

# 동부 발아기간 중 폴리페놀 함량, 항산화성 및 항산화효소 활성 변이

천상욱\*

광주광역시 조선대학교 BI센터 (주)이파리넷

## Change in Polyphenol Content, Antioxidant Activity, and Antioxidant Enzyme Status of Cowpea During Germination

Sang-Uk Chon\*

EFARINET Co. Ltd., BI Center, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

**Abstract** - A laboratory experiment was conducted to determine the content of phenolics and flavonoids, antioxidant activity and antioxidant enzyme activity for the extracts from cowpea seed and sprouts. Plant length and weight of cowpea sprouts were significantly increased until 7 days after seeding. Total phenolics level [mg chlorogenic acid equivalents (CAE)  $\text{kg}^{-1}$  DW] was highest in dry seed (DS) extracts of cowpea ( $63.9 \text{ mg kg}^{-1}$ ), followed by imbibed seed (IS) ( $56.8 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and 1-day-old sprout (1DOS) extracts ( $46.4 \text{ mg kg}^{-1}$ ), and significantly reduced with increase of sprout age ( $p < 0.05$ ). The antioxidant activity of the methanol extracts from all the samples showed same tendency to the results of total phenolics level, and dose-dependently increased. DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical) free radical scavenging activity was higher in DS (87.3%) and IS (41.2%) than in cowpea sprouts from 1DOS to 7DOS, ranging from 17.1 to 30.4%. Antioxidant enzymes, APX, POX, and POX activities were highest in 7DOS and lowest in DS. SOD activity showed much higher activity in sprouts and in seeds. Correlation coefficient between physiological-active substance and the activity was highest between APX and CAT activities ( $r^2 = 0.9574$ ). Especially, total phenolics content was more highly correlated with antioxidant or with antioxidant enzyme activities than was total flavonoid level.

**Key words** - Antioxidant enzyme activity, Cowpea, DPPH radical scavenging activity, Sprouting, Total flavonoids, Total phenolics

## 서 언

작물종자의 발아과정은 먼저 외부로부터 수분흡수와 함께 시작되는데 종피가 부풀어져 수분과 가스 투과가 용이해지며 종자 내의 효소들이 활성화되어 자엽에 있는 영양분들이 분해되고 성장점으로 이동하여 발아에 필요한 새로운 물질의 생성이 이루어지는데(Tao and Khan, 1976), 이 과정에서 종자와 다른 화학적인 조성은 물론 생리활성 차이가 유발될 것으로 예상된다. 또한 영양적인 저해인자가 감소하게 되는데 특히 콩의 경우는 trypsin inhibitor의 활성을 저해하고 phytic acid를 감소시키며 무기질의 이용성이 증가된다고 알려져 있다(Kim *et al.*, 1984; Saaax *et al.*, 1975). 주로 분해적인 대사가 일어나며 특히 콩의 경

우, 발아된 콩나물 상태에서는 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, carotene, retinol 함량과 조섬유 함량이 종자에 비해 크게 증가한다고 보고되었다(Chen *et al.*, 1975; Von Hofsten, 1979).

두과류 종자는 단백질, 복합 탄수화물(식이섬유), 무기양분 및 비타민류가 풍부하여 매우 중요한 식품원이며 수많은 생리활성물질을 함유하고 있어 심장병, 당뇨병, 비만 위험성을 감소시키는 것은 물론 혈중 콜레스테롤을 낮추는 효과가 뚜렷한 것으로 알려져 있다(Madhujith *et al.*, 2004; Salunke *et al.*, 2005). 현재 두과작물 종자를 이용한 가공식품들은 다양하게 개발되어 상용되고 있으며 그 중 일부는 발아시켜 새싹나물로 대용함으로써 시간과 장소에 제한 받지 않고 쉽게 재배할 수 있어 경제적으로 영양학적으로 우수한 식품으로 두각을 보이고 있다. 따라서 이렇게 종자로부터 싹을 틔워 나물로 만드는 단순하고 값싼 공

\*교신저자(E-mail): choncn@nate.com

정과정은 식품의 영양적 가치(Abdullah and Baldwin, 1984; Bau *et al.*, 1997; Danisová *et al.*, 1994) 뿐만 아니라 건강 기능성(Bau *et al.*, 1997; Sowmya and Rajyalakshmi, 1999) 측면에서 식품의 품질을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 그 중 두과류(대두, 녹두, 강낭콩, 편두), 화곡류(귀리, 밀, 보리 밀, 아마), 알팔파와 무는 종자로부터 이러한 새싹을 만들어 소비하고 있으며 특히, 콩나물과 숙주나물은 한국에서 대표적으로 이용되고 있는 단백질이 풍부한 작물로 가장 많이 소비되고 있다(Danisová *et al.*, 1994).

동부(*Vigna unguiculata* L. Walp)의 주성분은 당질이고 단백질 함량도 많은 편이며 비타민 B도 풍부하여 완숙한 종실은 혼반용 이외에 고물, 조미료의 원료, 죽, 커피 대용 원료 등으로 이용이 가능하고 녹협은 채소로도 이용되고 있다. 조(1990)는 동부종자에 단백질 23.9%, 탄수화물 55%, 지질 2%가 함유되어 있고, 100 g 당 칼슘 75 mg, 인 400 mg, 철 5.6 mg, 칼륨 1400 mg, 비타민 B<sub>1</sub> 0.5 mg, 비타민 B<sub>2</sub> 0.1 mg, 니코틴산 2.5 mg이 각각 함유되어 있다고 보고하였다. 또한 동부 종자는 단백질과 다양한 페놀 화합물인 protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, cinnamic acid를 함유하고 있으며(Cai *et al.*, 2003), 동부종자와 분리된 단백질은 plasma 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소시켰다고 보고(Frota *et al.*, 2008)한 바 있다. 또한, Siddhuraju and Becker(2007)는 두 품종의 종자 추출물에서 항산화성과 자유라디칼 소거능을 다양한 방법으로 확인한 바 있고 Guti rrez-Urbe *et al.*(2011)은 동부 전체 종자, 종피 및 자엽의 부위별 추출물로부터 총 페놀 함량과 MCF-7 암세포주에 대한 항암활성을 비교한 바 있고, Oh *et al.*(2003)은 콩나물의 사포닌 함량 분석 연구에서 콩나물로 발아하면서 조사포닌 함량이 증가하여 재배 5-6일째에 5.30-5.33 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였고 6일째 이후엔 감소하였음을 보고하였다. 하지만 대부분의 연구는 동부 종자 또는 새싹에 대한 생장 및 품질에 치중되어 왔기 때문에 발아 후 새싹에 이르기까지 발육단계별 생리활성 변이 연구는 아직 미미한 실정에 있다.

항산화효소는 식물에 유해한 활성산소를 소거하는 작용이 있으며, 그 활성의 증가는 온도 변화나 영양소 부족, 수분 스트레스, 오존 노출 등과 같은 환경스트레스에 대한 식물 내성을 증가시키는 것으로 알려져 있고, 식물종에 따라

서도 그 정도가 다양한 것으로 보고되어 있다(Chung *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 1999). 과산화적 스트레스에 대한 적응과정 중에는 유해한 활성산소를 소거하기 위해 ascorbate peroxidase(APX), guaiacol peroxidase(GPX) 및 catalase(CAT) 등의 항산화효소의 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Blume and McClure, 1980; Nakano and Asada, 1981). 식물은 또한 활성 산소종에 대한 방어 기작으로 복합 항산화 시스템을 가지고 있는데, 특히 항산화효소의 발현은 그 중요한 역할을 한다(Davies, 1995). 항산화효소 중에서 superoxide dismutase(SOD)는 환원 산소종을 과산화수소와 산소를 전환시키는 반응을 촉매하는 효소로서 효소 분자에 들어있는 금속 조효소의 종류에 따라 Cu/Zn-SOD, Mn-SOD 및 Fe-SOD로 구분된다(Bowler *et al.*, 1992). SOD에 의해서 유기된 과산화수소는 peroxidase(POD)나 catalase(CAT)에 의해서 물 분자와 산소 분자로 분해됨으로써 과다한 활성 산소종에 의한 피해를 감소시키는 것으로 알려져 있다(Anderson *et al.*, 1995). 동부를 실내조건에서 콩나물과 같은 조건에서 재배되는 경우의 주요한 항산화효소 활성에 대한 연구는 전무하다고 볼 수 있다.

따라서 본 연구는 동부종자로부터 매우 어린 유묘에 이르기까지의 생리활성물질 및 그 활성 변화를 알아보기 위해 건종자, 15시간 침종종자 및 1, 3, 5, 7일 동안 재배된 새싹으로부터 메탄올 추출물을 조제하여 각각의 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, 항산화성 및 항산화효소 활성차이를 검토하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

선별된 동부종자 200 g씩을 3% NaClO 용액으로 소독한 후 증류수로 세척하였고 세척한 것을 24±1°C 암실에서 15시간 증류수에 침지시킨 후, 콩나물 재배기(Miracle sprouter™, KSP-1000, Seoul, Korea)에 치상하고 하루 4회 15분씩 증류수를 살수하여 7일간 재배하였다. 재배용액으로는 증류수를 2 L씩 매일 교환하였다. 7일간 재배하는 동안 파종 후 1, 3, 5, 7일 지난 새싹을 무작위로 30개씩을 채취하여 각 부위별로 길이와 무게를 측정하였다. 채취된 샘플은 건종자, 침종종자, 1일, 3일, 5일, 7일 새싹으로서 세척한 후 사용 때까지 초저온(-60°C) 하에서 5일간

냉동·보관하였다. 보관된 시료는 동결건조(-60°C)시킨 후 마쇄하여 1 mm체에 통과시켰으며 사용 때까지 다시 냉동·보관하였다. 동결 건조된 식물체 시료 200 g씩을 95% 메탄올 2 L에 25°C에서 24시간 동안 추출하여 여과한 후 그 추출액을 50°C에서 감압 농축하여 메탄올 추출물을 얻어 동결 건조하였다. 최종적으로 각 식물체의 메탄올 추출물로부터 얻어진 평균 회수율은 약 10% 정도였다(Krygier *et al.*, 1982).

### 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법(Singleton and Rossi, 1965)에 따라 분석하였다. 각 추출물을 1 mg mL<sup>-1</sup> 농도로 조제한 후, 이 시료액 1 mL에 증류수 3 mL를 첨가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 첨가한 후 27°C shaking bath에서 혼합하였다. 5분 후 NaCO<sub>3</sub> 포화용액 1 mL를 넣어 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 640 nm에서 분광광도계(UV-1650PC, SHIMADZU, Kyoto, Japan)로 흡광도를 측정하였다. 페놀 화합물 함량은 표준물질 chlorogenic acid의 농도를 이용하여 검량선을 작성한 후 정량하였다.

총 플라보노이드 함량은 동결 건조된 각 시료 0.1 g에 Lister *et al.*(1994)의 변형된 방법에 따라 75% 메탄올을 가하여 실온에서 하룻밤 동안 추출한 다음 이 검액 1.0 mL를 시험관에 취하고 10 mL의 diethylene glycol을 가하여 잘 혼합하였다. 다시 여기에 1 N NaOH 0.1 mL를 잘 혼합시켜 37°C의 water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 50% 메탄올 용액을 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 naringin(Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 표준 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

### 항산화성

HPLC에 의해 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical) scavenging activity 검정 방법(Blois, 1958)으로서 분석대상이 DPPH 용액의 흡광도(500-550 nm)와 같은 영역에 있을 경우 HPLC를 이용하여 정량적 분석조건이 가능하다. 900 µL DPPH 용액(100 µM)과 시료용액 100 µL을 혼합한 후 암조건에서 10분 동안 반응시킨다. 900 µL DPPH 용액(100 µM)과 시료 추출물을 용해한 용

액(100 µL)을 혼합하여 상기방법으로 측정하여 시료가 첨가되지 않은 DPPH용액의 용출 peak의 면적으로 한다. Column: Shim pack(4.6×250 mm), mobile phase: MeOH-H<sub>2</sub>O(70:30, v/v), wavelength: 517 nm, flow rate: 0.8 mL min<sup>-1</sup>, attenuation: 32, injection volume: 20 µL의 HPLC 조건으로 실시하며 HPLC에 의한 DPPH radical-scavenging 활성은 다음과 같이 구할 수 있다. 또한 필요에 따라 활성이 50%일 때의 추출물의 농도를 IC<sub>50</sub>값으로 나타냈다.

$$An = (A - A_0) / A_0 \times 100$$

An : DPPH radical-scavenging 활성(%)

A : 시료가 첨가된 반응용액 중의 DPPH radical의 용출 피크면적

A<sub>0</sub> : 시료가 첨가되지 않은 DPPH radical 용액의 용출 피크면적

각 시료로부터 메탄올 추출물의 아질산염 소거작용의 측정은 1 mM NaNO<sub>2</sub> 20 µL에 시료의 추출액 40 µL와 0.1 N HCl(pH 1.2) 또는 0.2 M citrate buffer(pH 4.2) 또는 0.2 M citrate buffer(pH 6.0)을 140 µL 사용하여 부피를 200 µL로 맞추었다. 이 반응액을 37°C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 2% acetic acid 1,000 µL, Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 80 µL를 가하여 잘 혼합시켜 빛을 차단한 상온에서 15분간 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 아질산염 소거능을 구하였다(Gray and Dugan, 1975).

$$N(\%) = 1 - (A - C) / B \times 100$$

N : Nitrite scavenging 활성(%)

A : 시료가 첨가된 반응용액 중의 1 mM NaNO<sub>2</sub>의 용출 피크면적

B : 시료가 첨가하지 않은 1 mM NaNO<sub>2</sub>의 용출 피크면적

C : 대조군의 용출 피크면적

### 항산화효소 활성

주요한 항산화효소로서 ascorbate peroxidase(APX), catalase(CAT), peroxidase(POX), superoxide dismutase(SOD)의 효소활성을 측정하였다. 효소액 조제는 동결건조 시료

0.5 g에 2 mM EDTA, 1% PVP-40, 1 mM PMSF가 첨가된 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)에서 균질화하여 15,000 g로 20분간 원심분리한 다음 상층액을 항산화효소에 사용하였다. Ascorbate peroxidase(APX) 경우 extraction buffer에 위의 조성액 10 mM를 첨가하여 사용하였다. 단백질 정량은 BSA를 표준물질을 사용하여 Bradford(1976) 방법에 따라 측정하였다.

APX 활성은 Chen and Asada(1989) 방법에 따라 ascorbate의 산화 정도를 290 nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다. APX의 반응액은 0.5 mM ascorbate와 0.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 첨가된 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.5)로 하였다.

CAT 활성은 Mishra *et al.*(1993)의 방법에 의해 측정하였으며, 반응액은 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)와 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 하였다. CAT 활성은 반응액에 추출액을 가한 다음 240 nm에 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다(Chen and Asada, 1989).

POX활성은 Egley *et al.*(1983)의 방법에 의해 측정하였으며 반응액은 최종농도가 40 mM K-PO<sub>4</sub> buffer(pH 6.9), 1.5 mM guaiacol, 6.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 되도록 만든다. POX 활성은 반응액에 sample을 혼합하여 spectrophotometer를 이용해서 470 nm에서 2분간 흡광도 변화를 측정하였다.

SOD효소 활성 검정은 분석용 Kit(SOD Assay Kit-WST, Sigma-Aldrich, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 즉, SOD의 효소활성이 NBT(nitroblue tetrazolium)의 환원을 저해하는 능력을 검정하는 photochemical NBT method를 사용하였다. 반응액은 50 mM carbonic buffer (pH 10.2), 0.1 mM EDTA, 0.1 mM Xanthine, 0.025 mM NBT로 하였으며, NBT환원 저해율을 흡광도 450 nm에서 측정하였다. 각 시료에 대하여 3회 반복으로 하였으

며, SOD효소 활성은 다음의 계산식에 의해 환산하였다.

$$\text{SOD활성(NBT환원 저해율, \%)} = \frac{[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})]}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

### 통계분석

모든 항목의 분석은 3회 반복 실시하였으며 그 결과를 SAS(SAS Institute, 2000)를 이용하여 처리간의 평균치 차이는 LSD(Least Significant Difference)검정을 통해 비교·분석하였다. 각 조사항목별 상관관계( $p < 0.05$ )를 알아 보고자 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능, 아질산염 소거능 및 항산화효소 활성(APX, CAT, POX, SOD)에 있어서 각 항목 양자 간의 상관계수를 도출하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량

발아기간별 동부 종자의 생육량을 알아보기 위하여 건중자, 침중종자, 발아 후 1, 3, 5, 7일 된 동부의 신장과 생체중을 측정하였다. 그 결과 발아 후 7일까지 동부의 신장과 생체중은 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다(Table 1).

Folin-Denis방법에 따라 chlorogenic acid를 표준물질로 하여 분석한 발아 일수별 동부 메탄올 추출물 농도 1,000 mg kg<sup>-1</sup>에 대한 총 페놀 함량을 정량한 결과, 건중자(DS), 침중종자(IS), 발아 후 1일묘(1DOS), 3일묘(3DOS), 5일묘(5DOS), 7일묘(7DOS)에서 각각 63.9, 56.8, 46.4, 36.0, 29.9, 32.2 mg kg<sup>-1</sup>로 나타나 건중자에서 가장 높았고, 발아일수가 길수록 낮아지는 경향이 뚜렷하였다(Table 1).

Table 1. Plant length, fresh weight, total phenolics (TP) content and total flavonoid (TF) level of cowpea sprouts at different sprout ages. Means with the same letter within a row are not significantly different ( $p < 0.05$ )

Plant growth or compound	DS <sup>2</sup>	IS <sup>3</sup>	1DOS <sup>x</sup>	3DOS	5DOS	7DOS
Plant length (mm)	7.8±0.2 e	11.4± 0.2 e	25.8±0.3 d	60.3±1.2 c	112.5±1.4 b	169.7± 2.0 a
Plant weight (mg)	127.9±7.2 e	272.1±14.0 d	273.8±4.1 d	461.6±15.4 c	582.2±10.7 b	690.2±23.7 a
TP (mg kg <sup>-1</sup> )	63.9±0.5 a	56.8±0.3 b	46.4±0.7 c	36.0±1.1 d	29.9±0.7 e	32.2±0.7 de
TF (mg kg <sup>-1</sup> )	7.7±0.4 a	6.7±0.3 a	6.9±0.3 a	5.6±0.3 a	6.5±0.3 a	7.3±0.5 a

<sup>2</sup>DS: dry seeds, <sup>3</sup>IS: imbibed seeds, <sup>x</sup>DOS: day(s)-old sprout

한편 1,000 mg kg<sup>-1</sup> 농도의 메탄올 추출물로 측정된 발아 일수별 총 플라보노이드 함량은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘에서 각각 7.7, 6.7, 7.0, 5.6, 6.5, 7.3 mg kg<sup>-1</sup>로 나타나 발아 일수별 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다(Table 1).

이와 유사한 연구로서 Cai *et al.*(2003)은 여러 가지 페놀 화합물 중 protocatechuic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid 및 cinnamic acid 등이 함유되어 있음을 보고하였다. 하지만 발아 일수별 총 페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량의 변이에 관한 연구는 없는 것으로 나타났다.

**항산화성**

동부의 발아일수별 메탄올 추출물 1,000 mg kg<sup>-1</sup> 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 HPLC로 분석한 결과 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘 순으로 각각 87.3, 41.2, 30.4, 27.4, 28.1, 17.1%로 건종자에서

활성이 가장 높게 나타났고, 발아일수가 길수록 낮게 나타났고 발아 후 7일묘에서 가장 낮은 활성을 보였다(Fig. 1).

한편, 메탄올 추출물 1,000 mg kg<sup>-1</sup> 농도에서 아질산염 소거능은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘에서 각각 72.4, 74.8, 69.6, 78.0, 80.6, 81.4 %로 나타났으나 발아일수별 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 1).

Siddhuraju and Becker(2007)은 명갈색 동부 종자 추출물이 암갈색 종자보다 더 높은 총 페놀과 탄닌 함량을 보였으며 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH, α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH), ABTS<sup>+</sup>, FRAP를 통한 항산화 활성을 증명한 바 있다. 특히, 여러 추출물 중에서 고온으로 건조한 샘플이 가장 높은 수산화 라디칼 소거능을 보여 명갈색과 암갈색 종자 추출물이 각각 83.6%와 68.2% 활성을 보여 동부 종자의 잠재적인 항산화성이 있음을 뒷받침해 주고 있다.

**항산화효소 활성**

콩나물재배기의 미시환경에 따른 동부의 발아 일수별 주요한 항산화 효소의 활성 변이를 구명하고자 ascorbate peroxidase(APX), catalase(CAT), peroxidase(POD)와 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 측정하였다.

발아일수별 동부의 APX 활성은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘에서 각각 191.6, 632.2, 1050.3, 2360.1, 9007.7, 8076.4 unit으로 5일묘와 7일묘에서 가장 높게 나타났고, 건종자에서 가장 낮게 나타났다. CAT 활성은 APX와 유사한 경향을 보여 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘 순으로 각각 169.1, 166.9, 203.2, 532.4, 983.9, 1024.7 unit이었고 5일묘와 7일묘에서 가장 높게 나타났고, 건종자에서 가장 낮게 나타났다. 한편, POX 활성은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘에서 각각 4.8, 3.5, 8.9, 2438.6, 4197.7, 6495.6unit이었고 발아 후 1일까지는 매우 낮게 나타났고 발아 후 3일묘부터 급격히 증가하다가 7일묘에서 가장 높은 활성을 보였다. SOD 활성은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘에서 각각 4.7, 56.4, 82.6, 68.2, 71.3, 64.0 unit으로 건종자에서 가장 낮게 나타났고, 발아 후 1일묘에서 가장 높았으나 발아일수별 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다(Fig. 2).

이들의 항산화효소 활성은 식물에 유해한 활성산소를 소거하는 작용으로써 그 활성의 증가는 온도 변화나 영양소

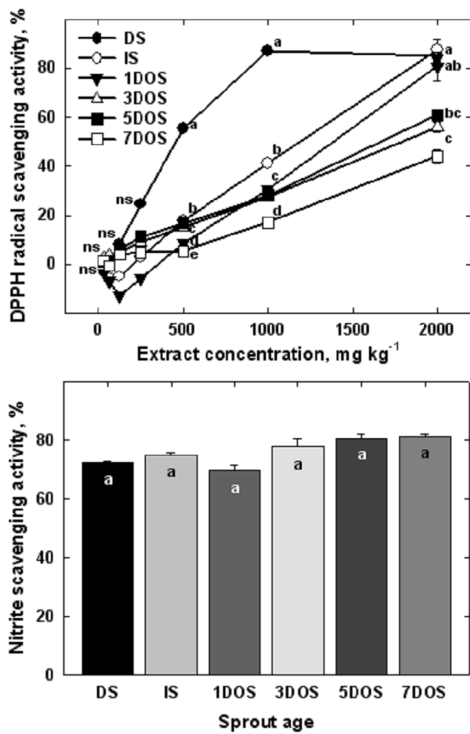


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity (top) and nitrite scavenging activity (bottom) of cowpea sprouts at different sprout ages. Means with the same letter within a same concentration (top) or in a bar (bottom) are not significantly different (*p* < 0.05).

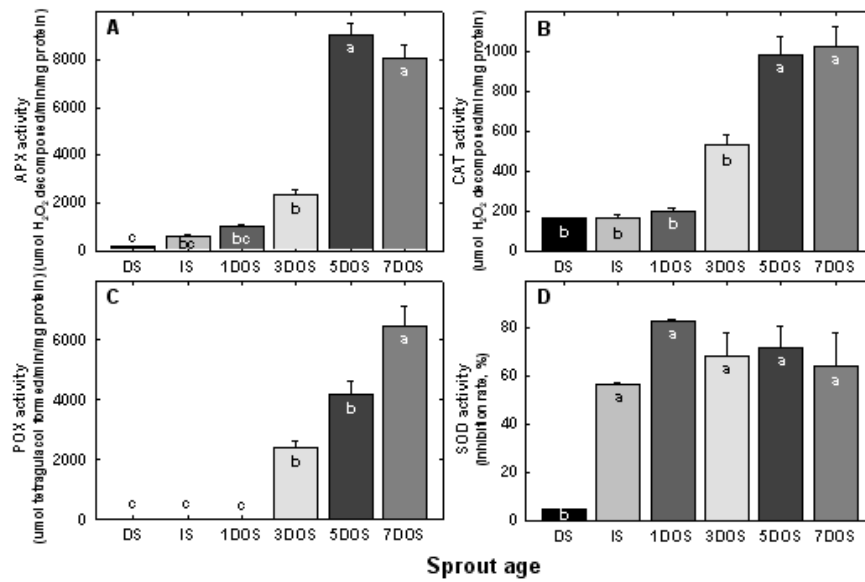


Fig. 2. APX (A), CAT (B), POX (C) and SOD (D) activities of cowpea sprouts at different sprout ages. Means with the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Correlation coefficients among physiologically-active components and their activities of cowpea sprouts

	TP	TF	DPPH	NSA	APX	CAT	POX	SOD
TP	1.0000	0.2588	0.6958	0.5761	<u>0.7103</u>	<u>0.7807</u>	0.6967	0.5090
TF		1.0000	0.0324	0.0956	0.0071	0.0278	0.0087	0.3540
DPPH			1.0000	0.5904	0.6055	<u>0.7154</u>	<u>0.8509</u>	0.2979
NSA				1.0000	<u>0.7239</u>	<u>0.8232</u>	<u>0.8143</u>	0.0560
APX					1.0000	<u>0.9574</u>	<u>0.8471</u>	0.1507
CAT						1.0000	<u>0.9427</u>	0.1407
POX							1.0000	0.1061
SOD								1.0000

\*Total phenolics content (TP), total flavonoids level (TF), DPPH radical scavenging activity (DPPH), nitrite scavenging activity (NSA), ascorbate peroxidase activity (APX), catalase activity (CAT), peroxidase activity (POD), and superoxide dismutase (SOD) activity.  $P$ -values of  $<0.05$  were considered significant.

부족, 수분 스트레스, 오존에의 노출 등과 같은 환경스트레스에 대한 식물의 내성을 증가시키는 것으로 알려져 있다 (Chung *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 1999). 따라서 발아일수가 증가할수록 효소활성은 증가하여 스트레스에 대한 내성 증가를 의미한 것으로 해석된다.

각 관련 성분과 생물활성 항목간의 상관관계를 알아본 결과 APX와 CAT 활성간이  $r^2 = 0.9574$ 로 가장 높았고, 그 다음이 CAT와 POX 활성간, POX와 DPPH 활성간, APX와 POX 활성간 순으로 상관계수( $r^2$ )가 각각 0.9427, 0.8509, 0.8471로 높게 나타났다(Table 2). 또한, 생리활성물질 총

페놀 함량( $r^2 = 0.5090 \sim 0.7807$ )은 총 플라보노이드 함량( $r^2 = 0.0071 \sim 0.3540$ )보다 항산화성과 항산화효소 활성에 더 높은 관련성이 있는 것으로 나타났다(Table 2).

결론적으로 발아일수별 생리활성물질 함량과 그 활성을 비교한 결과, 동부나물보다는 종자에서 더 높은 함량의 폴리페놀과 플라보노이드가 함유되어 있었고 항산화성도 발아된 새싹보다 종자에서 더 높은 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 한편, 항산화효소 활성은 APX와 CAT 활성은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘 순으로 유의적으로 높게 나타났고 POX 활성은 발아 후 3일묘

부터 급격히 증가하다가 7일묘에서 가장 높은 활성을 보였다. SOD 활성은 건종자에서 가장 낮게 나타났고, 발아 후 1일묘에서 가장 높았으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 따라서 동부의 생리활성물질 함량과 그 활성은 발아된 동부 새싹보다는 종자에서 더 높은 것으로 나타났다.

## 적 요

동부 종자를 7일 동안 재배하여 각 발아 일수별 새싹나물의 생육, 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, 항산화성 및 항산화효소 활성 차이를 검토하였다. 발아 일수별 동부의 신장과 생체중은 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. Folin-Denis방법에 따른 총 페놀 함량은 건종자(DS), 침종종자(IS), 발아 후 1일묘(1DOS), 3일묘(3DOS), 5일묘(5DOS), 7일묘(7DOS)에서 각각 63.9, 56.8, 46.4, 36.0, 29.9, 32.2 mg kg<sup>-1</sup>로 나타나 건종자에서 가장 높았고, 발아일수가 길수록 낮아지는 경향이 뚜렷하였다( $p < 0.05$ ). DPPH 라디칼 소거능은 추출물 농도가 증가할수록 높은 활성을 보였으며 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘 순으로 각각 87.3, 41.2, 30.4, 27.4, 28.1, 17.1%로 건종자에서 가장 높게 나타났고, 발아일수가 길수록 낮아지는 경향이 뚜렷하였으며 발아 후 7일묘에서 가장 낮은 활성을 보였다. 항산화효소 활성은 APX와 CAT 활성은 건종자, 침종종자, 발아 후 1일묘, 3일묘, 5일묘, 7일묘 순으로 유의적으로 높게 나타났고 POX 활성은 발아 후 3일묘부터 급격히 증가하다 7일묘에서 가장 높은 활성을 보였다. SOD 활성은 건종자에서 가장 낮게 나타났고, 발아 후 1일묘에서 가장 높았으나 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 생리활성물질과 그 활성간의 상관관계는 APX와 CAT 활성( $r^2 = 0.9574$ )간 가장 높게 나타났고, 그 다음이 CAT와 POX 활성간, POX와 DPPH 활성간, APX와 POX 활성간 순으로 각각 0.9427, 0.8509, 0.8471로 높게 나타났다. 또한, 생리활성물질 중 총 페놀은 총 플라보노이드에 비해 높은 함량을 보였고 이는 항산화성과 항산화효소 활성에 더 높은 관련성이 있는 것으로 나타났다.

## 사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림수산식품기술기획평가원의 연구개발과제(111134-02-1-HD120) 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

## 인용문헌

- Abdullah, A. and R.E. Baldwin. 1984. Mineral and vitamin contents of seeds and sprouts of newly available small-seeded soybeans and market samples of mungbeans. *J. Food Sci.* 49:656-657.
- Anderson, M.D., T.K. Prasad and C.R. Stewart. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.* 109:1247-1257.
- Bau, H.M., C. Villalume, J.P. Nicolas and L. Mejean. 1997. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soybean (*Glycine max*) seeds. *J. Sci. Food Agric.* 73(1):1-9.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1200.
- Blume, E. and J.W. McClure. 1980. Developmental effects of Sandoz 6706 on activities of enzymes of phenolic and general metabolism in barley shoots grown in the dark or under low or high intensity light. *Plant Physiol.* 65:238-244.
- Bowler, C., M. Van Montagu and D. Inze. 1992. Superoxide dismutases and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43:83-116.
- Bradford, M.M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Cai, R., N.S. Hettiarachchy and M. Jalaluddin. 2003. High-performance liquid chromatography determination of phenolic constituents in 17 varieties of cowpeas. *J. Agr. Food Chem.* 51:1623-1627.
- Chen, G.X. and K. Asada. 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell Physiol.* 30:987-998.
- Chen, L.H., C.E. Well and J.R. Fordham. 1975. Carbohydrate analysis : A practical approach. IRL press Ltd., Oxford, England. p. 23.
- Cho, J.Y. 1990. Upland Crops (4th Ed.). Hyangmoonsa, Seoul, Korea. p. 535.
- Chung, I.M., K.H. Kim, D.K. Song and B.H. Kang. 1999. Physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) varieties to ozone. *Kor. J. Environ. Agr.* 18:11-17 (in Korean).
- Danisová, C., E. Holotnáková, B. Hozováand and V. Buchtová. 1994. Effect of germination on a range of nutrients of selected grain and legumes. *Acta Alimentaria* 23:287-298.

- Davies, K.J.A. 1995. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. In Rice-Evans C., B. Halliwell and G.G. Lunt (eds.), Free Radicals and Oxidative Stress: Environment, drugs, and food additives. Biochem. Soc. Symp. 61, Portlant Press, London, UK. pp. 1-32.
- Egley, G.H., R.N. Paul, K.C. Vaughn and S.O. Duke. 1983. Role of peroxidase in the development of water-impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. Plant 157:224-232.
- Frota, K.M.G., S. Mendonca, P.H.N. Saldiva, R.J. Cruz and J.A.D. Ageas. 2008. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and protein isolate in hamsters. J. Food Sci. 73:235-240.
- Gray, J.I. and L.R. Jr. Dugan. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. J. Food Sci. 40:981-984.
- Gutiérrez-Urbe, J.A., I. Romo-Lopez and S.O. Serna-Saldívar. 2011. Phenolic composition and mammary cancer cell inhibition of extracts of whole cowpeas (*Vigna unguiculata*) and its anatomical parts. J. Funct. Foods 3:290-297.
- Kang, S.J., J.Y. Oh and J.D. Jung. 1999. Changes of antioxidant enzyme activities in leaves of lettuce exposed to ozone. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40:541-544 (in Korean).
- Kim, W.J., N.M. Kim and H.S. Sung. 1984. Effect of germination on phytic acid and soluble minerals in soymilk. Korean J. Food Sci. Technol. 16(3):358-362 (in Korean).
- Krygier, K., F. Sosulski and H. Lawrence. 1982. Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure. J. Agric. Food Chem. 30:330-334.
- Lister, C.E., J.E. Lancaster, K.H. Sutton and J.R.L. Walker. 1994. Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. J. Sci. Food and Agric. 64:155-161.
- Madhujith, T., M. Naczka and F. Shahidi. 2004. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Food Lipids 11:220-233.
- Mishra, N.P., R.K. Mishra and G.S. Singhal. 1993. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact what leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant Physiol. 102:903-910.
- Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22:867-880.
- Oh, B.Y., B.H. Park and K.S. Ham. 2003. Changes of saponin during cultivation of soybean sprout. Korean J. Food Sci. Technol. 35(6):1039-1044 (in Korean).
- Salunke, B.K., H.M. Kotkar, P.S. Mendki, S.M. Upasani and V.L. Maheshwari. 2005. Efficacy of flavonoids in controlling *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae), a post-harvest pest of grain legumes. Crop Prot. 24:888-893.
- SAS (Statistical Analysis Systems) Institute. 2000. SAS/STAT user's guide. Version 7. Electronic Version. Cary, NC, USA.
- Siddhuraju, P. and K. Becker. 2007. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry 101:10-19.
- Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. A colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Viticult. 16:144-158.
- Sowmya, P. and P. Rajyalakshmi. 1999. Hypocholesterolemic effect of germinated fenugreek seeds in human subjects. Plant Foods Hum. Nutr. 53:359-365.
- Suaaex, I., M. Clutter and V. Walbot. 1975. Benzyladenine reversal of ascorbic acid inhibition of growth and RNA synthesis in the germination bean axis. Plant Physiol. 56:575-578.
- Tao, K.L. and A.A. Khan. 1976. Changes in isoperoxidases during cold treatment of dormant pear embryo. Plant Physiol. 57:1-4.
- Von Hofsten, B. 1979. Legume sprout as a source of protein and other nutrients. J. Am. Oil Chemists' Soc. 56:382-392.

(Received 19 October 2012 ; Revised 14 January 2013 ; Accepted 30 January 2013)