

## 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 항산화 활성

김종대<sup>1</sup> · 이옥환<sup>1</sup> · 이종석<sup>1</sup> · 박건영<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 식품생명공학과

<sup>2</sup>부산대학교 식품영양학과

### Antioxidative Effects of Common and Organic Kale Juices

Jong-Dai Kim<sup>1</sup>, Ok-Hwan Lee<sup>1</sup>, Jong Seok Lee<sup>1</sup>, and Kun-Young Park<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Gangwon 200-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

**ABSTRACT** The objective of the present study was to investigate the protective and free radical scavenging effects of conventionally and organically cultivated kale juices against oxidative damage in LLC-PK<sub>1</sub> cells. The DPPH, NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, and ·OH radical scavenging activities of organically cultivated kale were higher than those of conventionally cultivated kale juice. Oxidative damage induced by AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride), SNP (sodium nitroprusside), pyrogallol, and SIN-1 (3-morpholinopyridone) led to loss of cell viability and increased lipid peroxidation in LLC-PK<sub>1</sub> cells, whereas treatment with vegetable juices, especially organically cultivated kale juices, significantly increased cell viability and inhibited lipid peroxidation in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). These results suggest that organically cultivated kale juices have protective roles against oxidative stress induced by free radicals.

**Key words:** kale, oxidative stress, vegetable juices, LLC-PK<sub>1</sub> cells, organic vegetables

## 서 론

인간에게 있어서 노화현상이나 암을 비롯한 여러 가지 질병의 발생은 체내의 생리기능에 스트레스를 가하는 현상인 oxidative stress에 의해 끊임없이 생성되는 유리라디칼에 의한 것으로 알려져 있다(1,2). 이러한 유리라디칼은 비공유 전자쌍을 가지는 반응성 화학물질로서, 체내의 모든 세포 구성성분과 강하게 반응하려는 성질을 가지고 있기 때문에 여러 세포와 조직에 손상을 입히고, 이러한 손상이 계속되면 노화나 암과 같은 질병을 유발하게 된다(3,4).

채소류에는 β-carotene, 비타민 C 및 비타민 E 등의 비타민류와 다양한 페놀성 성분이 함유되어 항산화 활성을 포함한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다(5-8). 이러한 건강 기능성을 가진 채소는 열을 가하는 조리 과정을 통해 자체 내의 효소가 불활성화 되거나, 각종 비타민 및 여러 미량 영양소 등이 파괴된다. 특히 비타민 C는 열처리에 의해 40~90% 손실되는 가장 민감한 영양소이므로 이러한 영양 성분을 고려하였을 때 채소 및 과일은 생으로 먹는 것이 가장 이상적이다(9,10). 채소즙이란 생채소를 마쇄(녹즙기 이용)하여 인체가 영양소를 흡수하기 쉬운 상태로 제조된 즙이

며 생채소의 영양을 가장 많이 섭취할 수 있는 방식을 구현한 식품이라 할 수 있다(11,12). 채소즙의 재료로는 다양한 과채류가 이용되고 있으며 특히 케일, 신선초, 당근, 미나리, 샐러리, 양배추 등의 녹황색 채소가 주를 이루고 있다. 그중 케일(*Brassica oleracea* var. *Acephala*)은 암 예방효과가 좋다고 알려진 십자화과(*Brassica*) 채소로써 수천 년 동안 유럽과 아메리카의 온화한 기후의 나라에서 재배되어 왔다(13). 여러 연구 결과에 따르면 케일에는 페놀성 화합물, 플라보노이드, 클로로필, 섬유소, 비타민 C, β-carotene, benzyl isothiocyanate와 phenylethyl isothiocyanate 등이 많이 함유되어 있어 암 예방, 항암 및 항돌연변이 효과가 있다고 보고되고 있다(14,15).

지금까지 채소즙의 건강 기능성에 대한 상당한 연구가 이루어졌는데 주로 β-carotene, 비타민 C를 위주로 한 항산화 기능성 물질의 함량 분석, DNA 손상 보호효과, 암세포 성장저해효과, 혈청지질 개선효과 등이 보고되었으며, 대부분은 채소의 재배환경 차이를 고려하지 않은 채소즙 원료 자체에 대한 생리적 효과를 검토한 것이었다(16,17). 그런데 최근에 와서 채소의 재배방법에 따라 그 효능의 차이가 있음이 다수 보고되고 있다. 일반적으로 농약과 화학비료를 처리하여 재배한 채소와 2년 이상 화학물질을 사용하지 않고 퇴비를 이용하여 유기농으로 재배한 채소 간에는 영양성분, 조직감 및 품질 등의 차이가 있음이 밝혀지고 있다(18).

Received 10 December 2013; Accepted 16 April 2014

\*Corresponding author.

E-mail: kunypark@pusan.ac.kr, Phone: +82-51-510-2839

본 연구에서는 케일 착즙액의 항산화 효과를 알아보고자 재배방법을 달리한 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 유리라디칼 소거효과를 평가하였고, LLC-PK<sub>1</sub> 신장상피세포를 이용한 산화적 스트레스 개선효과를 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 유기농 및 일반농 케일은 강원도 지역에서 재배된 것으로 지역마트에서 구입하여 사용하였다. 흐르는 물로 3회 씻은 다음 증류수로 다시 씻은 후에 녹즙기(NJE-2004R, NUC Co., Daegu, Korea)로 마쇄하여 실험에 사용하였다. 마쇄된 케일 착즙액은 4°C, 9,000 rpm에서 30분간 원심분리 하여 얻은 상등액을 4°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

### 시약 및 실험장치

LLC-PK<sub>1</sub>(porcine renal epithelial cell)은 ATCC(Solon, OH, USA)에서 분양 받았으며, 실험에서 사용된 시약인 Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM)과 fetal bovine serum(FBS), phosphate buffer saline(PBS), ethylene diamine tetraacetate(EDTA), penicillin-streptomycin은 Gibco(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride(AAPH), phenazine methosulfate, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide(MTT), sodium nitroprusside(SNP), trichloroacetic acid(TCA), pyrogallol, D-biotin, L-histidine, HCl(monohydrate), D-glucose-6-phosphate(mono sodium salt), NADP(sodium salt), 3-morpholinopyridone hydrochloride(SIN-1), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), dimethyl sulfoxide(DMSO), thiobarbituric acid(TBA), Griess reagent, nitro blue tetrazolium(NBT) 등은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구매하여 사용하였다.

### 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 항산화능 측정

**DPPH radical 소거능 측정:** DPPH radical 소거능은 ethanol에 용해시킨 60 µM DPPH 용액 100 µL와 착즙액 100 µL를 vortex를 이용하여 5초간 진탕한 뒤 암소에서 10분간 방치 후 microplate reader(Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 착즙액 대신 증류수를 100 µL 가하여 동일하게 시행하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리라디칼 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다(19).

**Nitric oxide(NO) 소거능 측정:** 아질산염의 소거능은 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 mL에 적정농도 시료 1 mL를 가하고 0.1 N HCl로 반응용액의 pH를 1.2로 보정한 다음 반응용액

의 최종부피를 증류수를 가하여 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 다음 반응용액을 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 3 mL, Griess 시약(A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 mL를 차례로 가하고 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 측정하였다. 아질산염 소거능은 시료 무첨가 시의 흡광도에 대한 시료 첨가 시의 흡광도 비를 나타내었다(20).

**Superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 소거능 측정:** Superoxide anion radical 소거능은 NBT 환원방법에 의하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.1 mM PBS(pH 7.4) 0.6 mL를 넣어 잘 혼합하였다. 여기에 0.4 mM xanthine 용액과 0.24 mM NBT 용액을 1:1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하고 0.049 U/mL xanthine oxidase 1 mL를 가하여 혼합하였다. 이를 37°C에서 20분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 다음 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. Superoxide anion radical 소거능은 시료용액 첨가군과 무첨가군의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다(21).

**Hydroxyl radical(·OH) 소거능 측정:** Hydroxyl radical 소거능 측정은 Fenton 반응에 의해 생성된 hydroxyl radical이 2-deoxyribose를 산화시켜 malondialdehyde로 분해된다. 시험관에 농도별 착즙액 0.2 mL에 10 mM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-EDTA 용액 2 mL, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 mL, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 1 mL를 잘 혼합한 후 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 mL를 첨가하여 잘 섞은 다음 37°C에서 4시간 반응시킨 후 이 혼합액에 2.8% TCA 용액 1 mL와 1.0% TBA 용액 1 mL를 각각 첨가하여 10분간 끓인 다음 반응액이 완전히 식으면 532 nm에서 흡광도를 측정하였다(22).

### 여러 산화적 스트레스에 의한 세포수준에서의 개선효과

**세포배양:** LLC-PK<sub>1</sub> cell은 100 units/mL의 penicillin-streptomycin과 5%의 FBS가 함유된 DMEM을 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Forma, Marietta, OH, USA)에서 배양하였다. 배양된 세포는 일주일에 2~3회 refeeding 하고 배양 6~7일경 PBS로 1차 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하고 원심분리 해서 집적된 세포를 배지에 넣고 피펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 6~7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대배양 시 각각의 passage number를 기록하여 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 세포를 배양하여 실험하였다(23).

**LLC-PK1 cell viability와 TBA-reactive substances(TBARS) 측정:** 세포가 confluence 상태가 되면 96-well plate에 well당 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 seeding하여 2시간 배양한 후 peroxy radical(LOO<sup>-</sup>), ONOO<sup>-</sup>, NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 generator인 1.0 mM AAPH, 1.0 mM SIN-1, 1.2 mM SNP

및 1.2 mM pyrogallol을 처리하고 24시간 배양하여 산화적 스트레스를 유발하였다. 그 후 시료를 농도별로 처리하여 24시간 배양한 뒤 1 mg/mL의 MTT solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 4시간 동안 재배양한 후 생성된 formazan 결정을 100  $\mu$ L DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(24).

세포의 산화적 스트레스로 인한 세포 지질의 과산화 최종 생성물인 TBARS 생성 정도는 기질과 시료를 반응시켜 37°C에서 산화시켰다. 시간대별로 기질과 시료 반응물에 25% TCA 1 mL와 TBA 1 mL를 첨가하여 95°C 수욕상에서 20분간 가열하였다. 4,000 rpm에서 30분간 원심분리 한 후 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화물(TBARS)은 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하여 계산하였다(25).

### 통계 분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과들의 유의성을 검증하기 위하여 분산분석(ANOVA)을 행한 후  $P < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였으며, 그 결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 모든 통계 분석은 Statistic Analysis System(ver. 8.2, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) 통계프로그램을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 항산화 효과

**DPPH 라디칼과 nitric oxide(NO) 소거능 측정:** DPPH radical 소거활성법은 시료의 유리라디칼 소거능력이나 수소 공여능력을 평가하는 방법이다. 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH radical 소거효과를 비교하여 Table 1에 나타내었다. 유기농 케일 착즙액은 100  $\mu$ L/mL에서 유기농 케일 착즙액은 DPPH 소거능이 51.5%로 일반농 케일 착즙액의 46.8%보다 우수한 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ).

NO는 산소 라디칼과 매우 급속히 반응하는데 특히  $O_2^-$ 와 결합하여 생성된 ONOO $^-$ 는 여러 가지 세포 독성을 일으키며 lipid peroxidation을 유도하는 원인이 될 수 있다. 또 과잉으로 생성된 NO 소거능을 살펴봄으로 NO에 의한 독성으로부터 보호효과를 기대할 수 있다. 유기농 및 일반농 케일

착즙액의 NO 소거능을 Table 1에 나타내었다. 유기농과 일반농 케일 착즙액은 농도 의존적인 NO 소거능을 보였는데 특히 유기농 케일 착즙액은 NO 소거능이 100  $\mu$ L/mL의 농도에서 78.3%였으며, 50  $\mu$ L/mL의 농도에서는 58.2%로 나타났다. 일반농 케일 착즙액은 100  $\mu$ L/mL의 농도에서 72.4%, 50  $\mu$ L/mL의 농도에서는 49.5%로 유기농 케일 착즙액의 NO 소거능력이 일반농 케일 착즙액보다 더 우수하였다( $P < 0.05$ ).

**Superoxide anion( $O_2^-$ )과 hydroxyl radical( $\cdot$ OH) 소거능 측정:**  $O_2^-$  자체는 반응성이 비교적 약하지만 superoxide dismutase(SOD)에 의해 쉽게  $H_2O_2$ 로 변환되어 반응성이 강한  $\cdot$ OH를 생성하거나 NO와 반응하여 반응성이 강한 ONOO $^-$ 를 생성하게 된다. 이처럼  $O_2^-$ 는 다른 유해 활성 산소류의 전구물질로 작용하므로  $O_2^-$ 를 직접 소거할 수 있는 물질은 보다 근본적으로 세포나 조직의 산화적 스트레스를 억제할 수 있을 것으로 생각된다. Table 1에서 보는 바와 같이 유기농 케일 착즙액은 100  $\mu$ L/mL의 농도에서  $O_2^-$  소거능이 85.1%로 일반농 케일 착즙액의 72.9%보다 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

$\cdot$ OH는 산소 라디칼 중에서 가장 반응성이 높고 인접한 생체 분자에 심각한 손상을 야기하며, Fenton 반응에 의해  $O_2^-$ 와  $H_2O_2$ 로부터 생성되며 활성질소종인 ONOO $^-$ 의 분해에 의해 생성되기도 한다. 이러한  $\cdot$ OH에 대한 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 소거능을 살펴보면 100  $\mu$ L/mL에서 유기농 케일 착즙액은 68.9%이고 일반농 케일 착즙액은 46.2%의 소거능을 보이며( $P < 0.05$ ), 각각 농도 의존적인  $\cdot$ OH 소거능을 나타내었다(Table 1). 앞서 살펴본 DPPH 라디칼, NO,  $O_2^-$  소거능과 함께 고려해 볼 때 유기농 케일 착즙액은 일반농 케일 착즙액보다 유리라디칼을 소거하는 효과가 더 우수한 것으로 나타났다.

Kim 등(26)의 연구에 의하면 유기농 야채의 일반성분 함량이 일반야채보다 높았고 유기농 케일의 carotene, 비타민 B $_1$ , 비타민 B $_2$ , 나이아신, 비타민 C의 함량은 일반농 케일보다 20~70%가 증가하였고 칼슘, 칼륨, 나트륨, 인의 무기질 함량도 유기농 케일이 약 17.9% 더 높았다. 재배방법에 따른 성분 함량의 차이가 유기농 케일의 항산화성을 높인 것으로 생각된다.

**Table 1.** Antioxidant effects of common and organic kale juices by using different *in vitro* methods

| Conc. ( $\mu$ L/mL) | Materials    | DPPH scavenging activity (%) | NO scavenging activity (%) | $O_2^-$ scavenging activity (%) | $\cdot$ OH scavenging activity (%) |
|---------------------|--------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| 50                  | Common kale  | 31.8±1.5 <sup>d</sup>        | 49.5±2.1 <sup>c</sup>      | 61.0±0.8 <sup>c</sup>           | 28.6±1.6 <sup>c</sup>              |
|                     | Organic kale | 38.9±1.1 <sup>c</sup>        | 58.2±1.9 <sup>b</sup>      | 64.8±1.6 <sup>bc</sup>          | 32.8±1.8 <sup>c</sup>              |
| 100                 | Common kale  | 46.8±1.0 <sup>b</sup>        | 72.4±6.8 <sup>a</sup>      | 72.9±1.2 <sup>b</sup>           | 46.2±0.2 <sup>b</sup>              |
|                     | Organic kale | 51.5±1.9 <sup>a</sup>        | 78.3±1.2 <sup>a</sup>      | 85.1±1.2 <sup>a</sup>           | 68.9±2.1 <sup>a</sup>              |

Values are mean±SD.

<sup>a-d</sup>Means with the different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

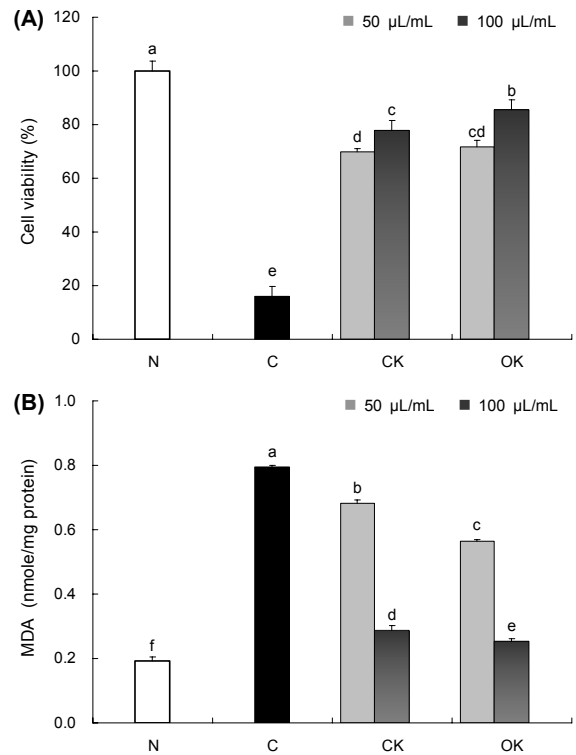
**여러 산화적 스트레스에 의한 세포수준에서의 개선효과**

**AAPH에 의한 산화적 스트레스 개선효과:** LLC-PK<sub>1</sub> 신장상피세포는 유리라디칼에 매우 민감한 세포로 산화적 스트레스에 의한 세포 손상을 초래하게 된다. 따라서 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 유리라디칼을 처리하여 산화적 손상을 가하고 세포 손상에 대한 보호효과를 나타내는 물질을 확인하는 유용한 진행세포 모델이다. 또한 산화적 스트레스는 세포 지질의 과산화와 관련되며 이는 지질과산화 최종 생성물인 TBARS 측정을 통해 결정된다. 생체 시스템에서 지질과산화는 독성현상으로 여러 가지 질병을 촉진시키는 물질이므로 TBARS와 같은 지질과산화 최종 생성물의 측정은 cell destruction의 좋은 지표가 되며 이는 손상된 세포나 조직이 정상에 비해 더 급속히 과산화되는 경향을 나타내기 때문이다.

Free radical initiator로 사용된 AAPH는 hydrophilic azo compounds 중 하나로서 다른 효소의 작용이나 생리적인 변화 없이 단분자적으로 변성이 된다. 이렇게 변성된 AAPH는 두 carbon radical과 질소로 분해되는데 이 carbon radical은 다른 carbon radical과 다시 결합하여 안정적인 구조를 취하기도 하지만 대부분은 산소와 반응하여 peroxy radical을 생성하게 되며 이 peroxy radical은 세포의 손상을 유발하고 생체 내 단백질과 지질 등에 산화적 스트레스를 주는 요인으로 작용하게 된다(24). AAPH를 처리한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 대한 케일 착즙액의 산화적 스트레스 개선효과를 cell viability로 살펴본 결과를 Fig. 1에 나타내었다. AAPH만을 처리한 control의 세포 생존율은 16.1%였으나 유기농 및 일반농 케일 착즙액에서의 세포 생존율은 농도 의존적으로 상승했으며, 특히 유기농 케일 착즙액을 처리한 군에서는 100 µL/mL에서 85.6%의 세포 생존율을 보여 control과 비교할 때 약 80%까지 증가하였고 일반농 케일 착즙액보다 증가하였다. 유기농 케일 착즙액은 AAPH에 의한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 산화적 스트레스에 대해 우수한 개선효과를 가진 것으로 나타났다.

AAPH를 처리한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에서 산화적 스트레스로 유발된 지질과산화물을 측정하여 MDA 양으로 환산하여 Fig. 1에 나타내었다. AAPH 처리로 산화적 스트레스를 유발시킨 control군의 MDA 값은 untreated control군에 비해 4배 정도 높았다. 그러나 유기농 및 일반농 케일 착즙액을 처리한 군에서는 MDA 수치가 농도 의존적으로 감소하여 100 µL/mL에서 각각 0.254 nmole/mg protein, 0.288 nmole/mg protein으로 나타나 control군에 비해 유의적인 차이를 보였다(*P*<0.05). 특히 유기농 케일 착즙액을 처리한 군은 지질과산화물 생성이 거의 untreated control군과 비슷한 수준으로 억제되었고 일반농 케일 착즙액보다 더 감소되었음을 확인하였다.

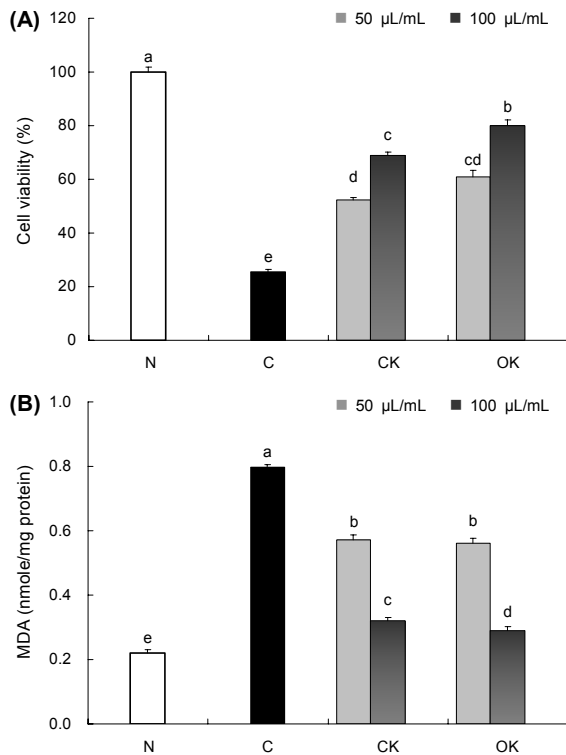
**SNP에 의한 산화적 스트레스 개선효과:** SNP(sodium nitroprusside)는 NO 생성 화합물로서 neuroprotective agent로 작용하며 또한 atherogenesis의 주원인인 smooth



**Fig. 1.** Protective effect of kale juices on cell viability (A) and TBARS generation (B) of LLC-PK<sub>1</sub> cells treated with AAPH. N, normal; C, AAPH-treated control; CK, common kale; OK, organic kale. Values are mean±SD. <sup>a-f</sup>Means with the different letters above the bars are significantly different (*P*<0.05) by Duncan's multiple range test.

muscle cell의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있다. SNP는 nitrosodium ion을 함유하는데 이로 인해 SNP 용액이 가시광선에 노출될 때 NO가 생성된다. LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 SNP를 처리하여 NO를 유발시켜서 산화적 스트레스를 가한 후 이에 대한 케일 착즙액의 보호효과를 cell viability로 확인하여 Fig. 2에 나타내었다. SNP만을 처리한 control은 세포 생존율이 25.5%로 감소하여 산화적 스트레스에 의한 세포의 손상을 확인할 수 있었고, 반면 케일 착즙액을 처리한 군에서는 세포 생존율이 농도 의존적으로 상승하였으며 100 µL/mL에서 유기농 및 일반농 케일즙이 각각 80.0%, 68.9%의 생존율을 보여 NO의 소거를 통한 산화적 스트레스 개선 효과를 나타내었다.

SNP를 처리한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 산화적 스트레스로 유발된 지질과산화물은 untreated control군은 0.220 nmole/mg protein인 반면 SNP 처리로 산화적 스트레스를 유발시킨 control군은 0.798 nmole/mg protein으로 유의적으로 증가하였다. 유기농 및 일반농 케일 착즙액을 처리한 군에서는 MDA 수치가 control군과 유의적인 차이를 보이며 농도 의존적으로 감소하여 100 µL/mL에서 각각 0.289, 0.320 nmole/mg protein으로 나타났다(*P*<0.05). 이를 통해 유기농 및 일반농 케일 착즙액의 처리가 NO에 의한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 지질과산화물을 효과적으로 억제하였고, 이는 Table

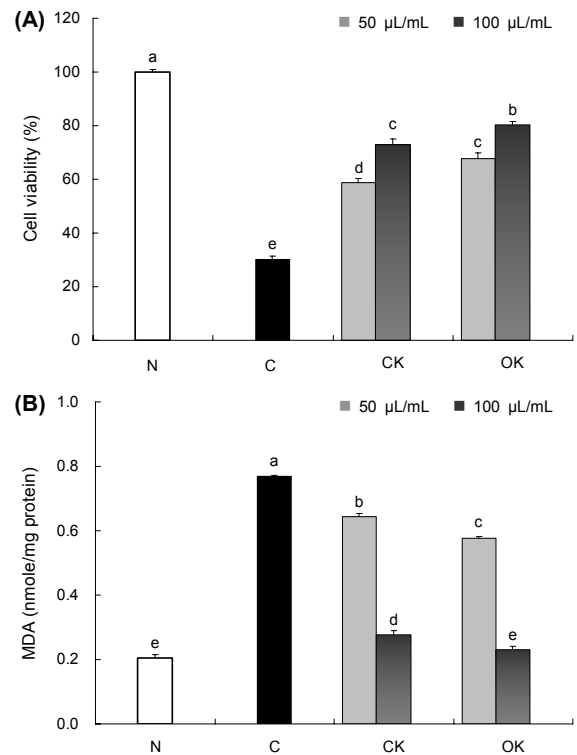


**Fig. 2.** Protective effect of kale juices on cell viability (A) and TBARS generation (B) of LLC-PK<sub>1</sub> cells treated with SNP. N, normal; C, SNP-treated control; CK, common kale; OK, organic kale. Values are mean±SD. <sup>a-c</sup>Means with the different letters above the bars are significantly different ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

1의 결과에서 NO 소거능 결과와 같이 유기농 케일 착즙액의 효과가 더 우수하였다.

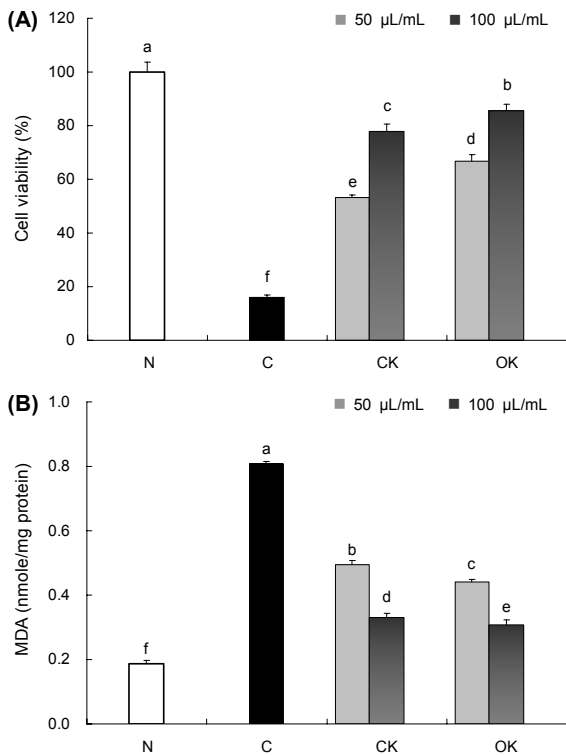
**Pyrogallol에 의한 산화적 스트레스 개선효과:** Pyrogallol은 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 생성체이며 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 전구체이다. Pyrogallol을 처리한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 대한 케일 착즙액의 보호효과를 Fig. 3에 나타내었다. Cell viability로 살펴보면 pyrogallol만을 처리한 control의 경우 30.2%의 생존율을 보인 반면 유기농 및 일반농 케일즙 착즙액을 처리한 결과 세포 생존율이 농도 의존적으로 증가하였고, 100 µL/mL 처리 시 80.4%, 72.8%의 생존율을 보여 pyrogallol에 의한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 산화적 스트레스 개선효과가 나타났다. 또한 O<sub>2</sub><sup>-</sup>에 의한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 지질과산화물 생성은 pyrogallol만을 처리한 control군에서 MDA 수치가 0.769 nmole/mg protein으로 untreated control군에 비해 4배 정도 증가하였다. 그러나 유기농 및 일반농 케일즙을 처리한 군에서는 MDA 수치가 control군에 비해 유의적으로 감소하여 100 µL/mL에서 각각 0.232, 0.276 nmole/mg protein으로 나타나 지질과산화 억제능을 보여주었다( $P<0.05$ ). Table 1의 결과에서 유기농 케일 착즙액의 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 소거능 효과가 일반농 케일 착즙액보다 더 높았던 결과와 같은 경향을 나타내었다.

**SIN-1에 의한 산화적 스트레스 개선효과:** ONOO<sup>-</sup>는 생



**Fig. 3.** Protective effect of kale juices on cell viability (A) and TBARS generation (B) of LLC-PK<sub>1</sub> cells treated with pyrogallol. N, normal; C, pyrogallol-treated control; CK, common kale; OK, organic kale. Values are mean±SD. <sup>a-c</sup>Means with the different letters above the bars are significantly different ( $P<0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

체 내에서 NO와 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 반응에 의해 생성될 수 있으며, 이는 pathogenic cellular damage와 organ dysfunction의 중요한 주요인으로 알려져 있다. SIN-1은 NO와 O<sub>2</sub><sup>-</sup>를 생성하고 이들은 급속히 반응하여 ONOO<sup>-</sup>를 형성하며, 이는 강력한 cytotoxic oxidants로 분해되기 때문에 독성효과를 나타내게 된다. LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 SIN-1(3-morpholinodimethylamine)을 처리하여 ONOO<sup>-</sup>에 의한 산화적 스트레스를 유발시킨 후 이에 대한 케일 착즙액의 보호효과를 Fig. 4에 나타내었다. SIN-1만을 처리한 control은 산화적 스트레스에 의한 세포 손상으로 생존율이 20.7%로 감소한 반면 유기농 및 일반농 케일 착즙액을 처리한 후 생존율이 농도 의존적으로 증가하여 100 µL/mL 처리 시 각각 85.5%, 71.4%로 나타나 ONOO<sup>-</sup>에 대한 직접적인 소거능을 통해 산화적 스트레스 개선효과를 보이는 것으로 사료된다. ONOO<sup>-</sup>에 의한 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 지질과산화물 생성량은 SIN-1만을 처리한 control군은 MDA 수치가 0.806 nmole/mg protein으로 untreated control군에 비해 4배 이상 증가하였다. 그러나 유기농 및 일반농 케일 착즙액 처리군에서 MDA 값이 control군에 비해 유의적으로 감소하고, 100 µL/mL에서 각각 0.308, 0.376 nmole/mg protein으로 나타났다( $P<0.05$ ). 케일 착즙액은 ONOO<sup>-</sup>에 의한 산화적 스트레스를 개선함으로써 지질과산화물 생성이 억제되었고, 유기농 케일 착즙액



**Fig. 4.** Protective effect of kale juices on cell viability (A) and TBARS generation (B) of LLC-PK<sub>1</sub> cells treated with SIN-1. N, normal; C, SIN-1-treated control; CK, common kale; OK, organic kale. Values are mean±SD. <sup>a-f</sup>Means with the different letters above the bars are significantly different (*P*<0.05) by Duncan's multiple range test.

에서 효과가 더 좋았다.

유기농 및 일반농 케일 착즙액 처리군은 DPPH 라디칼, NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ·OH 라디칼의 소거효과와 같이 LLC-PK<sub>1</sub> 세포를 이용한 산화적 스트레스 개선효과가 나타났으며, 지질과산화물 생성량도 감소하였다. 특히 유기농 케일 착즙액의 항산화 효과가 일반농 케일 착즙액보다 더 높았고, 이에 따라 LLC-PK<sub>1</sub> 세포의 생존율이 증가하였고 지질과산화물 생성은 감소하였다. 본 연구 결과에 따르면 유기농 케일 착즙액과 일반농 케일 착즙액의 항산화 효과는 유의적인 차이를 나타내어 케일의 재배방법에 따라 항산화 능력이 달라지며 유기농법으로 재배한 케일이 더 우수한 항산화 효과를 나타내었다. 그러나 유기농법과 케일의 성분 함량과의 관계 및 이들이 항산화 효과에 미치는 영향에 대해서는 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

### 요 약

채소즙이란 생채소를 마쇄하여 인체가 영양소를 흡수하기 쉬운 상태로 제조된 즙으로 생채소의 영양 섭취 효율을 높일 수 있는 식품이라 할 수 있다. 본 연구에서는 재배방법에 따라 생산된 유기농 및 일반농 케일을 착즙하여 다양한 실험을 통하여 항산화 활성을 비교하였다. DPPH radical, NO,

O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ·OH 라디칼 소거능에서 유기농 케일 착즙액은 일반농 케일 착즙액보다 더 우수한 효과를 나타내었다. LLC-PK<sub>1</sub> 세포를 이용하여 산화적 스트레스 개선효과에서 유기농 케일 착즙액은 일반농 케일 착즙액에서보다 NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>와 ONOO<sup>-</sup>에 의해 유발된 산화적 스트레스에 대한 세포 생존율을 증가시키고, 지질과산화물을 억제시켜 유리라디칼에 대한 보호 효과를 유의적으로 나타내었다. 위의 결과로 보아 유기농 케일 착즙액은 일반농 케일 착즙액보다 산화적 스트레스에 대한 개선효과가 뛰어난 것으로 사료되며 재배방법의 차이에 따라 그 효과도 차이가 있었다.

### REFERENCES

1. Fridovich I. 1989. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. *J Biol Chem* 264: 7761-7764.
2. Lee OH, Lee BY, Lee J, Lee HB, Son JY, Park CS, Shetty K, Kim YC. 2009. Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresour Technol* 100: 6107-6113.
3. Shulz H. 1994. Regulation of fatty acid oxidation in heart. *J Nutr* 124: 165-171.
4. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. 1995. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr* 35: 7-20.
5. Chung SY, Kim SH, Kim HS, Kang JS, Chung HS, Kim GJ, Kim HJ. 1990. Effects of water soluble extract of *Ganoderma lucidum*, kale juice and sodium dextrothyroxine on hormone and lipid metabolism in hypercholesterolemic rats: 1. concentration of triiodothyronine, thyroxine, blood sugar and lipid composition in serum. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 381-389.
6. Byers T, Perry G. 1992. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr* 12: 139-159.
7. Caragay AB. 1992. Cancer preventive foods and ingredients. *Food Tech* 46: 65-68.
8. Stähelin HB, Gey KF, Eichholzer M, Lüdin E. 1991. β-Carotene and cancer prevention: the Basel Study. *Am J Clin Nutr* 53: 265S-269S.
9. Mertens B, Knorr D. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol* 46: 124-133.
10. Lee DU, Park J, Kang J, Yeo IH. 1996. Effect of high hydrostatic pressure on the shelf-life and sensory characteristics of *Angelica keiskei* juice. *Korean J Food Sci Technol* 28: 105-108.
11. Chung SY, Kim HW, Yoon S. 1999. Analysis of antioxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *Korean J Food Sci Technol* 31: 880-886.
12. Yang HS. 1993. The effect of green juice. *Food Hyg* 6: 62-67.
13. Swarup V, Ahluwalia KS, Roy SK, Chatterjee SS. 1979. Kale—a nutritionally rich vegetable. *Indian Horticulture* 24: 9-10.
14. Park KY, Lee K, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
15. Lee SM, Rhee SH, Park KY. 1993. Antimutagenic effect of soluble dietary fibers from kale and soybean. *Environ Mutagen Carcino* 13: 26-35.

16. Jeon EJ, Kim JS, Park YK, Kim TS, Kang MH. 2003. Protective effect of yellow-green vegetables juices on DNA damage in Chinese hamster lung cell using comet assay. *Korean J Nutr* 36: 24-31.
17. Okuyama T, Takata M, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishino H, Iwashima A. 1991. Anti-tumor-promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Med* 57: 242-246.
18. Park YS, Lim DG, Heo BG. 2009. Changes in the fruit quality of organic and low-level agrochemical-grown kiwi-fruit during storage. *Korean J Food Preserv* 16: 327-332.
19. Koleva II, van Beek TA, Linssen JP, de Groot A, Evstatieva LN. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal* 13: 8-17.
20. Rockett K, Awburn MM, Cowden WB, Clark IA. 1991. Killing of *Plasmodium falciparum in vitro* by nitric oxide derivatives. *Infect Immun* 59: 3280-3283.
21. Niwa Y, Miyachi Y. 1986. Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. *Inflammation* 10: 79-91.
22. Smirnoff N, Cumbes QJ. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28: 1057-1060.
23. Nath KA. 1992. Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 20: 1-17.
24. Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.
25. Fraga CG, Leibovitz BE, Tappel AL. 1988. Lipid peroxidation measured as thiobarbituric acid-reactive substances in tissue slices: characterization and comparison with homogenates and microsomes. *Free Radic Biol Med* 4: 155-161.
26. Kim HY, Lee KB, Lim HY. 2004. Contents of minerals and vitamins in organic vegetables. *Korean J Food Preserv* 11: 424-429.