[16]에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉 시료 액에 동일 용량의 ethylacetate를 처리하여 얻은 추출액 50 μL 을 rabbit lung

powder에서 추출한 ACE 용액 150 μL 와 기질용액(pH 8.3의 100 mM sodium borate 완충용액 2.5 mL에 300 mM NaCl과 25 mg Hip-His-Leu를 용해) 50 μL 와 섞은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1N HCl로 반응을 정지 시켰다. 이 반응 액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고 시료 무 첨가구를 대조구로 하여 저해율을 구하였다.

$$\text{ACE 저해활성 (\%)} = [\{C(\text{대조구}) - T(\text{시료처리구})\} / \{C(\text{대조구}) - B(\text{기질처리구})\}] \times 100$$

HMG-CoA reductase 저해 활성은 다음과 같이 측정하였다[17]. 즉 50 mM 인산완충용액(pH 7.0) 100 μL , 2 mM DTT 100 μL , 0.5 mM β -NADPH 100 μL , HMG-CoA reductase 조효소액(pKFT 7-21 재조합 DNA를 갖고 있는 대장균 BL21(DE3)으로부터 생산) 50 μL 에 0.3 mM HMG CoA 100 μL 와 증류수에 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 로 녹인 시료 추출물 10 μL 을 첨가하여 3분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도의 변화를 분광 분석기로 측정하였다. 이와 동시에 시료 대신 증류수를 가한 것을 대조구로 반응 시킨 후 흡광도의 변화를 비교하여 다음과 같이 저해 활성을 계산 하였다.

$$\text{HMG-CoA 저해활성 (\%)} = [1 - (\text{시료구}/\text{대조구})] \times 100$$

Acetylcholinesterase(AChE)은 Ellman법[18]을 사용하여 측정하였다. 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.3) 110 μL 을 넣은 후 발색 시약인 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid(DTNB)를 20 μL 을 가하여 섞어준 후 기질인 acetylthiocholine chloride를 30 μL 가하여 37°C에서 60분 동안 반응생성물인 5-thio-2-nitrobenzoate의 생성 값을 415 nm에서 측정 하였다.

$$\text{AChE 저해활성 (\%)} = [1 - (\text{시료구}/\text{대조구})] \times 100$$

혈전 용해 활성은 μL 당 0.1 unit의 thrombin을 함유한 평판 배지에 pH 7.0의 인산완충용액에 용해시킨 0.6%의 fibrinogen을 주입하여 고형화 시켰다. 여기에 시료 25 μL 을 함유한 paper disc를 놓고 37°C에서 6시간 반응 시킨 후 투명환의 크기를 측정하여 혈전 용해 활성을 mm로 표시하였다[19].

2.9 암 세포의 세포증식 억제효과

세포 생존율을 측정하는 방법으로, 96 well plate에 1×10^5 cells/mL의 세포를 100 μL 씩 과중하여, 37°C · 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 각 well당 새로운 배지 100 μL 씩 넣어준 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma, Saint Louis, MO)를 2 mg/mL의 농도로 준비하여 10 μL 씩 첨가

하여 3시간에서 4시간 동안 반응을 시켰다. 각 well 당 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 150 μ L 첨가하여 10분간 잘 혼합하여 침전물을 용해시킨 후 microplate reader(EL808, Bio-Tek Instruments, Inc., Vermont, USA)에서 540nm 흡광도로 OD(optical density)값을 측정한다. 모든 시험결과는 세포를 배양하지 않은 well에서 측정된 흡광도에 대하여 보정한 값을 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 열처리에 따른 무 추출물의 이화학적 성분

무 껍질 및 무청 추출물의 색도 및 갈변도를 측정한 Table 1은 그 결과를 나타낸 것으로, 색도 중 명도를 나타내는 L 값은 열처리 온도가 증가함에 따라 대조구(무처리)의 98.65 ± 0.41 에서 계속 감소하여 150°C에서는 57.48 ± 0.11 로 낮아졌다. 적색도를 나타내는 a 값은 낮은 열처리 온도에서는 큰 변화가 없었지만 140°C에서 9.22 ± 0.04 , 150°C에서는 14.83 ± 0.10 으로 급격하게 증가하였다. 황색도를 나타내는 b 값은 대조구와 110°C에서는 각각 1.54 ± 0.02 및 3.96 ± 0.02 으로 큰 변화가 없었지만 120°C에서는 26.37 ± 0.09 로 급격하게 증가 한 후 150°C까지는 25.99 ± 0.02 를 나타내었다. 전체적으로 열처리 온도에 따른 무 에탄올 추출물의 색은 낮은 온도에서는 옅은 갈색을 나타내다가 140°C 처리부터는 검은색을 나타내었다. Lee 등[20]은 열처리 온도와 시간에 따른 고려 홍삼의 수용성 갈변 물질에 대한 연구에서 색도의 경우 L값과 b값은 감소하고, a값은 다소 증가하는 경향을 보이며, 갈변도도 열처리 온도와 시간이 증가할수록 증가한다고 보고하였으며, Hong 등[21]의 연구에서도 고려인삼을 90 및 95°C에서 증숙 횟수를 달리 하였을 경우에도, 갈변도가 증가한다는 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

3.2 열처리에 따른 총 폴리페놀함량 측정

Figure 1에서 보듯이, 추출물 중 폴리페놀의 함량은 열처리에 의해 급격히 증가하여 150°C에서의 열처리시 대조구에 비해 22배 이상이 증가하였으며, 110°C에서의 열처리 구에 비해서도 6.7배 정도가 증가하였다.

Kwon 등[22]의 연구에 의하면 열처리 마늘의 총 폴리페놀 함량은 대조 구에서는 252 mg/100 g 이었지만 열처리 조건에 따라 222~1,816 mg/100 g 범위 위로 약 7배 정도 증가 하였다고 보고 하였으며, 몇 가지 과채류에 대하여 열처리 시 열처리 온도가 증가할수록 총 폴리페놀 함량이 증가한다고 보고 한 연구[23]와 유사하게 나타났다. 총 폴리페놀성 화합물은 가열온도와 처리시간이 증가할수록 함께 증가하는 경향을 나타내어 항산화활성도 증가하는 것으로 보고 되어 있으며, 이는 결합형 페놀성분이 가열처리에 의해 유리 형으로 전환되어 용출이 용이해지거나 고분자 페놀화합물이 저분자 페놀화합물로 분해되어 총 페놀성 화합물의 함량이 증가하기 때문인 것으로 보고되어 지

고 있다[22, 23].

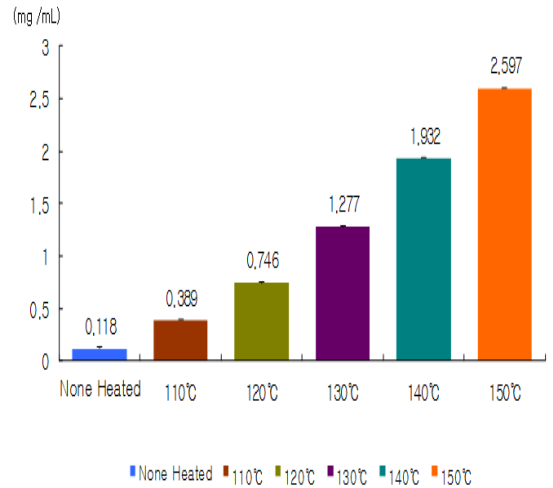


Figure 1. Changes of the total polyphenol contents of Radish with heat treatment conditions.

3.3 DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 무의 열처리 온도에 의존적으로 증가하였으며, 110°C에서 열처리한 무에 비해 150°C에서 열처리한 무는 IC₅₀ 값이 1/22로 수준으로 감소하여 항산화 효능이 크게 증가함을 보여주었다. Figure 2에 도시하지는 않았으나, 대조구의 IC₅₀ 값은 130.305로 150°C에서 열처리한 무에 비해 234배에 달하였다. 즉, 열처리 온도가 증가할수록 IC₅₀ 값이 감소하였다. 총 폴리페놀 함량이 높은 처리 구에서 항산화활성이 높게 나타난 것은 항산화 효과를 나타내는 대표적인 물질인 페놀성 화합물이 열처리 온도에 따라 증가하게 되고, 페놀성 화합물의 증가로 인하여 열처리한 무의 에탄올 추출물과 용매 분획물의 항산화 효과가 증가 되었을 것으로 생각된다. 또한 열처리 시 항산화활성을 가진 Maillard 반응의 부산물의 형성에 의해 항산화 효과가 증가 되었을 것으로 생각된다.

3.4. ABTS cation decolorization assay

ABTS 활성 결과는 폴리페놀이든 DPPH 라디칼 소거능과 마찬가지로 열처리 온도가 증가함에 따라 항산화능이 온도 의존적으로 증가하였다. 150°C에서 열처리한 경우, 대조구에 비해 ABTS assay에 의한 항산화력이 약 23배 정도 증가하였다(Figure 3). 열처리 무 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량, IC₅₀값과 총 산화력에 대한 상관분석 결과 총 폴리페놀 함량과는 양의 상관관계($p < 0.01$), IC₅₀ 값과는 음의 상관관계($p < 0.01$)를 나타내었다.

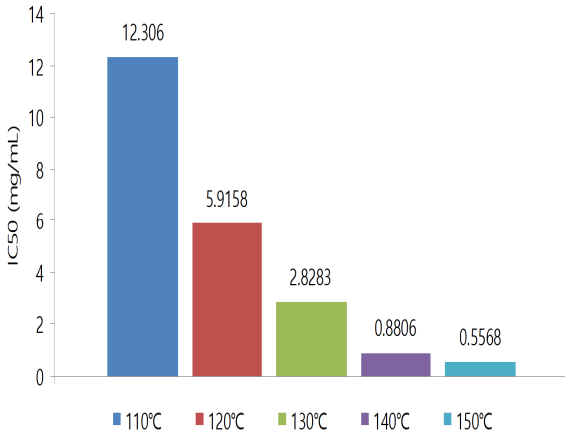


Figure 2. Changes of the DPPH radical scavenging activity on the extract by the heat treatment of radish.

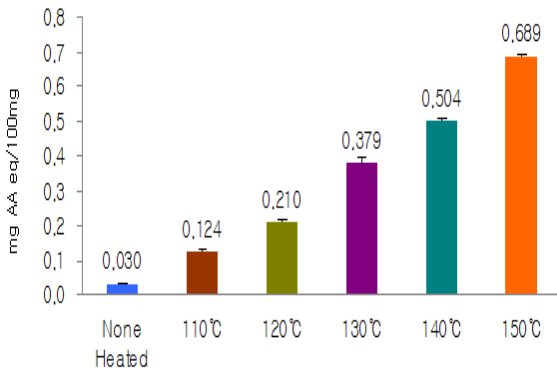


Figure 3. ABTS cation decolorization assay on the extract by the heat treatment of radish.

3.5. 무 추출물의 생리 기능성

무 추출물의 생리기능성 중 노화에 관련된 항산화 활성은 91.6%로 매우 높았으나 SOD 유사활성은 21.6% Xanthine oxidase 저해 활성은 9.3%를 보여 낮았다(Table 2). 이와 같이 항산화활성이 높은 것은 본 시료가 채소 추출물이고 페놀화합물의 환원력이 클수록 전자공여능이 높았다는 Kang 등[24]의 보고와 식물의 항산화력의 지표물질이 되는 총 페놀 함량이 매우 높았기 때문인 것으로 추정된다.

무 추출물은 콜레스테롤 합성을 억제하는 항동맥경화활성 HMG-CoA reductase 저해 활성과 항치매성 acetylcholinesterase 저해 활성이 각각 10.0%와 5.1을 보였다(Table 2). 이 결과는 Kim 등[25]이 865종의 각종 약용 식물중 갈근의 에탄올 추출물이 77%의 HMG-CoA reductase 저해 활성을 보였고, 25종의 식물 추출물들이 15% 이상의 활성을 보였다는 결과보다는 낮은 결과이었다. 항고혈압 활성과 혈

진 용해 활성은 없었는데, 이것은 이들 기능성을 나타내는 물질이 대부분 펩타이드로 알려져 있는 것으로 보아 식물체에는 단백질이나 펩타이드 물질이 적기 때문인 것으로 추정된다(26, 27).

3.6. 암세포의 세포성장 억제 효과

암세포의 세포성장을 억제하는지를 알아보는 실험으로 대사 과정이 온전한 세포는 미토콘드리아의 탈수소 효소 작용에 의해 노란색 수용성 MTT tetrazolium 을 자주색을 띠는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시킨다. MTT formazan의 흡광도는 540nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고 대사적으로 왕성한 세포의 농도를 반영하는 것을 확인 할 수 있었다. 시료를 대장암(HCT-116, LOVO)와 폐암(H460) 세포에 처리한 결과 무 추출물의 농도가 증가함에 따라 암세포의 생존율은 점차 낮아지는 것을 관찰할 수 있었다. 특히 폐암세포에 있어서 농도 의존적으로 세포성장을 억제하는 것으로 나타났다.

4. 결론

무 껍질과 무청은 무의 먹을 부분이지만 무를 먹기 전에 제거되고 질기고 거친 질감 때문에 부산물이나 동물 사료로 사용된다. 따라서 본 연구는 무의 이러한 생리 활성을 증가 시킬 수 있는 실험을 진행하였다. 그 결과 부산물을 포함하는 무를 추출하는 동안 열처리 조건에 따라 항산화 활성이 현저하게 증가하는 것을 확인하였다. 무 껍질 및 무청 추출물을 제조한 후 항산화성 활성 및 암세포의 성장억제 효과를 알아보았다. 그 결과 색도 중 명도를 나타내는 L 값은 열처리 온도가 증가함에 따라 대조구(무처리)의 98.65±0.41에서 계속 감소하여 150°C에서는 57.48±0.11로 낮아졌다. 적색도를 나타내는 a값은 낮은 열처리 온도에서는 큰 변화가 없었지만, 140°C에서 9.22±0.04, 150°C에서는 14.83±0.10으로 급격하게 증가하였다. 황색도를 나타내는 b값은 대조구와 110°C에서는 각각 1.54±0.02 및 3.96±0.02으로 큰 변화가 없었지만 120°C에서는 26.37±0.09로 급격하게 증가 한 후 150°C까지는 25.99±0.02을 나타내었다. 전체적으로 열처리 온도에 따른 무 에탄올 추출물의 색은 낮은 온도에서는 옅은 갈색을 나타내다가 140°C 처리부터는 검은색을 나타내었다. 폴리페놀의 함량은 열처리에 의해 급격히 증가하여 150°C에서의 열처리 시 대조구에 비해 22배 이상이 증가하였으며, 110°C에서의 열처리에 비해 6.7배 정도가 증가하였다. DPPH 라디칼 소거능은 무의 열처리 온도에 의존적으로 증가하였으며, 110°C에서 열처리한 무에 비해 150°C에서의 열처리한 무는 IC₅₀ 값이 1/22로 수준으로 감소하여 항산화 효능이 크게 증가함을 보여 주었다. 대조구의 IC₅₀ 값은 130.305로 150°C에서 열처리한 무에 비해 23배에 달하였다. ABTS에 의한 총산화력의 결과 에서도, 폴리페놀이나 DPPH 라디칼 소거능과 마찬가지로 열처리 온도가 증가함에 따라 항

산화능이 온도 의존적으로 증가하였다. 150°C에서 열처리한 경우, 대조구에 비해 ABTS assay에 의한 항산화력이 약 23배 정도 증가하였다.

150°C에서 열처리한 경우, 대조구에 비해 ABTS assay에 의한 항산화력이 약 23배 정도 증가하였다. 암세포의 세포생장을 억제하는지를 대장암(HCT-116, LOVO)와 폐암 (H460) 세포에 처리한 결과 열처리된 무 추출물의 농도가 증가함에 따라 암세포의 생존율은 점차 낮아지는 것을 확인 할 수 있었다. 특히 대장암 및 폐암세포에 있어서 농도 의존적으로 세포생장을 억제하는 것으로 확인 하였다.

따라서 본 실험 결과물을 종합적으로 해석해 볼 때 무 껍질 및 무청 추출물은 열처리 온도가 증가 될수록 항산화활성 효과 및 암세포의 성장억제 효과가 더 증가됨을 확인 할 수 있었으며, 추후 항산화제 및 암예방 물질 소재로서도 제품 적용화 및 활용도가 높은 기술로 사료된다.

5. 감사의 글

이 논문은 한국연구재단 이공학 개인기초연구지원사업(과제번호 NRF-2017 R1D1A1B030339841)의 지원을 받아 수행된 연구임으로 이에 감사드립니다.

Table 1. Browning index and Hunter's Color value of Radish with heat treatment conditions.

Samples treatment	Browning (at 420 nm)	Hunter's Color Value		
		L-value	a-value	b-value
Control	0.118±0.005	98.65±0.41	2.39±0.03	1.54±0.02
110°C	0.150±0.002	97.61±0.16	1.25±0.02	3.96±0.02
120°C	0.468±0.004	90.55±0.10	0.34±0.03	26.37±0.09
130°C	0.705±0.014	81.73±0.32	1.31±0.02	28.55±0.08
140°C	1.022±0.046	64.58±0.15	9.22±0.04	29.67±0.05
150°C	1.436±0.009	57.48±0.11	14.83±0.10	25.99±0.02

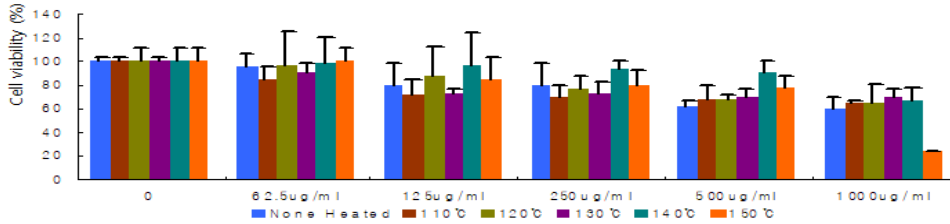
Table 2. Physiological functionalities of the heated radish extracts.

Antioxidant activity(%)	SOD-like activity(%)	Xanthine Oxidase Inhibitory activity(%)	ACE inhibitory activity(%)	HMG-CoA reductase inhibitory activity(%)	AchE inhibitory activity(%)	Fibrinolytic activity(mm)
91.6	21.6	9.3	n.d*	10.0	5.1	n.d

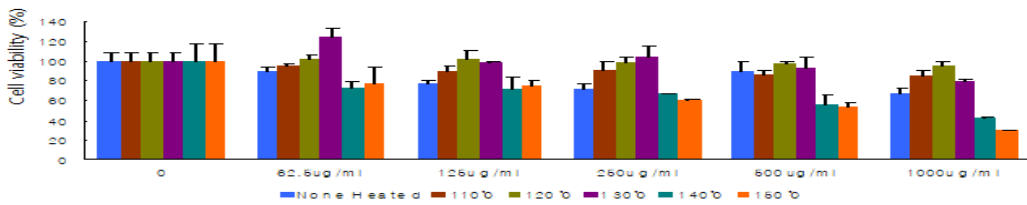
*n.d ; not detected

MTT assay

HCT116 (Colon cancer)



LoVo (Colon cancer)



H460 (Lung Cancer)

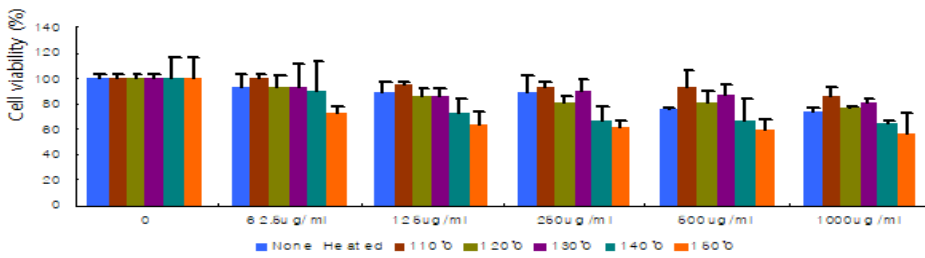


Figure 4. The cell viability effect of lung cancer cell and colon cancer cell by the heat treatment of radish.

참고문헌

- Sadaki, O., "The development of functional foods and material", *Bioindustry*, 13, 44-50 (1996).
- Park, Y. K., "Source and processing technology of vegetable juices and the trend of study", *Bull. Food Technol.*, 8, 59-68 (1995).
- Jung, D. H., "Biochemical activity of food. Seonjinmumwhasa", Seoul, 72-74 (1998).
- Ryu, B. H., "Antioxidative activity of flavonoids toward modification of human low density lipoprotein", *Korean J. Food. Nutr.*, 12, 320-327 (1999).
- Son, J. Y., Son, H. S., and Cho, W.D., "Antioxidant effect of onion skin extract. Korean", *J. Soc. Food Sci.*, 14, 16-20 (1998).
- Kang, J. A., and Kang, J. S., "Effect of garlic acid orion on plasma and liver cholesterol and triacylglycerol and platelet aggregation in rats fed basal cholesterol supplemented diets", *Korean J. Nutr.*, 30, 132-138 (1997).
- Han, S. S., Lee, S. Y., Oh, D. H., Kim, S. H., and Hong, J. G. "Development of beverages drinks using mountain edible herbs" *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26, 92-97 (1997).
- Ku, K. H., Lee, K. A. and Kim, Y. E., "Physiological activity of extracts from radish(*Raphanus sativus* L.) leaves" *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 37, 390-395 (2008).
- Park, Y. Park, S. G., Ryu, T. B., and Park, S. "Comparison of carotene and sugar contents of domestic and abroad carrot cultivars", *J. Sci. Technol.* 4, 7-11 (1997).
- Jung, M. S., Lee, G. S., and Chae, H. J. "In vitro biological activity assay of ethanol extract of radish", *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 47, 67-71 (2004).
- Woo, K. S., Jang, K. I., Kim, K. Y., Lee, H. B., and Jeong, H. S., "antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhizuralensis* Fisch) extracts", *Korean J. Food Sci Technol*, 38, 355-360 (2006).
- Morris, J. R., Sistrunk, W. A., Junek, J., and Sims, C. A., "Effect of fruit maturity, juice storage and juice extraction temperature on quality of Concord grape juice" *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 111, 742-745 (1986).
- Dewanto, V., Xianzhong, W., and Liu, R. H., "processed sweet corn has higher antioxidant activity", *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4959-4964 (2002).
- Blois, M. S., "Antioxidant determination by the use of stable free radical", *Nature*, 181, 1199-1203 (1958).
- Markland, S. and Marklund, G., "Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutasw" *J. Eur. Biochem.* 47, 469-474 (1974).
- Cushman, D. W., and Cheung, H. S. "Spectrophotometric assay and properties of the angiotension-Converting enzyme of rabbit lung", *Biochem. Pharmacol.* 20, 1637-1648 (1971).
- Kleinsek, D. A., Dugan, R. E., Baker, T. A., and Porter, J. W. "2-Hydroxy-2-Methylglutaryl coenzyme A reductase from rat liver", *Meth. Enzymol.* 71, 462-479 (1981).
- Lee, D. H, Lee, J. S., Yi, S. H and Lee, J. S., "Production of the acetylcholinesterase inhibitor from yarrowia lipolytica S-3. Mycobiol", 36, 102-105 (2008).
- Fayek, K. and El-sayed, S. T., "Purification and properties of fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis*", *Z. Allg. Mikrobiol.* 20, 375-382 (1980).
- Lee, J. W., Lee, S. K., Do, J. H., and Shim, K. H., "Characteristics of the water soluble browning reaction of Korean red ginseng as affected by heating treatment. *J. Ginseng Res.* 22, 193-199 (1998).
- Hong, H. D., Kim, Y. C., Rho, J. H., Kim, K. T., and Lee, Y. C., "Changes on physicochemical properties of Panax ginseng C. A. Meter during repeated steaming process. *J. Ginseng Res.* 31, 222-229 (2007).
- Kwon, O. C, Woo, K. S. Kim, D. J, Hong, J. T. Jeong, H. S. 2006. "physicochemical characteristics of garic(*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38, 331-336 (2006).
- Kim, H. Y., Woo, K. S., Hwang, I. G., and Lee, Y. R. and Jeong, H. S., "Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables", *Korean J. Food. Sci. Technol.* 40, 166-170 (2008).
- Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D., "Studies on the physiological functionality of fine needle and mugwort extracts", *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27, 978-984 (1995)
- Kim, H. J., Lee, D. H., Hwang, Y. Y., Lee, K. S. and Lee, J. S., "Characterization of β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor from *pueraria thumbergiana*", *J. Agri. Food Chem.* 53, 5882-5888 (2005).
- Koo, K. C., Lee, D. H., Kim, J. H., Yu, H. E., Park, J. S. and Lee, J. S. "Production and characterization of antihypertensive angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *pholiota adiposa*", *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 757-763 (2006).
- Hyun, K. W., Lee, J. S., Han, J. H. and Choi, S. Y. "Isolation and identification of microorganism with potent fibrinolytic activity from korean traditional Doenjang", *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 24-28 (2005).