메를린 비트 새싹 추출물의 항산화 및 항염증 효과

한송이¹ · 강소미² · 강미숙² · 변지훈² · 김재훈^{1,2}

¹제주대학교 아열대/열대생물유전자은행센터

²제주대학교 생명공학부

Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Merin Beet Sprout Extract

Song-I Han¹, So Mi Kang², Mi Sook Kang², Ji Hun Byeon², and Jae-Hoon Kim^{1,2}

¹Subtropical/Tropical Organism Gene Bank and ²Faculty of Biotechnology, Jeju National University

ABSTRACT The present study aimed to investigate the antioxidant and anti-inflammatory effects of red beet (Merlin sprout and root) extract. The free radical scavenging activity, EC₅₀ of Merlin sprout extract and Merlin root extract were measured at 1.687 µg/mL and 7.457 µg/mL, respectively. The total polyphenol content of the Merlin sprout extracts was observed to higher than that of the Merlin root extracts. Next, we investigated the effect of Merlin sprout and Merlin root extract on nitric oxide (NO) production in LPS-induced RAW264.7 cells. The Merlin sprout extract showed a higher NO production inhibitory effect compared to the Merlin root extract at 400 µg/mL concentration. In addition, treatment with the Merlin sprout extract significantly suppressed inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) protein expression levels. Furthermore, the Merlin sprout extract reduced interleukin-6 (IL-6) production in a concentration-dependent manner. From these results, it appears that it would be beneficial to use the Merlin sprout extract in the food industry and for the development of safe antioxidant and anti-inflammatory substances.

Key words: *Beta vulgaris*, Merlin, antioxidant, anti-inflammatory, sprout

서 론

염증반응은 조직의 손상 및 세균 감염 등으로부터 인체를 보호하기 위해 일어나는 1차 면역반응으로 염증반응이 만성적으로 일어나면 점막 손상을 촉진하고 동맥경화, 천식, 암을 유발하기 때문에 항염증제 개발에 대한 관심이 증가하고 있다(Kaplanski 등, 2003). Lipopolysaccharide(LPS)는 그람 음성세균의 세포 표면을 구성하는 물질로 항체 생산과 국소 염증 등 다양한 반응을 일으키는데, 대식세포에서는 세포 내 전사 요소인 nuclear factor-κB(NF-κB)의 활성화를 유도하여 interleukin(IL), nitric oxide(NO)와 같은 염증성 매개 물질을 분비하도록 유도하는 신호전달경로가 밝혀져 있다(McDaniel 등, 1996; Kim 등, 2012). 따라서 이러한 염증성 매개 물질 유전자를 조절함으로써 항염증에 효과가 있고, 부작용이 적은 안전한 소재의 개발이 매우 중요하다. 최근 안전한 소재 개발로 사용되는 식품들에는 더덕(Jung과

Ryu, 2018), 보리순(Son 등, 2016), 당유자(Lee 등, 2006), 두과 작물(Chon 등, 2013) 등이 있으며, 이러한 항산화능과 항염증 효과를 가진 천연물들에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다.

비트(*Beta vulgaris*)는 유럽 남부 지중해 연안에 분포하는 두해살이풀로서 유럽과 아프리카 북부가 원산지이다. 비트는 따뜻한 기후에서 잘 자라 제주도에서 많이 재배되고 있는 작물이다. 비트는 2년생으로 파종해서 수확까지 조생종의 경우 4개월, 만생종의 경우 5~6개월이 걸린다. 비트의 품종에는 불스블러드, 디트로이트다크레드, 진홍 등이 있으며 교배종에는 메를린, 우단 등이 있다. 비트는 각종 미네랄과 비타민 등이 풍부하여 식품으로 이용하는데, 비트의 지상부는 샐러드로 이용하고 뿌리 부분은 주스나 정제하여 건강 기능성 식품으로 사용한다. 비트에 대한 연구는 주로 뿌리를 추출하여 기능성 성분에 대한 연구가 진행되었는데, 비트 뿌리에는 안토시아닌(anthocyanin)과 베타닌(betanin) 등

Received 11 May 2021; Revised 25 August 2021; Accepted 26 August 2021

Corresponding author: Jae-Hoon Kim, Faculty of Biotechnology, Jeju National University, 102, Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju-do, Korea, E-mail: kimjh@jejunu.ac.kr

Author information: Song-I Han (Other), So Mi Kang (Graduate student), Mi Sook Kang (Graduate student), Ji Hun Byeon (Student), Jae-Hoon Kim (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

의 천연색소가 많이 있으며, 이들 색소 성분에는 항산화 및 항염증, 항암 활성 등의 효과가 있는 것으로 보고되어 있다 (Kapadia 등, 1996; Ravichandran 등, 2012; Yi 등, 2017; Babarykin 등, 2019).

종자로부터 싹을 키우는 발아의 과정은 매우 복잡한 생리 학적인 변화를 포함하는데, 새싹의 경우 종자보다 영양소뿐 만 아니라 다양한 기능성 성분도 증가하는 것으로 알려져 있다 (Vanderstoep, 1981; Chen 등, 2018). 최근에는 콩과 작물 새싹 (Simsek 등, 2014), 브로콜리 새싹 (Chen 등, 2018), 들깨 새싹 (Jeong 등, 2014b), 적콜라비 새싹 (Jeong 등, 2018) 등의 항산화, 항염, 미백효과 등에 대한 연구가 보고 되었다. 비트의 경우 뿌리에 대한 연구는 비교적 많이 진행 되어 왔지만, 현재까지 새싹 비트에 대한 연구는 거의 보고 된 바 없다. 따라서 본 연구는 비트 품종 중 메를린의 뿌리와 새싹을 대상으로 하여 추출물을 확보하고, 항산화, 총 폴리 페놀 함량, 대식세포에서 NO 생성 억제 활성 및 inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2)의 단백질 발현, 전 염증성 cytokine (IL-6) 생성 억제 활성을 비교 분석하여 항염증 조절 작용을 가진 천연 항염증제 소재로의 활용 가능성을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

시료 제조

본 실험에서 사용한 메를린은 사카타 코리아 (Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 항산화 활성에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. 메를린 뿌리는 2020년 7월 수확된 것을 사용하였으며, 메를린 새싹은 실험실에서 종자에서 발생한 싹을 키워 열흘 된 어린 새싹을 사용하였다. 메를린 뿌리와 새싹은 동결건조기 (Hanil, Gimpo, Korea)를 사용하여 3일간 건조한 후 분말을 획득하였으며, 60% EtOH을 첨가하여 sonicator (Kodo Technical Research Co., Ltd., Hwaseong, Korea)에서 2시간 추출한 후 여과지 (Whatman No. 2 filter paper, Whatman International Ltd., Maidstone, England)를 이용하여 여과하였다. 여과한 추출물을 감압 농축하여 농축액을 -20°C에 보관하여 사용하였다.

항산화 활성 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 자유라디칼 소거능은 Blois 방법 (1958)을 변형하여 측정하였다. 레드비트 새싹과 뿌리 추출물 80 µL에 0.1 mM DPPH 용액 200 µL를 혼합하여 25°C에서 20분 동안 암실에서 반응한 후, microplate spectrophotometer (Multiskan GO, Thermo scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 소거능은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도를 구하여 백분율로 구하였다. EC₅₀은 DPPH 라디칼 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 추출물의 농도를 나타

낸 것으로 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging effect (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100$$

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis (Singleton 등, 1999) 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 100 µL에 4% Na₂CO₃ (sodium carbonate, Sigma-Aldrich) 용액 1 mL를 혼합하고 2분간 암반응 시킨 다음, 1 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent (F9252, Sigma-Aldrich)를 50 µL 첨가하여 30분간 암반응 시킨 후 720 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 비교하였다. Quercetin (Sigma-Aldrich)을 표준물질로 사용하여 표준검량선을 작성한 후, 총 폴리페놀 함량은 시료 g 중의 mg quercetin으로 나타내었다.

세포배양

대식세포 계열 (murine macrophage cell line)인 RAW 264.7 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)으로 부터 분양 받았으며, 10% FBS (fetal bovine serum, Gibco, Grand Island, NY, USA)와 1% penicillin-streptomycin (SAFC, Brooklyn, Australia)이 함유된 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, Gibco)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 1주일에 2~3회 계대 배양하였다.

NO 생성 억제 활성 측정

NO 생성 억제 활성 측정은 Griess 시약 [1% (W/V) sulfanilamide, 0.1% (w/v) naphthylethylenediamine in 2.5% (v/v) phosphoric acid]을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 세포는 48-well plate (2.5×10⁵ cells/mL)에 주입하여 부착하였고, 37°C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 18시간 동안 배양하였다. 추출물을 농도별로 처리하여 1시간 동안 배양한 다음 LPS (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 10 ng/mL를 첨가하여 24시간 배양하였다. 96-well plate에 100 µL 배양액을 넣은 후 배양액과 동량의 Griess reagent (Sigma-Aldrich)를 넣어서 10분간 상온에서 암반응 시킨 후 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 2-amino-4-methylpyridine (Sigma-Aldrich)을 standard로 비교하여 배양액의 NO 생성량을 결정하였다.

LDH release를 이용한 세포독성 측정

RAW264.7 세포 (2.5×10⁵ cells/mL)에 추출물을 처리하여 1시간 배양한 후, LPS를 첨가하여 24시간 배양하였다. 배양액을 8,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액 50 µL를 96-well plate로 옮긴 후 동량의 cytotoxicity detection kit (LDH, Promega, Madison, WI, USA)을 넣고 실온에서 30분간 암반응 시켰다. Stop solution 50 µL를 첨가한 후 480 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 군에 대한 평균 흡광도의 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도

값과 비교하여 세포독성을 측정하였다.

Western blot을 이용한 iNOS 및 COX-2 단백질 발현 분석

iNOS 및 COX-2의 단백질 발현을 확인하기 위해 RAW 264.7 세포(10×10^5 cells/well)를 6-well plate에 cell seeding 하여 18시간 동안 배양하였다. 추출물을 처리하여 1시간 배양한 후 LPS를 10 ng/mL의 농도로 처리하고 24시간 배양하였다. 배양된 세포를 $1 \times$ PBS로 1회 세척한 후, 세포에 lysis buffer(M-PER buffer, 2 mM sodium vanadate, 30 mM sodium pyrophosphate, 100 mM sodium fluoride, $1 \times$ PI, 1 mM PMSF)를 첨가하여 4°C에서 5분간 용해시켜 단백질을 얻었다. Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)으로 단백질을 정량한 후, 동량의 단백질을 12% SDS-acrylamide에 loading하여 SDS-PAGE를 진행하였다. 분리한 단백질을 nitrocellulose membrane(Amersham BioScience, Little Chalfont, UK)에 이동시킨 후 5% skim milk로 4°C에서 8시간 동안 blocking 하였다. 8시간 후 iNOS 및 COX-2(BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 $1 \times$ TBST에 용해시켜 4°C에서 overnight시킨 다음 membrane을 $1 \times$ TBST로 10분간 3회 세척하였다. 그 후, 2차 항체는 $1 \times$ TBST에 용해시켜 membrane에 상온에서 1시간 처리하였고, $1 \times$ TBST로 5분간 3회 세척 후 BS ECL plus kit(Biosesang, Seongnam, Korea)을 이용하여 단백질을 확인하였다.

IL-6 생성량 측정

RAW264.7 세포(2.5×10^5 cells/mL)를 추출물을 처리하여 1시간 배양한 후, LPS를 첨가하여 24시간 배양하여 얻은 상층액의 IL-6를 ELISA kit(BioLegend, San Diego, CA, USA)을 이용하여 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3 반복 이상 실시하여 얻어진 값들의 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었다. 결과에 대한 통계분석은 Graphpad

Table 1. EC₅₀ values and total phenolic content of red beet extract

Sample	DPPH EC ₅₀ $\times 10^2$ (μ g/mL) ¹⁾	TPC (GAE mg/g)
Merlin root	7.457 $\pm$ 0.287	11.554 $\pm$ 0.158
Merlin sprout	1.687 $\pm$ 0.175*	42.072 $\pm$ 0.202*

Values are presented as mean $\pm$ SD for three replication. A significant difference was determined by one-way ANOVA. * $P=0.001$.

¹⁾EC₅₀ was the effective concentration of the test sample that scavenged 50% initial DPPH radical.

PRISM statistical package(ver 5.00, Graphpad Software Inc., San Diego, CA, USA)를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 통해 특정 처리군과 대조군 간의 통계적 유의차를 $P<0.01$, $P<0.001$ 수준에서 평가하였다.

결과 및 고찰

메를린 비트 새싹 및 뿌리 추출물의 항산화 활성

메를린 새싹 및 뿌리 추출물의 항산화능을 확인하기 위해 DPPH 라디칼 소거법을 이용하여 측정하였다. 비교적 안정한 자유라디칼인 DPPH는 항산화 물질과 반응하면 짙은 자색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 간단히 평가할 수 있다(Lee 등, 2008; Seo 등, 2010). 메를린 새싹 및 뿌리 추출물을 25~1,000 μ g/mL의 농도로 제조하여 DPPH 라디칼 소거능 및 EC₅₀ 값을 측정하였다. 그 결과 Fig. 1과 같이 메를린 새싹 및 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 메를린 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 3.4~70%를 나타내었고, 메를린 새싹 추출물은 16.7%~94.9% 사이의 소거 활성을 보였다. 전체적인 농도로 보았을 때 메를린 뿌리 추출물 보다 메를린 새싹 추출물의 소거 활성이 더 뛰어난 것으로 나타났다. 메를린 새싹 및 뿌리 추출물의 항산화 활성을 EC₅₀ 값으로 산출한 결과는 Table 1에 나타났다. 메를린 새싹의 EC₅₀ 값이 1.687 $\pm$ 0.175 μ g/mL, 메를린 뿌리는 7.457 $\pm$ 0.287 μ g/

Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of red beet extract. (A) Merlin root extract, (B) Merlin sprout extract. Values are expressed as mean $\pm$ SD of triplicate experiments. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

mL로 메를린 새싹이 뿌리보다 항산화능이 높은 것을 확인하였다. 과일, 채소와 같은 식물체에 함유된 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl(OH) 기를 가진 방향족 화합물로 다양한 구조와 분자량을 가진다. 폴리페놀 화합물들은 천연 항산화제로 기능이 잘 알려져 있으며 항암, 항산화 활성, 항균 등 다양한 생리 활성을 나타낸다(Choi 등, 2005; Kalt, 2005). 총 폴리페놀 함량은 고형분 시료 g당 gallic acid를 기준 물질로 하여 측정하였다. 메를린 새싹은 42.072 ± 0.202 mg GAE eq/g로 가장 높았고, 메를린 뿌리는 11.554 ± 0.158 mg GAE eq/g로 관찰되었다. 이와 같은 결과로 미루어보아 메를린 뿌리보다 메를린 새싹의 항산화 활성이 더 뛰어난 것으로 나타났다. Shin 등(2014)의 연구에서 적무(*Raphanus sativus* L. var. sativ) 새싹 추출물의 총 폴리페놀 함량은 21.83 ± 0.34 mg TAE/g의 함량으로 메를린 새싹 추출물의 항산화 활성이 더 뛰어나다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과를 통해 메를린 새싹 추출물은 천연 항산화제로서 활용 가치가 있을 것으로 판단된다.

NO 생성 억제 효과 및 LDH release를 이용한 세포독성

염증반응에 관여하는 주요 세포인 대식세포는 monocyte의 형태로 여러 자극이나 사이토카인 등에 의해 활성화된다. 대식세포는 염증 유발물질인 LPS에 의해 NO, iNOS, COX-2, prostaglandin E₂(PGE₂)의 생성이 증가됨으로써 통증, 부종 등의 염증반응을 유발한다(MacMicking 등, 1997; Kim 등, 2017). NO는 염증의 유발에 중요한 역할을 하는 신호 분자로 L-arginine을 L-citrulline으로 전환되는 과정에서 생성된다(Song 등, 2009). 따라서 메를린 새싹과 뿌리의 추출물이 염증성 매개 물질 NO의 생성 억제능을 조사하였다. RAW264.7 세포에 LPS(10 ng/mL)와 메를린 새싹과 뿌리 추출물(100, 200, 300, 400 µg/mL)을 처리하여 NO 생성량을 측정하였다(Fig. 2A). LPS를 처리했을 때 NO가

활발하게 생성되었으나 LPS 유도도 증가된 NO는 메를린 새싹과 뿌리 추출물 처리로 인해 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 메를린 새싹 추출물의 NO 생성 억제량은 400 µg/mL에서 약 22% 수준으로 유의하게($P < 0.001$) 감소하였고, 메를린 뿌리 추출물은 400 µg/mL에서 약 76% 수준으로 유의하게($P < 0.01$) NO 생성량이 감소하였다. 이를 통해 메를린 새싹 추출물이 뿌리 추출물에 비해 NO 생성 억제 효과가 높다는 것을 확인할 수 있었다.

또한, 같은 조건에서 LPS와 메를린 새싹 및 뿌리 추출물을 농도별로 처리하여 세포독성 효과를 확인하기 위해 LDH (lactate dehydrogenase) 활성을 측정하였다(Fig. 2B). 메를린 새싹과 뿌리 추출물의 LDH 활성은 처리한 모든 농도에서 무처리군과 유의적인 차이를 보이지 않았고, 이는 메를린 추출물이 측정 농도에서 세포독성을 갖고 있지 않아서 세포의 생존율에 영향을 주지 않는다고 사료된다. 위의 결과들로 NO 생성 억제능이 우수한 메를린 새싹 추출물이 뿌리 추출물보다 항염증에 효과가 뛰어날 것으로 예상되었다.

iNOS, COX-2 단백질 발현 효과 확인

iNOS와 COX-2는 대표적인 염증반응에 관여하는 효소로서 NO와 PGE₂의 생성을 조절한다. iNOS는 염증이 유발된 대식세포에서 NO를 생성시키고, 과도하게 생성된 NO는 조직의 손상, 부종 등의 염증반응을 촉진시킨다. 또한, COX-2는 염증성 자극에 반응하는 단백질로 다량의 PGE₂를 생성시킴으로써 염증을 유도한다(Crofford, 1997; Aktan, 2004). 따라서 LPS에 의해 활성화된 RAW264.7 세포로부터 발현되는 NO 합성 효소인 iNOS와 PGE₂ 합성 효소인 COX-2의 단백질 발현에 대한 메를린 새싹 추출물의 억제 효과를 확인하기 위해 western blot을 수행하였다(Fig. 3). iNOS와 COX-2 단백질의 발현은 RAW264.7 세포만 배양하였을 때는 거의 관찰되지 않았고, LPS 처리 후 발현이 증가하였으

Fig. 2. Inhibitory effects of Merlin sprout extract and Merlin root extract on nitric oxide (NO) production and LDH release in LPS-induced RAW264.7 cells. (A) The production of NO was assayed in the culture medium of cells treated with LPS (10 ng/mL) for 24 h in the presence of Merlin sprout extract and Merlin root extract (100, 200, 300, and 400 µg/mL). (B) Cytotoxicity was determined by LDH release assay. Values are expressed as mean±SD of triplicate experiments. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Fig. 3. Inhibitory effects of Merlin sprout extract on the protein level of iNOS and COX-2 in LPS-induced RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were treated with LPS (10 ng/mL) and sample for 24 h. Total iNOS and COX-2 protein levels were determined by western blot. Values are expressed as mean±SD of triplicate experiments. [#] $P<0.001$ (compared to the untreated control) or ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$ (compared to the LPS-treated group).

며 메를린 새싹을 처리했을 때 농도 의존적으로 발현을 억제하는 효과를 보였다. LPS에 의해 유도된 iNOS는 400 μg/mL 처리했을 때 32.7%, COX-2는 7.3%의 단백질 발현 감소 효과를 확인할 수 있었다($P<0.001$). 기존의 연구에서 레드비트 뿌리 추출물의 COX-2에 의한 PGE₂ 합성 억제보다 iNOS 발현 억제를 통한 NO 생성 억제 효과가 크다고 보고하였는데, 이는 메를린 새싹 추출물의 iNOS와 COX-2 발현 억제 결과와 유사한 것을 확인할 수 있었다(Yi 등, 2017). 이 결과로부터 메를린 새싹 추출물은 iNOS와 COX-2의 발현을 억제함으로써 NO 및 PGE₂의 생성을 억제하는 효과를 나타낸다고 할 수 있다.

IL-6 생성 억제 효과

염증반응이 유도되는 과정에서 펩티드성 염증인자인 cytokine이 생성되며 흔히 pro-inflammatory cytokine으로 불린다. 대표적인 cytokine으로는 IL-6, TNF-α(tumor necrosis factor-α), IL-1β가 있다. Cytokine은 면역세포의 활성화, 증식 및 분화를 조절하여 염증반응을 매개하는 인자로 대식세포에 LPS의 자극을 주면 IL-6, TNF-α, IL-1β의 분비가 촉진되고 염증반응은 가속화된다. 그중 IL-6는 림프계

Fig. 4. Effect of Merlin sprout extract on IL-6 production in LPS-induced RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were treated with 10 ng/mL of LPS only or with LPS plus various concentrations (100, 200, 300, and 400 μg/mL) of Merlin sprout extract for 24 h. Values are expressed as mean±SD of triplicate experiments. ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$.

세포와 섬유아세포 등에서 생성되며 체내에서 과잉 생성되면 악성종양, 감염성 질환 등의 염증성 질환을 유도하게 된다(Feghali와 Wright, 1997; Jeong 등, 2014a; Namkoong 등, 2015). 따라서 본 연구에서는 메를린 새싹과 뿌리 추출물의 IL-6 생성에 대한 억제 효과를 알아보기 위해 ELISA assay 방법으로 IL-6의 변화량을 측정하였다(Fig. 4). IL-6의 생성 억제 활성을 확인한 결과 최고 농도인 400 μg/mL 처리했을 때 메를린 새싹 추출물의 억제 활성이 99%, 메를린 뿌리 추출물의 억제 활성이 92%로 나타나 메를린 새싹 추출물이 메를린 비트 추출물보다 더 좋은 활성이 있는 것으로 확인되었다($P<0.001$). 이러한 결과는 메를린 새싹 추출물이 염증성 cytokine인 IL-6의 분비를 저해함으로써 항염증 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 결론적으로 메를린 새싹이 메를린 뿌리보다 우수한 항산화 및 항염증 활성이 높고 메를린 새싹이 항염증제로서의 소재 개발을 위한 활용 가능성이 높다고 판단되며 유효 성분에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 메를린 새싹 및 뿌리 추출물의 항산화 및 항염증 효과를 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능 및 총 폴리페놀 함량 측정, NO 저해 활성, iNOS 및 COX-2 단백질 발현 억제 효과, 염증성 cytokine 생성 억제를 측정하였다. 레드비트 새싹 및 뿌리 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 메를린 새싹 추출물이 메를린 뿌리에서 얻은 추출물들보다 약 1.3~4.4배 높은 항산화능을 갖고 있었으며, 총 폴리페놀 함량 또한 메를린 새싹이 42.072 mg/g으로 함량이 가장 높은 것을 확인하였다. LPS로 자극된 RAW

264.7 세포에서 메를린 새싹 추출물과 메를린 뿌리 추출물의 항염증 효과를 분석한 결과, 400 µg/mL 농도에서 메를린 새싹 추출물이 메를린 뿌리 추출물보다 높은 NO 생성 억제 효과를 보였다. 또한, 항염 활성 분석을 위해 iNOS와 COX-2의 발현 및 IL-6의 생성 억제 효능을 분석을 수행하였다. 메를린 새싹 추출물을 처리했을 때 iNOS 및 COX-2의 발현이 현저히 억제되었고, IL-6의 생성이 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인하였다. 이러한 결과들로부터 메를린 새싹과 추출물은 식품산업에 활용할 수 있으며, 안전한 항산화 및 항염증 물질 개발에 활용될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단 기초연구사업(2016R1A6A1A03012862) 및 농촌진흥청 연구사업(PJ014962)의 지원을 받아 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci.* 2004. 75:639-653.
- Babarykin D, Smirnova G, Pundinsh I, Vasiljeva S, Krumina G, Agejchenko V. Red beet (*Beta vulgaris*) impact on human health. *J Biosci Med.* 2019. 7:61-79.
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958. 181:1199-1200.
- Chen L, Tan GJT, Pang X, Yuan W, Lai S, Yang H. Energy regulated nutritive and antioxidant properties during the germination and sprouting of broccoli sprouts (*Brassica oleracea* var. *italica*). *J Agric Food Chem.* 2018. 66:6975-6985.
- Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, et al. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plant. *Korean J Food Sci Technol.* 2005. 37:549-556.
- Chon SU, Kim DK, Kim YM. Phenolics content and antioxidant activity of sprouts in several legume crops. *Korean J Plant Res.* 2013. 26:159-168.
- Crofford LJ. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. *J Rheumatol Suppl.* 1997. 49:15-19.
- Feghali CA, Wright TM. Cytokines in acute and chronic inflammation. *Front Biosci.* 1997. 2:12-26.
- Jeong DH, Kang BK, Kim KBWR, Kim MJ, Ahn DH. Anti-inflammatory activity of *Sargassum micracanthum* water extract. *J Appl Biol Chem.* 2014a. 57:227-234.
- Jeong SI, Kim HS, Jeon IH, Kang HJ, Mok JY, Cheon CJ, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Perilla frutescens*. *Korean J Food Sci Technol.* 2014b. 46:87-93.
- Jeong SY, Hwang HL, Ryu EK, Cha JS. Anti-inflammatory, anti-oxidant and melanin synthesis inhibitory effects of red kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) sprouts extract. *Korean Society of Cosmetics and Cosmetology.* 2018. 8:149-155.
- Jung YH, Ryu MJ. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of *Codonopsis lanceolata* skin extracts. *Asian J Beauty Cosmetol.* 2018. 16:347-357.
- Kalt W. Effect of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *J Food Sci.* 2005. 70:R11-R19.
- Kapadia GJ, Tokuda H, Konoshima T, Nishino H. Chemoprevention of lung and skin cancer by *Beta vulgaris* (beet) root extract. *Cancer Lett.* 1996. 100:211-214.
- Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol.* 2003. 24:25-29.
- Kim CH, Lee MA, Kim TW, Jang JY, Kim HJ. Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2012. 41:1645-1648.
- Kim MJ, Lee J, Kim SS, Seong KC, Lim CK, Park KJ, et al. Anti-inflammatory activity of *Wax apple* (*Syzygium samarangense*) extract from Jeju Island. *Korean Society of Biotechnology and Bioengineering Journal.* 2017. 32:245-250.
- Lee HJ, Kang GJ, Yoon WJ, Kang HK, Kim YS, Kim SM, et al. Anti-inflammatory effect of unripe fruit of *Citrus grandis* Osbeck in RAW264.7 and HaCaT cells. *Kor J Pharmacogn.* 2006. 37:74-80.
- Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, et al. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv.* 2008. 15:445-449.
- MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol.* 1997. 15:323-350.
- McDaniel ML, Kwon G, Hill JR, Marshall CA, Corbett JA. Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes. *Proc Soc Exp Biol.* 1996. 211:24-32.
- Namkoong S, Jang SA, Sohn EH, Bak JP, Sohn E, Koo HJ, et al. Comparative study of *Litsea japonica* leaf and fruit extract on the anti-inflammatory effects. *Korean J Plant Res.* 2015. 28:145-152.
- Ravichandran K, Ahmed AR, Knorr D, Smetanska I. The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Res Int.* 2012. 48:16-20.
- Seo EJ, Hong ES, Choi MH, Kim KS, Lee SJ. Antioxidant and skin whitening effects of *Rhamnus yoshinoi* extract. *Korean J Food Sci Technol.* 2010. 42:750-754.
- Shin GH, Lee YJ, Kim JW, Kim YH, Kim DB, Lee JS, et al. Antioxidant activities of commonly used *Brassica* spp. sprout vegetables in Korea. *Korean J Food Preserv.* 2014. 21:587-592.
- Simsek S, El SN, Kilinc AK, Karakaya S. Vegetable and fermented vegetable juices containing germinated seeds and sprouts of lentil and cowpea. *Food Chem.* 2014. 156:289-295.
- 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.* 1999. 299:152-178.
- Son HK, Lee YM, Lee JJ. Nutrient composition and antioxidative effects of young barley leaf. *Korean J Community Living Sci.* 2016. 27:851-862.
- Song KH, Kim M, Yu JS, Kim AK. The effect of L-arginine on antioxidant activity and melanogenesis in murine melanoma cells. *J Canver Prev.* 2009. 14:242-247.
- Vanderstoep J. Effect of germination on the nutritive value of legumes. *Food Technol.* 1981. 3:83-85.
- Yi MR, Kang CH, Bu HJ. Antioxidant and anti-inflammatory activity of extract from red beet (*Beta vulgaris*) root. *Korean J Food Preserv.* 2017. 24:413-420.