pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 29, No. 1, pp. 53~59 (2014)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2014.29.1.053

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

Cr^{3+} 또는 Selenium 첨가 배양액으로 재배한 치커리의 항산화활성 및 α-glucosidase저해효과

최준혁[1] · 박윤희[1] · 이성규[1] · 이소희[1] · 유미희[1] · 이무상[3] · 박순화[3] · 이인선[1] · 김현정[1,2]*
[1]계명대학교식품가공학과, [2]계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터, [3]㈜신일

Antioxidant activities and α-Glucosidase Inhibition Effects of Chicories Grown in Hydroponics Added with Cr^{3+} or Selenium

Jun-Hyeok Choi[1], Yun-Hee Park[1], Sung-Gyu Lee[1], So-Hee Lee[1], Mi-Hee Yu[1], Mu-Sang Lee[3], Sun-Hwa Park[3], In-Seon Lee[1], and Hyun-Jeong Kim[1,2]*
[1]*Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu, Korea*
[2]*The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu, Korea*
[3]*SHINIL Co., LTD, Daegu, Korea*
(Received September 25, 2013/Revised November 15, 2013/Accepted February 5, 2014)

ABSTRACT - This study was carried out to investigate the effect on the growth and antioxidant activities of *Cichorium intybus* L.(CLE), *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'treviso' (CLET), *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'rosaitaliana' (CLER) in hydroponics added with Cr^{3+} or Selenium (Se) for 4 weeks. Total polyphenol, total flavonoids contents and FRAP values of three species of chicory were grown hydroponically with Cr^{3+} or Se were increased. These extracts were also showed stronger DPPH and ABTS scavenging activity than chicory extracts. In particular, chicories added with Cr^{3+} had higher antioxidant activities than chicories added with Se. CLER and CLE extracts added with Cr^{3+} were also showed α-glucosidase inhibition activities. These results indicate that chicories were cultivated in culture fluid added with Cr^{3+} or Se could be used as high functional vegetables.

Key words : chicory, Cr^{3+}, Selenium, antioxidant activity, α-glucosidase inhibition

환경오염으로 인해 자연으로부터 얻는 식품의 오염이 증가하고, 농업 생산성을 높이기 위해 사용되는 각종 농약의 남용으로 인해 식품의 안전성에서 많은 문제가 대두되고 있다[1]. 신선하면서 오염되지 않은 먹거리, 즉 저공해 유기농법 재배농산물에 대한 소비자의 관심과 욕구가 날로 높아져 수경재배에 대한 관심이 증가되고 있다[2]. 특히 수경재배는 토양재배 보다 단위면적당 수량증가 및 생육기간 단축, 작물의 생육에 적합한 양분관리에 따른 건강한 생산물 수확이 가능하고, 토양 병충해의 장해나 제초제를 포함한 농약오염이 없는 청정농산물 생산이 가능한 장점을 가진다[3].

최근 들어 항산화 활성이 높은 농산물에 대한 소비자의 관심이 증가하여 재배 조건과 종자 종류에 따른 폴리페놀의 함량 변화[4], 종이 다른 브로콜리와 무순의 발아 시간에 따른 비타민 C 함량과 항산화 활성 차이[5], 발아 채소 추출물의 항산화 활성을 비교[6]등이 이루어졌으며, 또한 엔디브와 청경채의 재배에 셀레늄(Se)을 첨가한 후 생육비교[7], Se이나 게르마늄(Ge)과 같은 기능성 물질의 함유량이 많은 농산물 개발 연구[8], 엽채류의 수경재배 시 양액 내에 Se 농도처리에 따른 생육 반응 및 Se 흡수에 관한 연구[9]처럼 항산화 성분을 첨가한 양액으로 재배한 엽채류에 대한 항산화 활성 변화에 대한 연구[10]들도 보고되고 있다. 그렇지만 Se이나 3가 크롬 (Cr^{3+})을 처리한 양액으로 엽채류를 재배한 후 항산화 활성을 검토한 연구는 아직 없다.

Se은 동물, 인간 및 미생물 등에 있어서 필수 영양소로서, 식물체에 의해 토양으로부터 selenate (SeO_4^{2-})나 selenite (SeO_3^{2-})의 무기화합물 형태로 흡수되어 glutathione peroxidase의 구성인자인 selenomethionine와 selenocysthionine과 같은 유기화합물로 전환되면서 흡수율이 증가하고 강력한 항산화작용을 한다[11,12]. Se의 하루 섭취량은 60~75 μg으로, 부족할 경우 두뇌와 심장 근육에 이상을 유발시키며, 유방암이나 대장암 등의 암 발병률이 증가하는 것으로 보

*Correspondence to: Hyun-Jeong Kim, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, 2800 Dalgubeoldaero, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-6445, E-mail: sarikhj@kmu.ac.kr

고되고 있다[13,14]. 또한 크롬 (Cr)은 토양에 약 250 μg/kg의 농도로 널리 분포되어 있으며, 식물에는 100~500 μg/kg 정도 함유되어 있다[15]. 특히 Cr^{3+}은 유기복합체에 결합되어 식물에 축적된 형태로 존재하며 사람과 동물의 필수영양소로, 손상된 포도당 내성 혹은 당뇨병 환자에게 혈당, 인슐린, 지방 대사를 개선시키며, 인슐린 비의존성 당뇨병 치료 및 동맥경화증 예방에 관여하는 것으로 보고되고 있다[16].

일반적으로 당뇨병과 항산화 작용은 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다. 즉 ROS 발생과 산화적 스트레스는 췌장의 ß-cell 손상을 야기하여 혈당 수준을 증가시키고[17], 산화적 스트레스가 증가하면 인슐린 분비를 감소시키는 원인으로 알려져 있어[18], 항산화 작용을 가진 성분들은 당뇨병 개선에 관여한다고 할 수 있다. 한편 α-glucosidase는 소장점막의 미세융모막에 존재하는 효소로서 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 탄수화물의 소화와 흡수에 필수적인 효소로써 경구혈당강하제로 사용되고 있다[19]. 소장내의 점막에서 α-glucosidase의 활성을 저해하면 다당류의 분해를 방해하여 소장에서 glucose의 흡수를 지연시켜주어 식후 혈당의 급격한 상승을 막아줄 것으로 기대된다.

이에 Cr^{3+} 및 Se을 첨가하여 엽채류를 재배한 다음 항산화 활성과 함께 α-glucosidase 저해활성을 검토해 보고자 한다. 특히 Cr^{3+}가 혈당대사 개선에는 관여하지만 Cr^{3+}의 항산화 작용에 직접적인 영향을 미친다는 보고가 아직 없으므로, Cr^{3+}의 처리에 의한 엽채류의 항산화 작용에 미치는 영향을 고려해보는 것도 의의가 있다고 생각된다.

따라서 본 연구에서는 시중에서 애용되고 있는 엽채류 중 맛이 쌉싸름 하고 식이섬유소가 풍부하여, 건강식품으로 각광을 받고 있는 쌈채소 중의 하나인 치커리 3종 (*Cichoriumintybus* L., *Cichoriumintybus* L. var. *folisum* 'treviso', *Cichoriumintybus* L. var. *folisum* 'rosaitaliana')에 대해 Cr^{3+} 및 Se이 각각 첨가된 양액으로 수경재배한 다음, 이들 치커리의 항산화 활성 및 α-glucosidase 저해활성을 검토해 보았다.

재료 및 방법

치커리의재배

본 실험에 사용한 3종 *Cichorium intybus* L. (CLE), *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'treviso' (CLET), *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'rosaitaliana' (CLER)의 치커리는 대구시 달성군 논공읍에 소재하고 있는 (주)신일 식물공장에서 무균적으로 재배한 것을 공급받아 사용하였다. 엽채류 재배의 배양액은 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 236 mg, KNO_3 404 mg, $NH_4H_2PO_4$ 57 mg, $MgSO_4 \cdot 4H_2O$ 123 mg/L로 제조하여 200배로 희석하여 양액으로 사용하였다. 특히 Cr^{3+} 및 Se을 첨가할 경우에는 양액에 각각 0.15 mM $CrCl_3 \cdot 6H_2O$ 및 0.5 mM Na_2SeO_3의 농도로 첨가하여 사용하였다. 이들 농도는 예비실험을 통해 적정량으로 결정하였으며, 엽채류는 약 20~25°C, 습도 55~70%, 탄산가스 600 ppm이 되도록 자동 조절한 식물공장에서 4주간 재배하여 사용하였다.

추출물제조

3종의 치커리 에탄올 추출물의 제조는 먼저 재배한 치커리를 일광 건조시킨 다음 각 시료 200 g에 10배량(w/v)의 70% 에탄올을 가하여 24시간 동안 정치하여 총 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 3, Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과한 다음 rotary evaporator (UT-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 55°C에서 농축한 후 동결 건조하여 각각의 에탄올 추출물로 사용하였다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법[20]을 응용하여 측정하였다. 각 시료 추출물 1 mg을 증류수 1 mL에 녹이고, 10배 희석한 희석액 2 mL에 2배 희석한 Folin시약 2 mL을 첨가하고 3분간 방치한 후 10% Na_2CO_3 2 mL을 넣고 1시간 반응시킨 후 UV/Visible spectrophotometer (UVIKON 922, Kontron, Italy)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 흡광도를 표준물질로 사용한 tannic acid 검량선과 비교하여 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량은 Nieva Moren[21]등의 방법에 의해 측정하였다. 각 시료 추출물 0.1 mL와 80% ethanol 0.9 mL을 혼합한 혼합물 0.5 mL에 10% aluminium nitrate와 1 M potassium acetate 0.1 mL 그리고 80% ethanol 4.3 mL을 가하여 실온에 40분 방치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 추출물의 흡광도를 표준물질로 사용한 quercetin검량선과 비교하여 총 플라보노이드의 함량을 구하였다.

Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) 측정

FRAP방법은 산화 및 환원 반응에 의한 메커니즘 즉 3가철이 2가철로 환원될 때 발생하는 청색 파장을 593 nm에서 측정하여 환원력을 계산하는 방법으로, Benizie와 Strain 방법[22]을 96 well plate에 맞게 수정하여 실시하였다.

반응액은 300 mM acetate buffer (pH 3.6) : 10 mM TPTZ (2,4,6- tripyridyl-s-triazine) : 20 mM $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 10:1:1의 비율로 실험 직전에 만들어 사용하였다. 반응액과 시료를 혼합하여 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 환원력은$FeSO_4 \cdot 7H_2O$로 표준곡선을 작성하여 추출물 1 μg당 Fe^{2+} μmole로 표시하였다.

α-α-diphenyl-bbbbb-picrylhydrazyl (DPPH) radical 및 ABTS radical 소거활성

DPPH radical에 대한 각 시료의 환원력을 측정하기 위

해 99% 메탄올에 각 시료를 녹여 농도 별로 희석한 희석액 800 μL와 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 200 μL을 가하여 실온에 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다[23]. 이때 활성비교를 위하여 BHA를 사용하였다. 또한 ABTS radical 소거활성은 7 mM 2,2'-azino-bis-(3-ethyl-bemzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma Chemical Co., ST. Louis, Mo, USA)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 $ABTS^{+}$·을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02이 되게 phosphate buffer saline (PBS, pH 4)으로 희석하였다. 희석된 용액 180 μL에 sample 20 μL를 가하여 정확히 1분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 이때 활성비교를 위하여 Trolox를 대조군으로 사용하였고, 시료 추출물의 ABTS 유리라디칼 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC_{50}값으로 나타내었다[24].

α-glucosidase 저해활성 측정

α-glucosidase 저해활성은 nitrophenol분석법[25]을 응용하여 측정하였다. 0.2 U/mL α-glucosidase효소액 50 μL, 12 mM *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside 100 μL, sample 50 μL 및 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8) 50 μL와 혼합하여 37°C에서 20분간 preincubation한 후 0.1 M NaOH 100 μL를 가하여 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성 비교를 위하여 acarbose를 사용하였다. 효소활성의 저해정도는 다음 식에 의하여 산출하였다.

α-glucosidase 저해활성(%) = [1 – (시료처리구의 흡광도/대조구의흡광도)] × 100

통계처리

실험결과는 SPSS 12.0(Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하여 각 실험군의 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 일원배치분산분석으로 비교하였으며 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군간의 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

치커리 추출물의 추출 수율, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

양액으로 수경 재배한 3종의 치커리의 에탄올 추출물의 수율은 Table 1과 같이, 건물 당 약 1.9%로 나타났으며 3종간 차이는 보이지 않았다. 그러나 양액에 Cr^{3+}을 첨가하여 재배한 3종의 치커리의 에탄올 추출물의 수율은 0.40~2.53%로 CLE종에서 가장 높은 수율을 보였고, 양액에 Se을 첨가하여 재배한 치커리의 에탄올 추출물의 수율은 1.47~2.24%로 CLET종에서 가장 높은 수율을 보였다. 이와 같이 양액에 Cr^{3+}이나 Se을 첨가하여 치커리를 재배하면 종에 따라 추출 수율의 차이가 있음을 알 수 있었다.

Table 1. Yields of ethanol extracts from hydroponically grown chicories

Sample[1]		Yields (g/100g dry basis)
CLE	-	1.90
	Se	2.53
	Cr^{3+}	1.47
CLET	-	1.92
	Se	0.91
	Cr^{3+}	2.24
CLER	-	1.85
	Se	0.40
	Cr^{3+}	1.94

[1]CLE : Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L.
CLET : Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'treviso'
CLER: Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'rosaitaliana'

Table 2. Contents of total polyphenols and flavonoids in chicories extracts

Sample[1)]		Total Polyphenol[2)] (μg/mg)	Total Flavonoid[3)] (μg/mg)
CLE	-	18.83 ± 0.50	36.09 ± 1.76
	Se	41.10 ± 5.30	33.87 ± 2.82
	Cr^{3+}	58.04 ± 7.07	61.94 ± 1.79
CLET	-	18.72 ± 2.07	39.01 ± 1.24
	Se	47.27 ± 6.45	43.79 ± 3.08
	Cr^{3+}	47.33 ± 6.84	49.54 ± 1.29
CLER	-	13.66 ± 0.95	16.09 ± 2.01
	Se	57.52 ± 7.48	55.43 ± 1.87
	Cr^{3+}	56.52 ± 6.43	43.54 ± 3.57

[1)]CLE : Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L.
CLET : Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'treviso'
CLER : Ethanol extracts of *Cichorium intybus* L. var. *folisum* 'rosaitaliana'
[2)]Micrograms of total polyphenol content/mg of plants based on tannic acid as standard.
[3)]Micrograms of total flavonoid content/mg of plants based on quercetin as standard.

그리고 양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가가 총 폴리페놀(TP)과 총 플라보노이드(TF) 함량에 어떠한 영향을 미치는가를 확인하고자, 양액만으로 재배한 치커리와 이들 함량을 비교 측정하였다(Table 2). 그 결과, 양액만으로 재배한 CLE보다 양액에 Se을 첨가한 CLE에서 TP와 TF 함량이 증가하였고, 특히 양액에 Cr^{3+}을 첨가한 CLE에서 TP와 TF 함량이 50% 이상 증가되었다. 그리고 양액만으로 재배한 CLET의 경우에도 Se 및 Cr^{3+}을 양액에 첨가하면 TP와 TF 함량이 크게 증가함을 알 수 있었고, CLER의 경우에도 양액으로만 재배한 CLER보다 Se 및 Cr^{3+}을 양액에 첨가함

으로서 TP 함량은 약 4배, TF 함량은 약 2.7~3.4배 증가함을 알 수 있었다. 즉 양액만으로 재배한 치커리보다 양액에 Se 및 Cr^{3+}을 첨가하여 재배한 치커리에서 TP와 TF 함량이 모두 증가함을 알 수 있었다.

또한 양액에 Se을 첨가한 치커리 중에서는 CLER에서 가장 높은 TP와 TF 함량을 보였고, 양액에 Cr^{3+}을 첨가한 치커리 중에서는 CLE에서 가장 높은 TP와 TF 함량을 보였다. 이는 치커리 종에 따른 차이로 생각되고, 특히 양액에 Cr^{3+}을 첨가하여 재배한 치커리에서 가장 높은 TP와 TF 함량을 나타냄을 알 수 있었다. 알팔파, 파, 브로콜리, 메밀 및 무순새싹의 재배에 있어서 증류수 및 증류수에 비타민 C와 산화 Ge 및 산화 Se을 첨가한 재배용수로 각각 발아시키면, 비타민 C와 산화 Ge 및 산화 Se을 첨가한 재배용수로 재배한 새싹에서 비타민 C와 Ge 및 Se의 함량 증가를 보였고, 동시에 항산화 활성이 증가하였다는 보고[17]와 유사하게, 본 연구에서도 Cr^{3+}, Se의 첨가하여 재배한 치커리 내의 TP와 TF 함량이 증가하여 항산화 활성이 증가할 것으로 생각된다.

치커리 추출물의 Ferric reducing/antioxidant power (FRAP)

3종 치커리 추출물의 FRAP 측정 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과, 양액만으로 재배한 치커리에 비해 양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가한 3종 치커리 모두에서 환원력이 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈고, 그 중에서도 양액에 Cr^{3+}첨가 치커리에서 환원력이 가장 유의적으로 높게 나타냈다. 또한 양액에 Se을 첨가하면 CLER에서 CLE, CLET보다 유의적으로 가장 높은 FRAP능을 나타내었다. 이 결과는 3종 치커리에 Cr^{3+} 및 Se을 첨가하면 TP와 TF 함량이 증가되어 FRAP능도 증가한 것으로 보여진다. Holasova 등[26]은 phenolic compound의 함량이 증가함에 따라 항산화력이 증가한다고 보고하였는데, 본 결과와 일치하는 경향을 보였다. 또한 Osawa[27]의 보고에 의하면 식물로부터 추출된 phenol류의 화합물은 항산화능을 포함한 다양한 생물학적 효능을 나타내며 이들 효능은 주로 산화 환원력에 의한 것이라고 보고하였다. 따라서 치커리 재배시 양액에 Cr^{3+} 및 Se의 첨가는 3종 치커리 추출물의 항산화능을 나타내는 phenol류 화합물의 함량을 증가시켜 FRAP의 환원력을 증가시킨 것으로 생각된다.

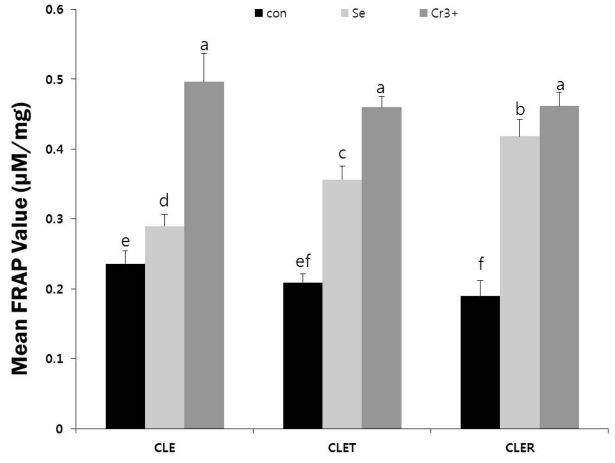

Fig. 1. Total antioxidant activity of chicories extracts on ferric reducing/antioxidant power (FRAP) activity. FRAP value is expressed as Fe^{2+}μM concentration, obtained from $FeSO_4$ solution having an antioxidant capacity equivalent to that of the dilution of the chicories.

치커리 추출물의 DPPH radical 소거능

DPPH는 짙은 자색을 띄는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되며, 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다[28].

3종 치커리 추출물의 DPPH radical 소거능은 Table 3에 나타내었고, DPPH radical을 50% 저해하는 시료의 농도를 RC_{50}값으로 표기하였다. 양액 만으로 재배한 3종 치커리 추출물의 DPPH radical 소거능은 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 양액에 Se 이나 Cr^{3+}를 첨가한 군에서 유의적으로 높은 DPPH 소거능을 보였다. 또한 양액에 Se을 첨가한 그룹 중 DPPH RC_{50}값이 CLE 91.83 ± 6.44 μg/mg, CLET 88.48 ± 23.80 μg/mg으로 나타나, CLER 199.96 ± 1.11 μg/mg보다 유의적으로 낮았다. 즉 Se 첨가 CLE와 CLET는 DPPH 소거능이 우수함을 알 수 있었다.

양액에 Cr^{3+}을 첨가한 그룹에서도 DPPH RC_{50}값이 CLE 60.01 ± 1.63 μg/mg으로 가장 낮은 값을 보였고, CLET 및

Table 3. Concentration required for 50% reduction of DPPH radicals of chicories extracts

Sample		DPPH RC_{50} [1] (μg/mg)
CLE	-	255.88 ± 3.86[a2]
	Se	91.83 ± 6.44[e3]
	Cr^{3+}	60.01 ± 1.63[f]
CLET	-	263.41 ± 3.39[ab]
	Se	88.48 ± 23.80[e]
	Cr^{3+}	121.32 ± 3.34[d]
CLER	-	278.28 ± 3.83[a]
	Se	199.96 ± 1.11[c]
	Cr^{3+}	215.54 ± 4.27[c]
BHA[4]		6.30 ± 0.09

[1]Concentration required for 50% reduction of DPPH at 30 min after starting the reaction.
[2]Values are means of triplicate determinations ± SD.
[3]Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$).
[4]*t*-Butylatedhydroxylanisole (BHA) were used as positive references.

CLER에서도 양액만으로 재배한 그룹보다 낮은 DPPH RC_{50} 값을 나타냈다. 특히 3종 중 양액에 Cr^{3+}의 첨가하여 재배한 CLE에서 가장 낮은 RC_{50}값을 나타내었다. 이는 총 플라보노이드, 총 폴리페놀, FRAP활성의 결과와 유사한 경향으로 Cr^{3+}를 흡수한 CLE 치커리에서 2차 대사산물인 페놀성 화합물이 가장 많이 존재하여, DPPH radical 소거능에 영향을 미친 것으로 생각된다.

Kang 등[29]의 보고에 의하면 전자공여능이 페놀산과 플라보노이드 및 기타 페놀성 물질에 대한 항산화작용의 지표라고 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다. 본 연구에서도 3종 치커리 추출물들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 결과와 일치하는 경향으로 DPPH 라디칼소거능을 가지는 것을 확인하였다.

치커리 추출물의 ABTS radical 소거능

$ABTS^{+}$·의 소거활성은 ABTS와 potassium persulfate를 암소에 방치하면 ABTS radical ($ABTS^{+}$·)이 생성되는데 추출물의 항산화력에 의해 $ABTS^{+}$·이 소거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 정도를 측정하는 방법으로, 극성과 비극성 시료의 항산화 활성을 모두 측정할 수 있다[24].

3종 치커리 추출물의 ABTS radical 소거능은 Table 4에 나타내었고, DPPH와 마찬가지로 RC_{50}값으로 표기하였다. 양액만으로 재배한 그룹에서 3종 치커리의 ABTS radical 소거능은 CLE에서 가장 낮은 농도의 RC_{50}값을 나타내었다. 하지만 Se을 첨가한 그룹에서는 CLER에서 ABTS RC_{50} 값이 65.42 ± 0.16 μg/mg으로 유의적으로 가장 낮은 값을 보여, Se을 첨가한 CLER가 가장 우수한 ABTS radical 소거활성이 있음을 확인하였다.

Cr^{3+}를 첨가한 그룹에서 ABTS RC_{50}값은 CLER에서 44.01 ± 0.99 μg/mg로 유의적으로 가장 낮은 RC_{50}값을 보여 ABTS radical 소거활성이 가장 우수하였는데, 이 결과는 DPPH radical 소거활성과는 다른 경향이었다. 이것은 DPPH 및 ABTS가 라디칼이라는 점에서는 같으나 DPPH의 경우는 자유 라디칼이지만 ABTS는 양이온 라디칼이라는 점에서, 또는 페놀물질의 종류가 다름에 따라 두 기질에 결합하는 정도가 달라서 결국 라디칼을 제거하는 능력 차이가 나는 것으로 사료된다[30]. 새싹을 비타민 C와 산화 Ge 및 산화 Se을 첨가한 재배용수로 발아시키면, 재배한 새싹 내에 이들 비타민 C, Ge 및 Se의 함량 증가를 보이고, 항산화 활성이 증가하였다는 보고처럼[17], 본 연구에서도 치커리 추출물의 수경재배 과정에서 양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가 후 치커리의 항산화 활성이 증가하여, 치커리 내 Cr^{3+}, Se의 함량 증가로 인해 항산화 활성이 증가한 것으로 사료된다.

치커리 추출물의 α-glucosidase 저해활성

양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가 후 수경 재배한 치커리 추출물에서 항산화 활성이 증가함을 확인하여, Cr^{3+} 및 Se이 첨가된 3종 치커리 추출물의 α-glucosidase 저해활성을 검토해보았다(Table5). 이때 제2형 당뇨치료제로 쓰이는 acarbose를 양성대조군으로 하여 비교하였다. 그 결과, 3종 치커리 중 Cr^{3+}을 첨가한 CLER의 10 ug/mL 처리시 α-glucosidase 저해활성은 9.91%, Se 및 Cr^{+3}을 첨가한 CLE에서는 4.66~7.48%의 α-glucosidase 저해활성을 보여, 양성대조군인 acarbose (1 mg/mL)와 비슷하거나 조금 높은 α-glucosidase 저해활성을 보였다. 그러나 CLET에서는 α-glucosidase 저해활성을 보이지 않았다. 이는 Cr^{3+}을 첨가한 CLER의 경우 ABTS radical 소거활성이 가장 우수하였고, Cr^{3+} 및 Se을 첨가한 CLE는 DPPH 소거능이 다른 치커리보다 우수하였는데, 이처럼 높은 항산화 활성을 가진 치커리 종에서 α-glucosidase 저해활성도 높음을 알 수 있었다.

Cr^{3+}은 기본적으로 당 대사와 단백질 합성대사에 관여하

Table 4. Concentration required for 50% reduction of 2,2'-azino-bis-(3-ethylbemzthiaz oline-6-sulfonic acid) radicals of chicories extracts

Sample		ABTS RC_{50}[1] (μg/mg)
CLE	-	555.14 ± 5.60[2)c]
	Se	105.48 ± 3.65[d3)]
	Cr^{3+}	86.46 ± 2.02[e]
CLET	-	686.47 ± 18.46[a]
	Se	105.97 ± 2.83[d]
	Cr^{3+}	102.84 ± 0.40[d]
CLER	-	664.73 ± 2.41[b]
	Se	65.42 ± 0.16[f]
	Cr^{3+}	44.01 ± 0.99[g]
Trolox[4)]		21.52 ± 0.22

[1)]Concentration required for 50% reduction of ABTS at 30 min after starting the reaction.
[2)]Values are means of triplicate determinations ± SD.
[3)]Means with different letters are significantly different ($p < 0.05$).
[4)]Trolox were used as positive references.

Table 5. a-Glucosidase inhibition effects of chicories extracts

Sample		Concentration (ug/mL)	a-glucosidase inhibition(%)
CLE	Se	10	4.66 ± 0.65[1)]
	Cr^{3+}	10	7.48 ± 0.71
CLET	Se	10	−1.10 ± 0.44
	Cr^{3+}	10	−5.20 ± 0.54
CLER	Se	10	−0.92 ± 0.35
	Cr^{3+}	10	9.91 ± 0.63
Acarbose[2)]		1 mg/mL	6.10 ± 0.34
		2.5 mg/mL	14.37 ± 0.27

[1)]Values are means of triplicate determinations ± SD.
[2)]Acarbose were used as positive references.

는 효소를 활성화시켜 체내 당대사를 조절해 준다고 알려져 있다[16]. Cr^{3+}을 첨가한 CLE 및 CLER 추출물에서 α-glucosidase 저해활성이 존재하고, 높은 항산화 활성을 가져 이들 치커리들은 항당뇨 개선에도 기여하리라 생각된다. 한편 Cr^{3+}의 일정수준 섭취는 건강에 큰 위해를 주지 않는 것으로 알려져 있으나, 1.5~3.3 mg/kg 경구 섭취시 독성을 나타낸다고 알려져 있다[15]. Cr^{3+}을 첨가하여 재배한 이들 치커리들의 Cr^{3+}의 함유량은 10~70 μg/kg으로 확인되었다(data not shown). 이들 치커리 내 Cr^{3+} 함유량은 적은 량이 존재하였고, 특히 식물 재배를 통하여 독성이 있는 무기형태의 Cr^{3+}가 독성이 희석되는 유기화된 Cr^{3+} 형태로 식물조직 속에 함유되므로 Cr^{3+}의 독성은 낮을 것으로 생각되었다. 그렇지만 향후 이들 Cr^{3+}의 농도를 달리하여 재배한 치커리의 Cr^{3+}의 함유량에 대한 좀 더 정확한 분석과 Cr^{3+}의 독성에 대한 연구가 진행되어야 하겠다.

따라서 치커리 추출물의 수경재배 과정에서 양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가는 치커리의 항산화 활성 및 α-glucosidase 저해활성 증진에 영향을 주는 것으로 확인되어 향후 고부가가치의 기능성 엽채류로의 재배가 가능하리라 생각된다.

요 약

Cr^{3+} 및 Se을 첨가하여 수경 재배한 치커리 3종의 에탄올 추출물을 각각 제조하여 추출물별 항산화 활성을 비교검토하였다. 그 결과 양액만으로 재배한 치커리보다 양액에 Se이나 Cr^{3+}을 첨가한 치커리 추출물에서 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량 및 FRAP 환원능이 증가하였으며, DPPH 라디칼 소거능 및 ABTS 라디칼 소거능도 증가하였다. 특히 Se을 첨가한 치커리보다 Cr^{3+}을 첨가한 치커리에서 더 우수한 항산화 활성을 나타내었다. 또한 Cr^{3+}을 첨가한 CLER 및 CLE의 경우 α-glucosidase 저해활성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 치커리 추출물의 수경재배 과정에서 양액에 Cr^{3+}, Se의 첨가는 치커리의 항산화 활성 및 α-glucosidase 저해활성 증진에 영향을 주는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2011년 지식경제부 지역산업기술개발과제 및 산업통산자원부 지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화 연구센터의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

참고문헌

1. Park Y. S.: Nitrate Content and organophosphorus pesticide residues in edible part of organic farming vegetables. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 471-476 (1998).
2. Jolly D. H., Schutz H. G., Diaz-Knauf K. V. and Johal J.: Organic food 3. Consumer attitudes and use. *Food Technology,* **42**, 60-65 (1989).
3. Lee S. Y., Kim H. J. and Bae J. H.: Growth, vitamin C, and mineral contents of *Sedum sarmentosum* in soil and hydroponic cultivation. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **29**, 195-200 (2011).
4. Yun H. K., Seo T. C., Park D. K., Choi K. Y., and Jang Y. A.: Effect of selenium source and concentrations on growth and quality of endive and Pak-choi in deep flow culture. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.,* **22**, 151-155 (2004).
5. Cha B. C., Kim M. D. and Ryu H. S.: Effect of vitamin C, germanium oxide and selenium treatment on the during cultivation of sprouts. *Korean J. Food & Nutr.,* **24**, 226-232 (2011).
6. Cheong Y. H., Han M. J., Sung S. J., Seo D. C., Kang J. G., Sohn B. K., Heo J. S. and Cho J. S.: Effects of selenium supplement on germination sprout growth and selenium uptake in four vegetables. *Korean J. Environ. Agric.,* **28**, 179-183 (2009).
7. Woo N., Song E. S., Kim H. J., Seo M. S. and Kim A. J.: The comparison of antioxidative activities of sprouts extract. *Korean J. Food & Nutr.,* **20**, 356-362 (2007).
8. Kim S. J., Zaidul I. S., Suzuki T., Mukasa Y., Hashimoto N., Takigawa S., Noda T., Matsuura-Endo C. and Yamauchi H.: Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (*Fagopyrum*) sprouts. *Food Chem.,* **110**, 814-819 (2008).
9. Martinez-Villaluenga C., Penas E., Ciska E., Piskula M.K., Kozlowska H., Vidal-Valverde C. and Frias J.: Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chem.,* **120**, 710-715 (2010).
10. Conor R.: Selenium. A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology,* **9**, 114-118 (1998).
11. Danielle R. E. and David E. S.: Plants, selenium and human health. *Current Opinion in Plant Biology,* **6**, 273-279 (2003).
12. Gunnar G. N., Umesh C. G., Michel L. and Tomas W.: Selenium in soil and plant and its importance in livestock and human nutrition. *Adv. Agron.,* **37**, 397-460 (1985).
13. Young V. R.: Selenium. A case for its essentiality in man. *N. Engl. J. Med.,* **304**, 1228-1230 (1981).
14. Sahin K., Tuzcu M., Orhan C., Sahin N., Kucuk O., Ozercan I. H., Juturu V. and Komorowski J. R.: Anti-diabetic activity of chromium picolinate and biotin in rats with type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin. *Br. J. Nutr.*, **110**, 197-205 (2013).
15. Choi K. Y., Yun H. K., Kim Y. C., Seo T. C. and Seo H. D.: Effect of selenium treatment in the nutrient solution on the growth and Se accumulation of Pak-choi and Lettuce. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.,* **21**, 41-41 (2003).
16. Wade M. J., David B. K., Carlisle J. S., Klein A. K. and Valoppi L. M.: Environmental transformation of toxic metals. *Occup. Med.,* **8**, 575-597 (1933).
17. Schwarz, K. and Mertz, W.: Chromium (III) and the glucose tolerance factor. *Arch. Biochem. Biophys.,* **85**, 292-295 (1959).
18. Rodney C. R. and Roger B. M.: Use of Antioxidant Nutrients in the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. *J. Am.*

Coll. Nutr., **20**, 363-369 (2001).
19. Paul R., Jamie H., Phuong O. T. and Vincent P.: β-Cell glucose toxicity, lipotoxicity and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, **53**, 5119-5124 (2004).
20. Folin O. and Denis W.: On phosphotungstic-phosoho-molybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.,* **12**, 239-249 (1912).
21. Nivea M., Sampietro A. and Vattuone M.: Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several relisions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.,* **71**, 109-114 (2000).
22. Benzie I. F. F. and Stain J. J.: The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.,* **230**, 70-79 (1996).
23. Locatelli M., Gindro R., Travaglia F., Coisson J. D., Rinaldi M. and Arlorio M.: Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chem.,* **114**, 889-897 (2009).
24. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.,* **26**, 1231-1237 (1999).
25. Matsui T., Ueda T., Oki T., Sugita K., Terahara N. and Matsumoto K.: α-Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *J. Agric. Food Chem.,* **49**, 1948-1951 (2001).
26. Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J. and Vavreinova S.: Buckwheat. The source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res. Int.,* **35**, 207-211 (2002).
27. Osawa T.: Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. In postharvest biochemistry of plant food material in the tropics. In Uritani I, V. V. Garcia, E. M. Mendoza (eds.), *Japan Scientific Societies Press,* Tokyo, pp. 241-251 (1994).
28. Lee S. G., Yu M. H., Lee S. P. and Lee I. S.: Antioxidant activities and induction of apoptosis by methanol extracts from avocado. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.,* **37**, 269-275 (2008).
29. Kang Y. H., Park Y. K., Oh S. R. and Mood K. D.: Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.,* **27**, 978-984 (1995).
30. Wang M. F., Shao Y., Li J. G., Zhu N. Q., Rngarajan M., Lavoie E. J. and Ho C. T.: Antioxidative phenolic compounds from sage (*Saliviaofficinalis*). *J. Agric. Food Chem.,* **46**, 4869-4873 (1998).