

추출 용매에 따른 브로콜리와 양배추 추출물의 항산화 활성

전경학¹ · 허승환¹ · 이유림¹ · 황은주¹ · 현지용¹ · 이유진¹ · 박재완² · 이혜윤^{1*} · 천지연^{1*}

¹제주대학교 식품생명공학과, ²제주농장 영농조합법인

Antioxidant Activity of Broccoli and Cabbage Depending on the Extraction Solvent

Kyeong-Hak Jeon¹, Seung-Hwan Heo¹, Yu-Lim Lee¹, Eun-Ju Hwang¹, Ji-Yong Hyun¹,
Yu-Jin Lee¹, Jae-Wan Park², Hye-Yoon Yi^{1*}, and Ji-Yeon Chun^{1*}

¹Department of Food Bioengineering, Jeju National University

²Jejufarm Agriculture Association Crop

Abstract

Broccoli and cabbage are known to have antioxidant, cholesterol-lowering, and anticancer effects due to their high bioactive component levels. This study applied 70% ethanol and hydrothermal extraction to separate bioactive components from broccoli and cabbage. 30°Brix extracts were freeze-dried and then diluted in various concentrations with distilled water for analysis. Total polyphenol contents, DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, ferric ion reducing antioxidant power, and hydrogen peroxide scavenging activity were analyzed. The diverse antioxidant assays, except DPPH radical scavenging activity, showed that hydrothermal extracts had significantly higher activity than the 70% ethanol extracts ($p < 0.05$). In this study, it suggested that hydrothermal extraction is relatively effective in producing broccoli and cabbage extracts. Moreover, hydrothermal extraction conditions could be low-cost and environmentally friendly.

Keywords: broccoli, cabbage, ethanol extracts, hydrothermal extracts, antioxidant activity

서 론

21세기 들어 우리의 삶은 빠르게 변화하고 있다. 특히 경제의 급격한 성장은 불규칙한 식사 및 식습관의 변화를 일으켰다. 이러한 식생활의 변화는 비만, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화와 같은 건강 문제로 이어졌다(Lee et al., 2017). 전 세계적으로 증가하고 있는 비만은 당뇨와 같은 만성질환과 암의 발병률을 증가시키고 이에 따른 의료비용의 부담을 가중시킬 수 있는 것으로 보고되었으며 이는 나이를 불문하고 건강에 대한 인식의 변화를 불러왔다(Kim et al., 2022). 또한, 고령화 시대에 접어들면서 건강증진을 목적으로 하는 헬스케어푸드에 대한 소비자들의 요구는 계속해서 높아지고 있다(Lee, 2020).

브로콜리(*Brassica oleracea* var. *italica*)는 십자화과(*Brassicaceae* spp.) 식물에 속하며, 국내 주요 재배지역으로는 제주도와 강원도, 충청도 등이 있다. 제주 지역의 경

우 브로콜리는 10월부터 3월까지 주로 생산되며 특히 기온이 낮은 1-2월은 다른 지역에 비해 기온이 높아 제주 지역에서만 생산된다(Ko et al., 2013). 제주산 브로콜리는 화퇴(꽃봉오리)의 밀도가 높고, 표면이 매끈하며 단맛이 강하고 상품성이 우수한 특징이 있다(Ko et al., 2013). 브로콜리의 생리활성 성분으로는 sulforaphane, β -carotene, vitamine B₁, vitamine B₂, vitamine C, tannins, polyphenols, potassium, selenium 등이 있으며 이러한 성분들이 항산화 및 항암 효과 그리고 혈중 콜레스테롤을 감소하는 등의 효과가 있다고 보고되었다(Kim et al., 2021). 특히 브로콜리의 기능성 성분으로 잘 알려진 sulforaphane은 전립선암, 대장암, 폐암 등과 같은 각종 암 발병률을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Kwak et al., 2017).

양배추(*Brassica oleracea* var. *capitata*) 또한 십자화과(*Brassicaceae* spp.)에 속하며, 최대생산지로는 제주 지역 중에서도 애월, 한림 등이 있고 12월에서 5월 사이에 노지에서 월동재배를 하고 있다(Ko et al., 2013). 양배추의 생리활성 성분으로는 lysine, linoleic acid, carotein, vitamine C, cellulose 그리고 식물체의 중요한 방어기작 역할을 하는 glucosinolates 등이 있으며, 이러한 성분들은 면역기능 활성화, 암 예방 그리고 항산화 효능을 증가시키는 것으로 보고된 바 있다(Hwang & Nhuan, 2015).

*Corresponding author: Hye-Yoon Yi and Ji-Yeon Chun, Department of Food Bioengineering, Jeju National University, 102, Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju-do 63243, Korea
Tel: +82-64-754-3615, Fax: +82-64-755-3601
E-mail: yiyh88@jejunu.ac.kr, chunjiyeon@jejunu.ac.kr
Received December 28, 2023; revised May 7, 2024; accepted May 21, 2024

다양한 천연자원에서부터 항산화 활성이 우수한 기능성 물질을 효과적으로 추출하기 위해서는 시간, 비용, 시설 공간 등을 종합적으로 고려한 최적의 추출공정을 확립하는 것이 중요하다(Mun et al., 2018). 유기용매 추출은 에탄올, 메탄올 등과 같은 유기용매를 사용하기 때문에 잔류 추출 용매의 독성에 대한 안전성 문제가 있다(Oh & Yoon, 2017). 반면 주정 추출은 물에 잘 녹지 않는 생리활성 물질들을 주정에 용해시킴으로써 추출이 용이해진다는 보고가 있다(Lim et al., 2019). 한편, 열수 추출은 주로 가용성 성분이 추출되며, 수율이 낮고 열에 민감한 물질들이 열처리 과정에서 손실된다는 단점이 있지만(Oh & Yoon, 2017) 페놀성 물질과 같은 생리활성물질이 다양한 화학적 변화에 의해 증가한다는 보고가 있다(Jeong et al., 2021).

본 연구에서는 제주산 브로콜리와 양배추를 주정추출과 열수추출하여 제조한 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성을 확인하여 가장 효과적인 추출방법을 제시하고, 향후 건강기능식품 소재 개발을 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

제주산 브로콜리와 양배추는 제주농장 영농조합법인으로부터 냉동상태의 것으로 받아 -20°C에서 냉동보관 하였으며, 사용 직전 상온에서 해동하여 세절한 뒤 시료로 사용하였다.

시료의 제조

브로콜리와 양배추 추출물 제조공정은 Fig. 1에 나타내었다. 원물과 용매는 3:7 (w/w)의 비율로 혼합하여 추출에 이용되었다. 주정 추출은 95% 발효주정을 70% 농도로 희석하여 추출용매로 사용하였으며 multi heating mantle (MS-EAM9203-06, Miseong Science, Seoul, Korea)을 이용한 환류 추출법(reflux extraction method)으로 진행하였다. 열수 추출은 대량생산공정을 고려하여 autoclave steam sterilizer (JSAC-40, JSR, Gongju, Korea)를 이용하여 107°C, 0.15 MPa 조건에서 8시간 동안 진행하였다. 이후 추출물은 100 mesh의 표준체로 여과 후 회전 증발 농축기(TYPE N-1300, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하였고 전자 당도계(PAL-BX | ACID181 Master Kit, ATAGO Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 확인하여 30°Brix에 도달하면 농축을 중단하였다. 얻어진 농축액은 -80°C 초저온 냉동고(CB1232, LK LAB Korea, Gyeonggi, Korea)에서 24시간 이상 예냉과정을 거친 후, 동결건조기(LP 20, IIShinBioBase, Maxwellstraat, Netherlands)를 이용하여 72시간 동안 건조하였다. 이후 시료를 믹서기로 분쇄 후 100 mesh 체에 1회 여과시켜 얻어진 분말을 최종 시료로 사용하였다.

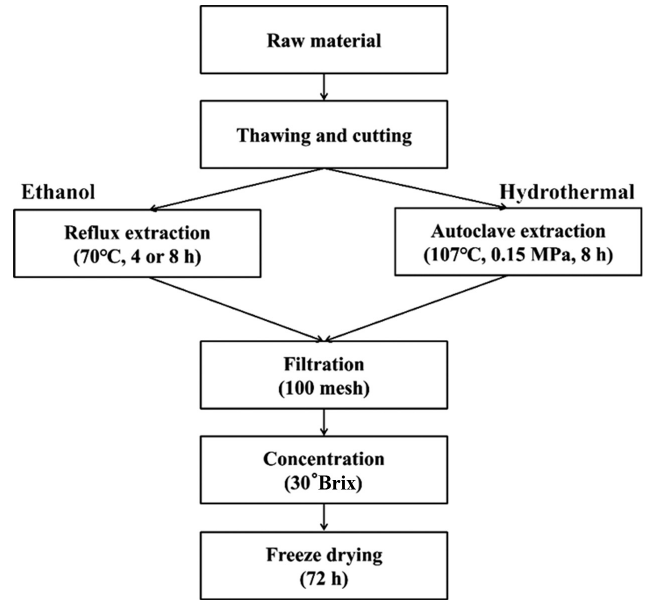


Fig. 1. Extraction process of ethanol and hydrothermal extracts of broccoli and cabbage.

총 폴리페놀 함량

제주산 브로콜리와 양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 Folin & Denis (1912)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 브로콜리와 양배추의 주정 추출시간 확립을 위해 2, 4, 6, 8시간별로 회수된 추출물은 여과 후 30°Brix까지 농축된 농축액을 증류수에 희석하여 62.5 µL/mL의 농도로 만든 후 분석에 사용하였다. 시료 0.1 mL과 증류수 0.75 mL, Folin-Denis 0.05 mL과 35% Na₂CO₃ 0.1 mL을 혼합하여 상온의 암소에서 30분간 반응시켰다. 반응액 200 µL를 96 well plate에 넣은 후 microplate reader (Epoch™, BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid (G7384, Sigma Aldrich)를 이용하여 만든 검량선을 통해 함량을 구했으며, 농축액 1 mL 또는 동결건조물 1 g 중의 mg gallic acid equivalents (GAE)로 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity

DPPH radical을 이용한 항산화력 측정은 Kim et al. (2007)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 10 µL에 0.2 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) solution 190 µL를 가한 후 혼합하여 암소에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm의 파장에서 흡광도(absorbance, Abs)를 측정하고 아래의 계산식을 이용하여 DPPH radical scavenging activity를 구하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid (A92902, Sigma Aldrich)를 농도별로 희석한 것을 시료액으로 하여 실험에 사용하였으며, 각 실험은 3회 반복 수행하여 평균값으로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} \\ = \frac{1 - (Abs_{sample} - Abs_{blank})}{Abs_{control}} \times 100$$

Abs_{sample} : sample + reagent

Abs_{blank} : sample + D.W

$Abs_{control}$: D.W + reagent

ABTS radical scavenging activity

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 Re et al. (1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid)]와 2.6 mM potassium persulfate를 제조 후 1:1로 혼합하여 실온의 암소에서 24시간 반응시켜 ABTS 양이온을 형성하였으며, 732 nm에서 0.70 ± 0.02 의 흡광도가 되도록 phosphate buffer saline (pH 7.4)으로 희석하여 실험에 사용하였다. 시료 50 μL 와 희석된 ABTS 용액 950 μL 를 혼합하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 732 nm 파장에서 흡광도를 측정 후 아래의 식으로 환산하여 활성을 산출하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였으며, 각 실험은 3회 반복 수행하여 평균값으로 나타내었다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} \\ = \frac{1 - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100$$

Abs_{sample} : sample + reagent

$Abs_{control}$: D.W + reagent

Ferric ion reducing antioxidant power

FRAP 시험은 Benzie & Strain (1996)의 방법을 이용하였다. 시료의 FRAP 활성은 300 mM acetate buffer (pH 3.6)와 40 mM HCl에 용해시킨 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 그리고 증류수에 희석한 20 mM FeCl_3 을 10:1:1 (v/v/v) 비율로 혼합하여 FRAP 용액을 제조하였다. 시료 30 μL , 증류수 90 μL , FRAP 용액 900 μL 를 혼합한 뒤 37°C에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 593 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. FRAP 활성은 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 이용한 표준곡선으로부터 구하였다. 각 실험은 3회 반복 수행하여 평균값으로 나타내었다.

Hydrogen peroxide scavenging activity

Heo et al. (2005)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에서 시료 20 μL 와 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4) 100 μL 그리고 1 mM H_2O_2 20 μL 를 혼합한 후 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1.25 mM ABTS 30 μL 와 1 U/mL peroxidase 30 μL 를 첨가하였다. 이후 37°C에서 10분간 다시 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 405 nm에서 흡광

도를 측정하였다. 이후 측정값을 아래의 식에 대입하여 계산하였으며 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{Hydrogen peroxide scavenging activity (\%)} \\ = \left[1 - \frac{(Abs_{sample} - Abs_{sample control})}{Abs_{blank}} \right] \times 100$$

Abs_{sample} : sample + reagent

$Abs_{sample control}$: sample + D.W

Abs_{blank} : D.W + reagent

통계처리

본 실험은 3회 이상 반복 실험하여 평균값을 구하였고 각 실험별로 유의성을 검증하였다. 통계분석은 Minitab ver. 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA)을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증($p < 0.05$)은 Tukey's multiple range test를 통하여 실시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

항산화 활성은 페놀성 화합물의 함량이 많을수록 증가하며 체내에서 정상작용, 콜레스테롤 저하, 항암작용 등과 같은 생리활성 기능을 한다고 보고되었다(Jang et al., 2012). 따라서 본 연구에서는 브로콜리와 양배추의 최적 주정 추출 시간 확립을 위해 총 폴리페놀 함량을 분석하였으며 결과는 Fig. 2와 같다. 브로콜리의 경우 추출시간이 경과함에 따라 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 8시간 추출물에서 3.4 mg GAE/g으로 가장 높은 값을 나타냈다. 양배추의 경우 6시간 추출물에서 유의적으로 낮게 측정되었으며($p < 0.05$) 그 외 2, 4, 8시간 추출물에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 총 폴리페놀 함량 결과와 함께 공정효율 등을 고려하여 브로콜리는 8시간, 양배추는 4시간을 최적 추출시간으로 선택하였다.

추출용매에 따른 브로콜리와 양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량 결과는 Fig. 3과 같다. 브로콜리 추출물의 농도에 따른 총 폴리페놀 함량은 열수 추출물, 주정 추출물 모두 농도가 증가할수록 총 폴리페놀 함량도 유의적으로 높게 측정되는 경향을 보였다($p < 0.05$). 주정 추출물과 열수 추출물 100 mg/mL의 농도에서 총 폴리페놀 함량은 각각 39.7 mg GAE/g, 47.9 mg GAE/g으로 가장 높게 측정되었으며, 100 mg/mL보다 낮은 농도에서도 주정 추출물보다 열수 추출물에서 총 폴리페놀이 함량이 유의적으로 높게 측정되었다($p < 0.05$). 양배추 추출물의 농도에 따른 총 폴리페놀 함량은 열수 추출물, 주정 추출물 모두 농도가 증가할수록 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 높게 측정되는 경향을 보였다($p < 0.05$). 주정 추출물과 열수 추출물 100 mg/mL의 농도에서 총 폴리페놀 함량은 각각 26.5 mg GAE/g, 47.4 mg GAE/g으로 가장 높게

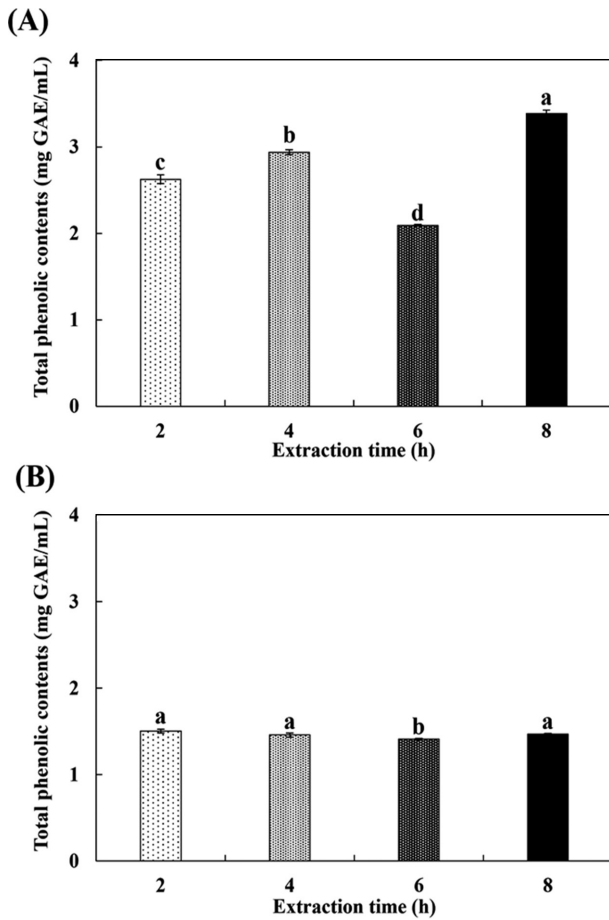


Fig. 2. Total phenolic contents of broccoli (A) and cabbage (B) extracts using 70% ethanol according to the extraction time. Error bars indicate standard deviation. Different letters (a-d) indicate significant difference ($p < 0.05$) among extraction time.

측정되었으며, 100 mg/mL보다 낮은 농도에서도 주정 추출물보다 열수 추출물에서 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 높게 측정되었다($p < 0.05$).

Kim (2018)과 Jeong & Cho (2022)의 연구에서 브로콜리는 열수 추출물보다 주정 추출물에서 폴리페놀 함량이 높게 측정되었다고 보고하였다. 양배추 추출물의 경우도 총 폴리페놀 함량은 열수 추출물보다 주정 추출물에서 높게 나타났다고 보고하였다(Ha & Lee, 2014; Hwang, 2019). 또한, Yang et al. (2006)은 인삼의 열처리 온도와 시간이 증가할수록 폴리페놀 함량이 증가한다고 보고하였다. 다양한 연구에서 보고했듯이 추출조건에 따라 브로콜리 및 양배추 추출물의 총 폴리페놀 함량 결과는 다르게 나타날 수 있으며, 대부분 열수 추출물이 낮은 총 폴리페놀 함량을 나타냈다. 하지만 본 연구에서 브로콜리와 양배추 열수 추출물의 총 폴리페놀 함량이 높게 나타난 것은 Yang et al. (2006)의 연구 결과와 유사하게 높은 물의 온도와 압력(107°C, 0.15 MPa)에서 장시간(8시간) 추출하여 나타난 결과로 생각된다.

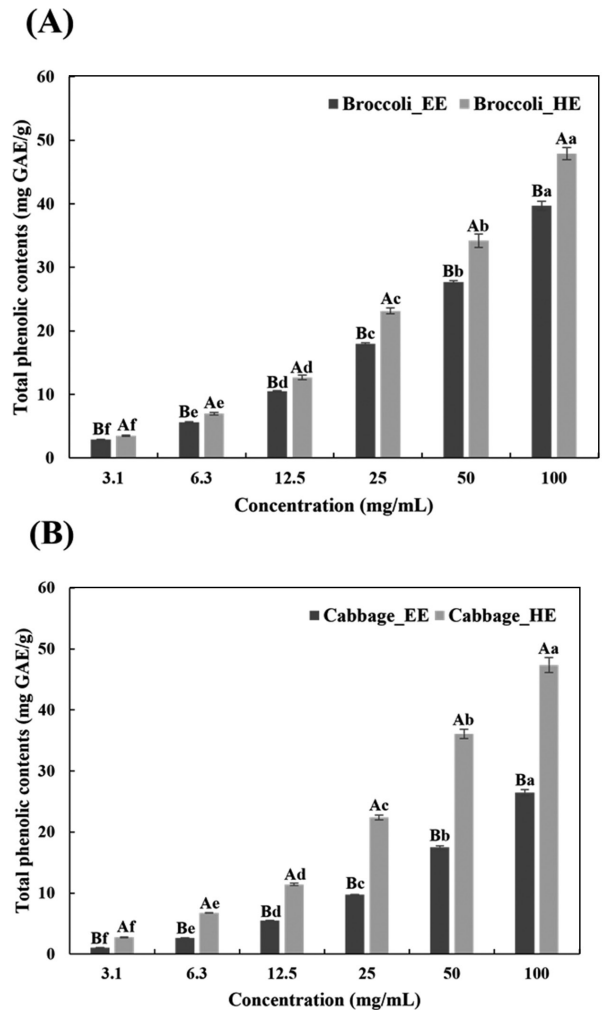


Fig. 3. Effect of extraction method on total phenolic contents at various concentrations of broccoli (A) and cabbage (B) extracts. Error bars indicate standard deviation. Different capital letters (A-B) denote significant difference ($p < 0.05$) between ethanol and hydrothermal extraction method. Different small letters (a-f) denote significant difference ($p < 0.05$) among concentration. EE: ethanol extraction, HE: hydrothermal extraction.

DPPH radical scavenging activity

DPPH radical 소거 활성은 항산화 실험 중에서 가장 많이 사용되는 시험법 중 하나로 알려져 있으며(Lee et al., 2011), DPPH가 추출물로부터 전자나 수소를 받아 환원됨에 따라 보라색에서 노란색으로 변하는 색의 변화에 의해 항산화 활성을 관찰한다(Hyun et al., 2019). 추출 용매에 따른 브로콜리와 양배추의 DPPH radical 소거 활성의 결과는 Fig. 4와 같다. 추출 용매에 관계없이 브로콜리 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH radical의 소거 활성이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 100 mg/mL 농도에서 DPPH radical의 소거 활성은 주정 추출물과 열수 추출물 각각 69.2%와 81.6%로 열수 추출물에서 더 높은 것을 확인하였다. 3.1-12.5 mg/mL

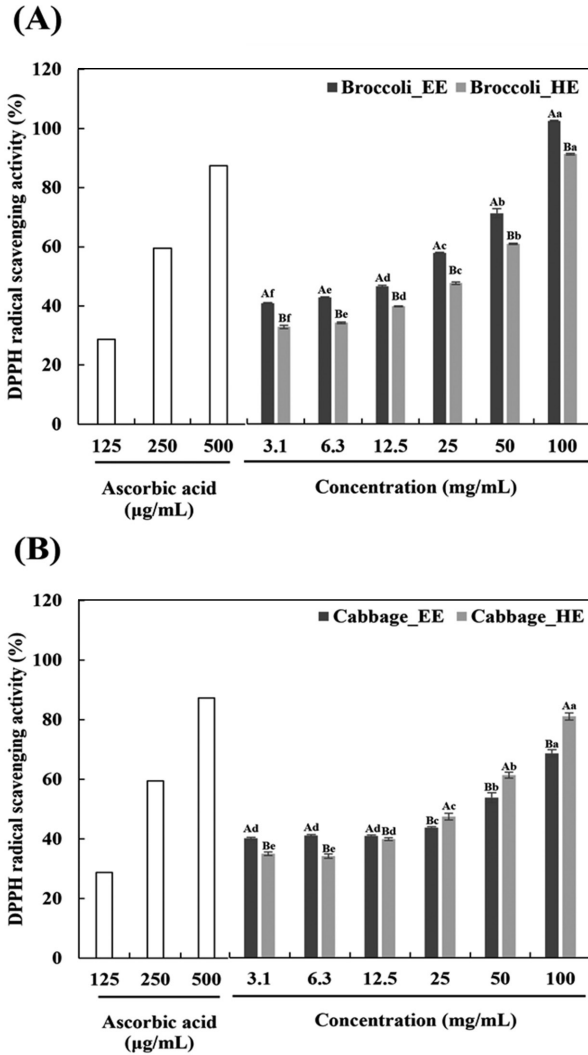


Fig. 4. Effect of extraction method on DPPH radical scavenging activity of at various concentrations of broccoli (A) and cabbage (B) extracts. Error bars indicate standard deviation. Different capital letters (A-B) denote significant difference ($p < 0.05$) among extraction methods. Different small letters (a-e) denote significant difference ($p < 0.05$) among concentration. EE: ethanol extraction, HE: hydrothermal extraction.

의 농도에서는 주정 추출물의 DPPH radical 소거 활성이 높았으며 25 mg/mL 이상의 농도에서는 열수 추출물의 DPPH radical 소거 활성이 더 높은 것을 확인하였다.

양배추의 주정 추출물과 열수 추출물 모두 농도 100 mg/mL, 열수 추출물 50 mg/mL의 농도에서 대조군인 ascorbic acid 250 µg/mL의 DPPH radical 소거 활성보다 높은 활성을 가지는 것으로 확인되었다. Lee & Park (2005)은 브로콜리의 주정 추출물보다 열수 추출물에서 DPPH radical 소거 활성이 높게 나타났다고 보고하였으며, 본 실험과 유사한 결과를 보였다. Hwang (2019)의 연구에서는 방울양배추의 추출 용매를 증류수 또는 80% 에탄올로 하여 65°C와 80°C에서 2

시간 동안 추출하였을 때, 본 연구 결과와는 다르게 열수 추출물보다 에탄올 추출물에서 DPPH radical 소거 활성이 높게 측정되었다고 보고하였다. 반면, Jeong & Cho (2022)는 5종의 십자화과(브로콜리, 양배추, 배추, 청경채, 무) 비가식 부위를 물 또는 70% 에탄올 추출물로 제조하였을 때, 브로콜리를 제외한 4종의 열수 추출물은 70% 에탄올 추출물보다 높은 DPPH radical 소거 활성을 보여 본 연구와 유사한 결과를 확인하였다.

Pellegrini et al. (2010)의 연구에 의하면 끓는 물에서 양배추를 가열하면 항산화 활성이 증가한다고 보고하였으며, Son et al. (2010)은 고온고압의 조건에서 추출할 경우 추출물의 항산화 활성은 증가한다고 보고하였다. 결과적으로, 본 연구에서는 고온고압 환경에서 양배추의 열수 추출을 진행하였기 때문에 양배추의 DPPH radical 소거 활성이 높게 측정되었다고 판단된다.

ABTS radical scavenging activity

ABTS radical 소거 활성은 ABTS와 potassium persulfate가 반응하여 전자를 잃고 ABTS radical을 형성하며 짙은 청록색을 띄게 된다. 이후 산화방지제의 전자 공여 능력으로 인해 색이 연해지는 정도를 확인하여 시료의 항산화능을 확인할 수 있다(Ko et al., 2022; Yi, 2023). 추출 용매에 따른 브로콜리와 양배추 추출물의 ABTS radical 소거 활성의 결과는 Fig. 5와 같다. 브로콜리와 양배추 모두 추출 용매와 관계없이 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거 활성이 증가하다가 감소하는 경향을 보였다. 브로콜리 주정 추출물의 경우 3.1-25 mg/mL의 농도에서는 추출물 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거 활성이 유의적으로 증가하는 경향을 보이다가($p < 0.05$), 50 mg/mL의 농도부터는 활성이 감소하는 경향을 보여 25 mg/mL의 농도에서 가장 높은 ABTS radical 소거 활성(85.7%)을 나타내었다(Fig. 5A). 브로콜리 열수 추출물의 경우 12.5 mg/mL 이상의 농도에서 모두 80% 이상의 ABTS radical 소거 활성을 보였으며, 12.5-25 mg/mL에서 88.1%의 ABTS radical 소거 활성이 가장 높았다. 브로콜리의 열수추출물과 주정추출물의 농도 12.5 mg/mL에서 양성대조군인 ascorbic acid 125 µg/mL의 ABTS radical 소거 활성보다 높은 활성을 가지는 것으로 확인되었으며, 주정 추출물보다 열수 추출물의 ABTS radical 소거 활성이 높은 것으로 확인되었다.

양배추 추출물의 농도 3.1-50 mg/mL까지는 시료 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거 활성도 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 열수 추출물과 주정 추출물 모두 100 mg/mL의 농도에서 다소 감소하였다. 양배추 주정 추출물(85.7%)과 열수 추출물(88.1%)은 각각 50 mg/mL, 25 mg/mL의 농도에서 가장 높은 ABTS radical 소거 활성을 보였다. 양배추 열수 추출물의 경우 12.5 mg/mL 이상의 농도에서는 모두 ascorbic acid (250 µg/mL)보다 높은 ABTS radical 소

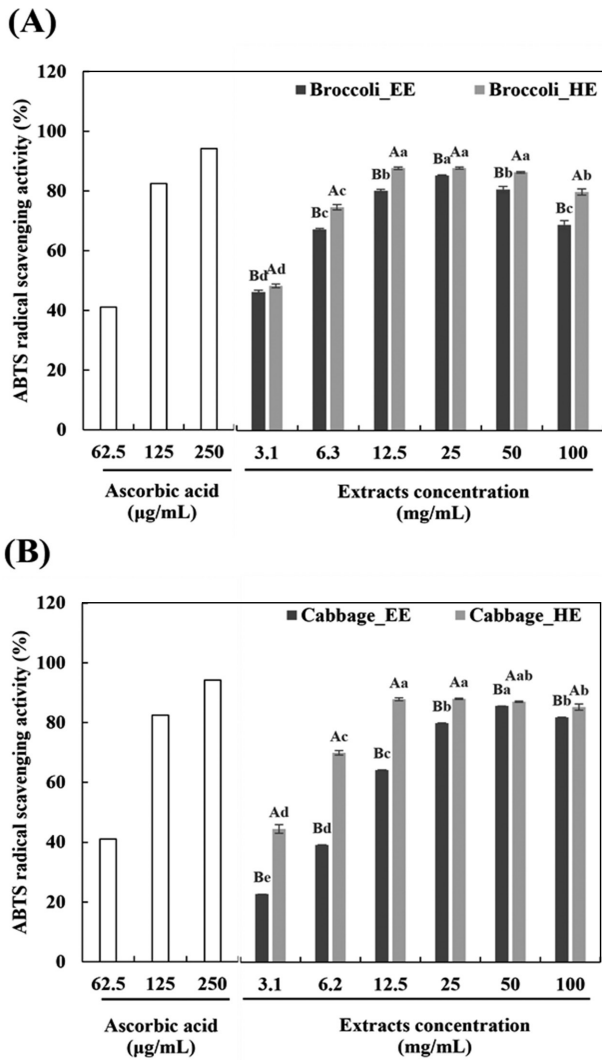


Fig. 5. Effect of extraction method on ABTS radical scavenging activity of at various concentrations of broccoli (A) and cabbage (B) extracts. Error bars indicate standard deviation. Different capital letters (A-B) denote significant difference ($p < 0.05$) among extraction methods. Different small letters (a-e) denote significant difference ($p < 0.05$) among concentration. EE: ethanol extraction, HE: hydrothermal extraction.

거 활성을 가지는 것으로 나타났다. 결과적으로, 양배추 주정 추출물(25 mg/mL)은 열수 추출물(12.5 mg/mL)보다 높은 농도에서 250 µg/mL의 ascorbic acid(양성대조군)와 유사한 ABTS radical 소거 활성을 가지는 것으로 확인되었다. Kim (2018)과 Hwang (2019)은 브로콜리와 양배추의 주정 추출물이 열수 추출물보다 높은 ABTS radical 소거 활성을 가지는 것으로 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 브로콜리와 양배추의 열수 추출물에서 ABTS radical 소거 활성이 높게 측정되었는데, 이는 DPPH radical 소거 활성 결과와 마찬가지로 상대적으로 높은 온도와 압력 조건에서 열수 추출을 진행하였기 때문인 것으로 생각된다(Son et al., 2010).

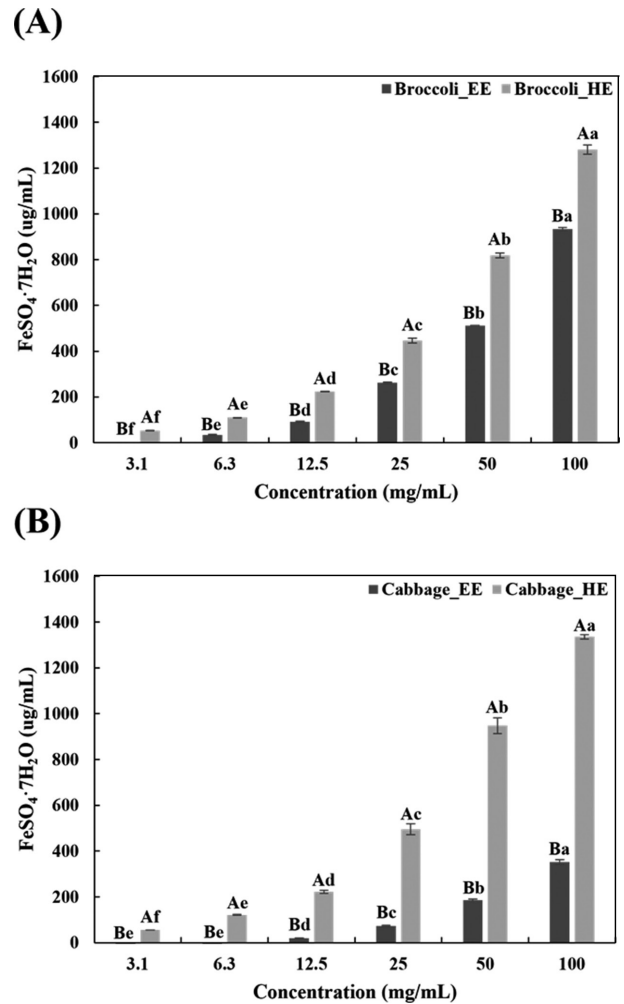


Fig. 6. Effect of extraction method on ferric ion reducing antioxidant power at various concentrations of broccoli (A) and cabbage (B) extracts. Error bars indicate standard deviation. Different capital letters (A-B) denote significant difference ($p < 0.05$) among extraction methods. Different small letters (a-f) denote significant difference ($p < 0.05$) among concentration. EE: ethanol extraction, HE: hydrothermal extraction.

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP 활성은 항산화 물질에 의해 Fe^{3+} -TPTZ가 Fe^{2+} -TPTZ로 환원되는 원리이며 항산화 물질이 많을수록 반응 시 청남색이 짙게 나타난다(Yeo et al., 2017). 추출 용매에 따른 브로콜리와 양배추의 FRAP 결과는 Fig. 6과 같다. 브로콜리 주정 추출물의 경우 저농도(3.1 mg/mL)에서는 FRAP 값이 나타나지 않았으나, 추출물 농도가 증가함에 따라 FRAP 값은 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며($p < 0.05$), 100 mg/mL에서 934.0 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ µg/mL로 가장 높게 측정되었다(Fig. 6A). 열수 추출의 경우도 마찬가지로 농도가 증가함에 따라 FRAP 값이 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 100 mg/mL에서 1280.1 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ µg/mL로 추출물의 FRAP 값은

주정 추출물보다 열수 추출물에서 높은 것으로 나타났다.

양배추 주정 추출물의 경우 3.1, 6.3 mg/mL의 농도에서 FRAP 값이 나타나지 않았다. 12.5 mg/mL부터 추출물 농도가 증가할수록 FRAP 값은 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며($p < 0.05$), 100 mg/mL 농도에서 352.2 FeSO₄·H₂O µg/mL로 가장 높게 측정되었다. 열수 추출물의 경우 농도가 증가함에 따라 FRAP 값도 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 100 mg/mL 농도에서 1335.0 FeSO₄·H₂O µg/mL로 주정 추출물의 FRAP 값 보다 3배 이상 높은 결과를 보였다. 추출 용매에 따른 양배추 추출물의 FRAP 값은 주정 추출물보다 열수 추출물에서 높게 측정되었다. 다양한 연구에서 브로콜리와 양배추는 열수 추출물보다 주정 추출물에서 더 높은 FRAP 값을 가지는 것으로 보고된 바 있다(Kim et al., 2016; Jeong & Cho, 2022). 또한, Son et al. (2010)은 자소와 자소씨를 높은 온도와 압력(121°C, 1.5기압) 조건에서 열수 추출 시 50% 에탄올 추출물보다 더 높은 항산화 활성을 보였다고 보고하였다. 이처럼 본 연구에서도 DPPH와 ABTS radical 소거 활성 결과와 마찬가지로 고온 고압의 열수 추출 조건에 따른 결과로 판단된다.

Hydrogen peroxide scavenging activity

Hydrogen peroxide는 활성산소종의 일종으로 반응성이 강하여 고분자인 단백질과 지질의 손상을 일으켜 생체기능 저하나 만성질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(Kim, 2020). 추출 용매에 따른 브로콜리와 양배추 추출물의 hydrogen peroxide 소거 활성 결과는 Fig. 7과 같다. 브로콜리 주정 추출물의 경우 12.5 mg/mL까지는 농도가 증가함에 따라 hydrogen peroxide 소거 활성이 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$), 그 이상의 농도에서는 유의적인 차이를 보이지 않는 것으로 나타났다($p > 0.05$). 열수 추출물의 경우 농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하였고($p < 0.05$), 추출 용매에 따른 브로콜리 추출물의 hydrogen peroxide 소거 활성은 3.1 mg/mL와 100 mg/mL의 농도에서는 유의적인 차이가 없었으며($p > 0.05$) 그 외에 농도에서는 주정 추출물 보다 열수 추출물의 hydrogen peroxide 소거 활성이 유의적으로 높은 것으로 확인되었다. 브로콜리의 주정 추출물은 6.3 mg/mL 이상의 농도에서 모두 양성대조군인 ascorbic acid 50 µg/mL보다 높은 hydrogen peroxide 소거 활성을 가지는 것으로 나타났다.

양배추의 주정 추출물 농도가 증가함에 따라 hydrogen peroxide 소거 활성도 증가하는 경향을 나타내었다. 3.1-25 mg/mL의 농도에서 hydrogen peroxide 소거 활성 값의 증가 폭이 작았지만 50 mg/mL 이상의 농도에서 급격하게 증가하여 90% 이상의 높은 hydrogen peroxide 소거 활성이 확인되었다. 열수 추출물의 경우 추출물의 농도가 증가함에 따라 hydrogen peroxide 소거 활성이 유의적으로 증가하였지만($p < 0.05$), 100 mg/mL의 농도에서 다소 감소하였다. 추출 용

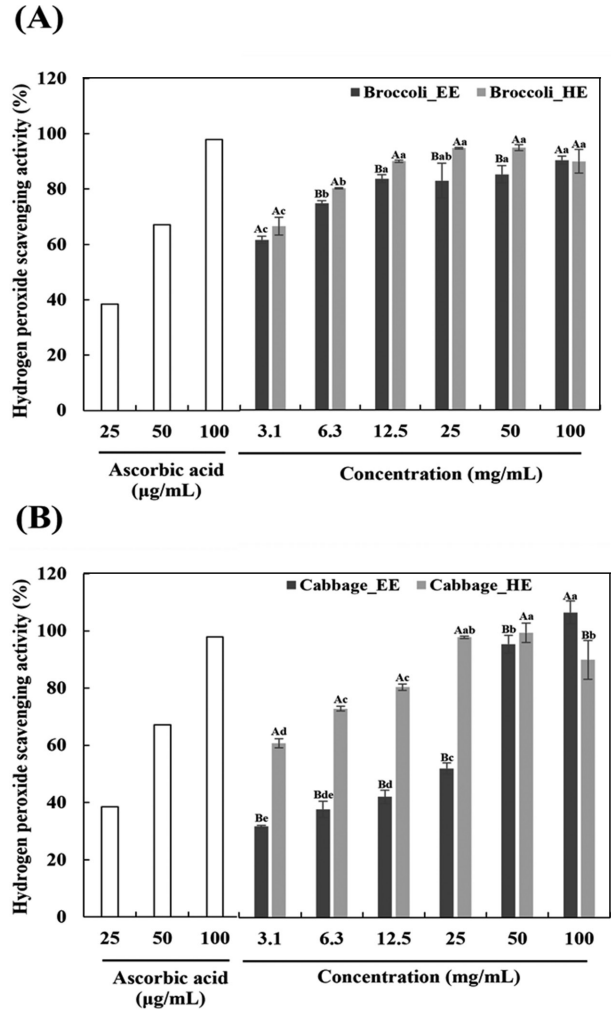


Fig. 7. Effect of extraction method on hydrogen peroxide scavenging activity at various concentrations of broccoli (A) and cabbage (B) extracts. Error bars indicate standard deviation. Different capital letters (A-B) denote significant difference ($p < 0.05$) among extraction methods. Different small letters (a-f) denote significant difference ($p < 0.05$) among concentration. EE: ethanol extraction, HE: hydrothermal extraction

매에 따른 양배추 추출물의 hydrogen peroxide 소거 활성은 100 mg/mL를 제외하고는 주정 추출물보다 열수 추출물에서 유의적으로 높게 측정되었다($p < 0.05$). 양배추의 주정 추출물은 50 mg/mL 이상의 농도에서 90% 이상의 hydrogen peroxide 소거 활성을, 열수 추출물은 25 mg/mL 이상의 농도에서 90% 이상의 hydrogen peroxide 소거 활성을 보였으며, 이 값들은 대조군인 ascorbic acid 100 µg/mL 농도에서의 hydrogen peroxide 소거 활성보다 높은 것으로 확인되었다. 본 연구에서 hydrogen peroxide 소거 활성이 열수 추출물에서 높게 나타난 것은 오토클레이브를 이용한 자소와 자소씨 추출물(Son et al., 2010), 고온고압 열처리 장치를 이용한 감초 추출물(Hwang et al., 2011)에서 에탄올 추출물보다

더 높은 항산화 결과를 보인 것과 유사하게, 브로콜리와 양배추의 열수 추출물이 주정 추출물보다 더 높은 hydrogen peroxide 소거 활성을 보인 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 주정과 열수 추출을 통해 얻은 브로콜리와 양배추의 추출물을 농축 후 동결 건조하여 얻은 분말을 증류수에 농도별로 희석한 후, 총 폴리페놀 함량과 다양한 *in vitro* 항산화 시험(DPPH·ABTS radical 소거 활성, Ferric ion reducing antioxidant power, hydrogen peroxide 소거 활성)을 진행하였다. 브로콜리와 양배추 추출물의 농도가 증가함에 따라 총 폴리페놀 및 항산화 활성이 높게 나타났으며, 총 폴리페놀 함량의 경우 모두 열수 추출물에서 높게 측정이 된 것을 확인할 수 있었다. DPPH radical 소거 활성을 제외한 *in vitro* 항산화 실험에서 열수 추출물은 주정 추출물보다 높은 항산화 활성을 보였다. 이는 오토클레이브를 이용한 고온 고압의 환경에서 열수 추출을 진행한 것에 따른 결과로 판단되며 이렇게 제조된 열수 추출물이 주정 추출물과 유사하거나 높은 항산화 활성을 나타낼 수 있다면 대량생산 시 저비용 친환경 추출공정으로서 활용 가능성이 높다고 판단된다. 따라서, 본 연구에서는 주정추출보다 열수추출을 통해 브로콜리와 양배추의 생리활성 물질들을 보다 효과적으로 추출할 수 있는 것으로 확인되며, 이를 토대로 브로콜리와 양배추 추출물을 활용한 기능성 식품 소재 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2023년도 정부(산업통상자원부)의 재원으로 한국산업기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구(P0024160, 2023년 지역혁신클러스터육성) 및 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 “지역혁신클러스터육성(R&D, P0025271)” 사업의 지원을 받아 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

References

Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.

Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagent. *J. Biol. Chem.* 7: 239-243.

Ha HJ, Lee CB. 2014. Antioxidant and anti-inflammation activity of red cabbage extract. *Culi. Sci. & Hos. Res.* 20: 16-26.

Heo SJ, Pakr EJ, Lee KW, YJ Jeon. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour. Technol.* 96: 1613-1623.

Hwang ES, Nhuan DT. 2015. Impact of cooking method on bioactive compound content and antioxidant capacity of cabbage.

Korean J. Food Sci. Technol. 47: 184-190.

Hwang ES. 2019. Effect of cooking methods on bioactive compound contents and antioxidant activities of brussels sprouts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 48: 1061-1069.

Hwang IG, Woo KS, Jeong HS. 2011. Biological activity and heat treatment processing of foods. *Food Sci. Ind.* 44: 56-65.

Hyun JE, Kim HY, Chun JY. 2019. Effect of jeju’s tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) on antioxidant activity and physicochemical properties of chicken meat emulsion-type sausage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 48: 231-236.

Jang SO, Kim MR, Hong KW. 2012. Chemical characteristics and antioxidant activity of red ginseng oil produced in a process where saponin is extracted from red ginseng. *Food Eng. Prog.* 16: 369-373.

Jeong JH, Kim JS, Lee HH. 2021. Analysis of antioxidant activities and marker components of *Dendropanax moribifera* leveille according to extraction solvents. *Journal of the Korea Academia-Industrial.* 22: 718-729.

Jeong MS, Cho SJ. 2022. Assessment of the nutritional and antioxidant properties of five *Brassicaceae* (*Cruciferae*) vegetable by-products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 51: 1166-1170.

Kim DY, Cho SC, Kwon HS, Kim MK. 2016. Cosmeceutical activities of broccoli extracts. *J. Korean Soc. Beauty Art.* 17: 29-30.

Kim HY. 2020. Characterization of protactia breccitarsis larva powder and enzymatic protein hydrolysates. Master’s thesis, Jeju National University, Jeju, Korea.

Kim HJ, Park J, Ha MR, Kim YJ, Kim C, Kim OY. 2022. Changes in body composition, body balance, metabolic parameters and eating behavior among overweight and obese women due to adherence to the Pilates exercise program. *J. Nutr. Health.* 55: 642-655.

Kim JY, Lee JA, Kim KN, Yoon WJ, Lee WJ, Park SY. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 663-669.

Kim KH, Jang MH, Kang KO. 2021. Antioxidant effect of barley (*Hordeum vulgare* L.) broccoli (*Brassica oleracea*), and buckwheat (*Fagopyrum spp.*) sprout according to cooking methods. *Food Serv. Ind. J.* 4: 69-83.

Kim MK. 2018. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory activities of broccoli leaf extracts. *J. Invest. Cosmetol.* 14: 153-159.

Ko AR, Nam JH, Jin HJ, Im JH, Kim HS, Chun JY. 2022. Effect of hot air or combined drying treatment on physicochemical properties and antioxidant activity of jeju beets. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 51: 588-599.

Ko SB, Kim SB, Kwak JH. 2013. Broccoli. In: History of Korean Horticulture, editor. Korean Society for Horticultural Science. 2013. p. 115-117.

Kwak BS, Park HR, Lee SJ, Choi HJ, Shin KS. 2017. Chemical properties and assessment of immunomodulatory activities of extracts isolated from broccoli. *Korean J. Food Nutr.* 30: 1140-1148.

Lee EH, Kim BH, Jo YJ. 2017. Inhibitory activities on biological enzymes of extracts from *Oplismenus undulatifolius*. *J. Appl. Biol.*

- Chem. 60: 101-108.
- Lee HS. 2020. Medi-food drink selection attribute and behavioral intention based on the consumers' lifestyle. Korean J. Tour. Res. 35: 173-192.
- Lee HS, Park YW. 2005. Antioxidant activity and antibacterial activities from different parts of broccoli extracts under high temperature. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 759-964.
- Lee SY, Kim DH, Woo WH. 2011. Antioxidant activity of black *Panax ginseng*. J. Korean Ori. Physiol. Pathol. 25: 115-121.
- Lim MJ, Gu YR, Hong JH. 2019. Extraction solvent-dependent antioxidant activities and cancer cell growth inhibitory effects of *Scutellaria baicalensis* extracts. Korean J. Food Preserv. 26: 566-575.
- Mun MJ, Park KH, Choi HJ, Shin KS. 2018. Biological activity of supercritical extraction residue 60% ethanolic extracts from *Ulmus davidiana*. J. Converg. Inf. Technol. 8: 29-36.
- Oh MH, Yoon KY. 2017. Biological activity of crude polyphenol fractions of *Cedrela sinensis* isolated using different extraction methods. Korean J. Food Sci. Technol. 49: 438-443.
- 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: 4310-4321.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26: 1231-1237.
- Son HW, Heo JC, Seo MS, Lee SH. 2010. Effects of *Perilla frutescens* L. on anti-oxidant and anti-inflammation activity. Korean J. Food Preserv. 17: 757-761.
- Yang SJ, Woo KS, Yoo JS, Kang TS, Noh YH, Lee JS, Jeng HS. 2006. Change of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. Korean J. Food Sci. Technol. 38: 521-525.
- Yeo SB, Yeo SH, Park HD. 2017. Quality characteristics, antioxidant activity and storage properties of fermented milk added with green tea powder. Korean J. Food Preserv. 24: 576-584.
- Yi HY. 2023. Physicochemical properties and *in vitro* digestive stability of *Sargassum horneri* extracts nanostructured lipid carriers. Master's thesis, Jeju National University, Jeju, Korea.

Author Information

- 전경학:** 제주대학교 식품생명공학과
허승환: 제주대학교 식품생명공학과
이유림: 제주대학교 식품생명공학과
황은주: 제주대학교 식품생명공학과
현지용: 제주대학교 식품생명공학과
이유진: 제주대학교 식품생명공학과
박재완: 제주농장 영농조합법인
이해윤: 제주대학교 식품생명공학과
천지연: 제주대학교 식품생명공학과