식물세포배양기술을 이용한 순무 캘러스 추출물의 생리활성

신수영 · 모상현 · 황유진

Biological activities of *Brassica rapa* (Turnip) callus extracts by plant cell culture technology

Su Young Shin · Sang Hyun Moh · You Jin Hwang

Received: 4 March 2016 / Revised: 26 April 2016 / Accepted: 30 April 2016
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The purpose of this study was to investigate biological activities of *Brassica rapa* (Turnip) plant callus extracts of Ganghwa-gun of Incheon city using water, ultrasonic wave and ethanol extractions to develop functional materials. DPPH radical scavenging activities of the callus extracts were increased in a concentration-dependent manner, as compared with control. The astringent effects of the ethanol extracts were higher, as compared to water and ultrasonic extracts. In the collagen synthesis assay, the ethanol extract showed significant anti-wrinkle effects of 59% and 78% at a concentration of 5 ppm and 10 ppm, respectively. These results suggested that water, ultrasonic wave and ethanol extracts of turnip plant calluses are natural antioxidant sources. Especially, the ethanol extract can be regarded as a functional, natural cosmetic material with astringent and anti-wrinkle effects.

Keywords Anti-aging, Antioxidant, Sulforaphane, Cosmetic materials, Biotechnology

S. Y. Shin
국립생태원 생태보전연구실
(Division of Ecological Conservation, National Institute of Ecology (NIE), Seoecheon 33657, Korea)

M. S. Moh
㈜바이오에프디엔씨
(Anti-aging Research Institute of BIO-FD&C Co.,Ltd.)

Y. J. Hwang (✉)
가천대학교 의용생체공학과
(Department of Biomedical Engineering, College of Health Science, Gachon University, Incheon, Korea)
e-mail: ghilhwang@hanmail.net

서론

천연소재의 사용은 효능과 안전성 면에서 뛰어난 장점을 지니고 있기 때문에 천연물분리 기술 등과 관련 응용기술의 발전으로 식물성 원료 개발 및 각종 천연물 자원을 이용한 기능성 소재 개발이 가능해지고 있다(Kim et al. 2005). 이에 따라 천연소재를 활용한 항노화 및 주름개선 관련 화장품의 사용도 증가하고 있다. 화장품은 현대인의 필수품으로 인식되고 있으며 경제 수준이 높아짐에 따라 인공 화학적 원료의 소재에서 안전한 천연물로 이를 대체하고자 천연물을 이용한 기능성 소재에 대한 관심이 높아지고 있다(Kim et al. 2013; Moure et al. 2001). 또한 의학이 발달함에 따라 평균수명 연장 및 노인 인구 증가로 노화와 더불어 주름 개선 등의 피부 관리에 대한 관심도 증가하고 있다(Choi et al. 1997).

최근에는 식물조직배양기술을 이용하여 생리활성이 우수한 기능성 천연소재를 기능성 화장품 분야에 활용하는 연구가 이루어지고 있다. 식물조직배양기술을 이용할 경우 특정 Cell line의 유지 및 보존, 주기적인 계대배양으로 인한 오염방지, 인건비 등 경비절감이 가능한 장점이 있다(Lee et al. 2015). 식물조직배양은 식물의 세포 및 기관을 연중 균일하게 대량 생산하는 가장 보편적인 방법으로, 식물체로부터 기관, 조직 및 세포를 적출 분리하여 기내에서 영양분이 함유되어 있는 배지를 이용해 무균 배양함으로써 캘러스(callus)를 단세포의 집단으로 유기하거나 완전한 기능을 가진 식물체로 재생시키는 기술을 말한다(Oh et al. 2014). 현재 화장품 분야에 있어서 ‘식물줄기세포’라 불리는 식물의 캘러스 소재가 새로운 소재로 활용되고 있지만, 다양한 식물줄기세포 소재가 개발되지 못한 상황이다(Oh et al. 2014).

순무(*Brassica rapa* ssp.)는 양귀비목 십자화과(*Brassicaceae*)

의 두해살이 풀로서, 뿌리와 잎을 식용할 수 있는 채소이다. 여름철에 파종하고, 가을에 발아하며, 월동한 다음 해 봄에 꽃줄기가 자란 후 노란 십자 모양의 꽃이 핀다. 뿌리의 모양은 팽이와 유사하고 껍질 색은 적자색 또는 녹색을 띠며 무보다 순한 맛을 지니나 무와는 다른 독특한 맛을 나타낸다 (Bang et al. 2009). 순무에 대한 연구로는 순무 뿌리의 성분분석 (Kim et al. 2004), 이화학적, 기능적 특성 (Park et al. 1999), 화학적 특성 및 효소활성 (Kim et al. 2007), 유산균 발효액의 제조 (Yamani et al. 1993), 순무 싹의 화학성분과 생리기능성 (Ha et al. 2009), d-galactosamine 유발 간 장해 보호효과 (Choi et al. 2006), 잣빛곰팡이병에 대한 순무잎의 반응과 glucosinolate 함량변화 (Kwon et al. 2014) 등에 대한 연구가 보고 되어 있다. 위와 같이 순무의 성분분석 연구나 생리활성 연구가 진행되고 있지만 식물조직배양기술을 이용한 순무 캘러스 배양 유도 및 순무 캘러스를 이용한 생리활성에 대한 연구는 미진한 실정이다. 이에 본 연구에서는 강화군의 특화작물인 순무로부터 기능성 화장품 천연소재로의 적합성을 알아보고자 추출용매에 따라 순무 캘러스 추출물의 생리활성 기능을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

캘러스유도 및 계대배양

본 실험의 재료로 인천광역시 강화군의 순무 종자를 구입하여 사용하였다. 종자의 표면 살균을 위해 70% 에탄올 (Ethanol)에 30초간 침지, 0.3% 차아염소산나트륨 (Sodium hypochlorite)에 10~15분 진탕하여 살균 후 멸균수로 세척하였다. 무균상태의 순무 종자를 기본 MS배지 (Duchefa, Cat No. M0221.0050)에서 7일 동안 키워 발아를 유도하였다. 발아를 유도한 순무 식물체에서 적당히 자란 자엽을 잘라 식물생장조절물질이 함유된 배지 (1L당 2,4-D 1.5 mg, NAA 0.1 mg, kinetin 0.25 mg, IAA 0.1 mg)에 치상하여 캘러스를 유도하였다. 순무 캘러스를 식물생장조절물질이 함유된 MS 기본배지에서 치상한 후, 23±2°C의 배양실에서 16 h Light/8 h Dark 조건으로 배양하였다. 유도된 순무 캘러스는 3주 간격으로 계대배양하여 증식되었다.

추출물 제조

본 연구에 사용된 추출용매는 정제수 (3차 증류수)와 70% 에탄올 2 가지이며, 추출방법은 열수추출, 초음파추출 그리고 에탄올추출의 3 가지 방법을 사용하였다. 열수추출은 건조된 순무 캘러스 0.7 g에 증류수 20 ml을 넣어서 121°C에서 15 분간 추출하고 거즈로 여과한 후, 여과된 추출물을 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 초음파추출은 건조된 순무 캘러스 0.7 g에 70% 에탄올 20 ml을 넣어서 초음파 수조 (JAC 4020P)에서 온도를 60°C로 유지하며, SONIC HIGH (500 W)로 1 시간 동안 추출하고 거즈로 여과한 후, 여과된 추출물을 동결 건조하였다. 순무 캘러스의 에탄올 추출은 건조된 순무 캘러스 0.7 g에 70% 에탄올 50 ml을 가한 다음 냉각기를 부착하여 2 시간 동안 환류 추출하였고, 여과지 (Whatman No.2)로 여과 후, 여과액을 회전식 감압증발기 (CCA-1110, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 얻은 액을 동결건조 시켰다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma D9132-1G, USA) radical 소거활성은 DPPH가 에탄올상에서 발생시키는 free radicals에 대한 시료의 소거능을 측정함으로써 항산화 효과의 직접적인 작용 정도를 파악할 수 있다. 1% 캘러스 추출물 시료와 혼합하여 자유라디칼의 양이 어느 정도 감소하는지 확인하였다. 구체적으로는 에탄올 0.4 ml에 0.1 mM의 DPPH 용액 0.5 ml을 일정농도로 희석된 시료 0.1 ml를 첨가한다. 10초간 강하게 vortexing 후 냉암소에서 30분간 반응시킨다. Spectrophotometer (Multiskan GO Microplate, Thermo Scientific, MA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Fotakis et al. 2006; Huang et al. 2005; Potapovich et al. 2011).

DPPH 라디칼 소거능

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma D9132-1G, USA) radical 소거활성은 DPPH가 에탄올상에서 발생시키는 free radicals에 대한 시료의 소거능을 측정함으로써 항산화 효과의 직접적인 작용 정도를 파악할 수 있다. 1% 캘러스 추출물 시료와 혼합하여 자유라디칼의 양이 어느 정도 감소하는지 확인하였다. 구체적으로는 에탄올 0.4 ml에 0.1 mM의 DPPH 용액 0.5 ml을 일정농도로 희석된 시료 0.1 ml를 첨가한다. 10초간 강하게 vortexing 후 냉암소에서 30분간 반응시킨다. Spectrophotometer (Multiskan GO Microplate, Thermo Scientific, MA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Fotakis et al. 2006; Huang et al. 2005; Potapovich et al. 2011).

DPPH 라디칼 소거능(%) = {1-(각 시료액의 반응흡광도/무첨가 시료액의 반응흡광도)}X100(%)

순무캘러스 추출물의 HPLC 분석

순무 캘러스 소재의 열수 추출, 초음파추출 및 에탄올추출물의 성분검증은 고성능 액체크로마토그래피 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)를 이용하였다. HPLC기기는 Waters 650E Advanced Protein Purification System를 사용하였고 컬럼(Column)은 규격 250 * 4.60 mm, 5 µm인 Gemini 5u C18 110 A (Phenomenex, CA, USA)을 사용하였으며, 1 mL/min의 유속으로 230 nm(UV 램프)의 검출파장으로 분석을 했고, 용매로는 Water (0.1% Trifluoro acetic acid 함유)와 Acetonitrile (0.1% Trifluoro acetic acid 함유)을 사용하였다. Injection volume는 각각의 추출법에 의하여 얻어진 추출물을 필터하여 20 µl로 주입하여 각각의 추출물들의 성분검증을 수행하였다 (Ha et al. 2008; Kim et al. 2009; Oh et al. 2014)

Astringent 활성 측정

수렴효과 측정을 위해 피부단백질과 유사한 혈액단백질 (hemoglobin)을 사용하였으며 Lee (2002)의 방법에 따라 측정하였다. 원심 분리관 용기에 각각의 시료용액과 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 1,500 rpm에서

3분간 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수렴 효과의 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다(Jeon et al. 2012; Lee et al. 2002).

$$\text{수렴효과}(\%) = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

Collagen 생합성량 측정

콜라겐 생합성량을 측정하기 위해 Procollagen Type I C peptide EIA kit (Takara Biomedical Co.)를 사용하였다. 먼저 세포배양을 하기 위해 섬유아세포(CCD-986sk cell)를 1% 페니실린/스트렙토마이신, 10% FBS (fetal bovine serum)가 함유된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)에서 37°C를 유지하여 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기 내에서 배양하였다. 각 시료는 농도별(1, 5 그리고 10 ppm)로 3번 반복하여 측정하였으며 구체적으로는 Antibody-PoD conjugate solution 100 µl를 well에 넣은 다음 1/5로 희석한 세포배양액 및 표준액 20 µl을 넣고 37°C에서 3시간 배양한 후 인산염완충액으

로 4회 세척한다. 발색시약 100 µl를 넣고 상온에서 15분간 배양하고 1N 황산 100 µl를 넣은 다음 450 nm에서 ELISA reader로 측정한다(Ko et al. 2013; Lee et al. 2012).

통계분석

모든 실험결과는 평균값과 표준편차(means±SD)로 표현하였고 각 실험 구 간의 차이는 paired t-test 및 ANOVA로 통계의 유의성(p<0.05)을 검증하였다.

결과 및 고찰

캘러스 유도 및 계대배양

순무 종자를 살균 한 후 발아유도를 통해 얻은 순무 성체에서 잎과 줄기를 잘라 식물생장조절물질이 함유된 고체배지에서 캘러스를 유도하였다. Figure 1은 유도된 순무 캘러스를 보여주며 이렇게 유도된 순무 캘러스는 액상배지에서 3

Fig. 1 Callus induction of *Brassica rapa* (Turnip) on MS medium. (A-D) 1 day (A), 3 days (B), 7 days (C) and 14 days (D) after germination from Turnip seeds of Ganghwa-gun. (E-J) Cotyledon (E-G) and hypocotyl (H-J) segments transferred to MS medium and their callus inductions

Fig. 2 Antioxidant activities of indicated callus extracts on DPPH radical scavenging assay. All the data shown are the means of at least three independent experiments and represent as their average values

주 간격으로 대량 배양하여 유지 및 증식시켰다. 본 연구에서 배양한 순무 캘러스를 열수추출, 초음파추출 및 70% 에탄올 추출 방법을 통해 추출한 후 각 추출물을 농도별로 사용하여 생리활성 분석을 진행하였다.

항산화 효과

항산화 능력을 평가하기 위하여 DPPH free radical scavenging activity를 확인하였으며 순무 캘러스의 추출방법 및 농도차이에 따른 항산화 효과는 Figure 2에 측정된 결과를 나타내었다. 각 추출물을 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도로 처리하였을 경우, 열수추출법에 의하여 5%, 19%, 31% 효과를 보였고, 초음파추출법에 의하여 6%, 19%, 36% 효과를 보였으며, 70% 에탄올 추출법에 의하여 31%, 33%, 60%의 효과를 보여 DPPH 자유라디칼 소거능이 농도 의존적으로 증가되는 것을 확인하였다(Fig. 2). 또한 70% 에탄올 추출방법에 의하여 추출된 순무 캘러스의 경우 정제수를 사용한 대조군과 비교하여 0.1 mg/ml의 적은 농도에서도 효과가 높게 나타났으며 열수 및 초음파 추출물보다 항산화 활성이 농도별로 가장 높게 나타났다. 이는 Ha et al. (2009)의 순무썩 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능 실험에서 0.25, 0.5, 1 mg/ml의 농도로 처리하였을 경우 각각 15.28%, 43.39%, 69.29%의 DPPH radical 소거능 효과가 나타난 결과와 유사함을 확인 할 수 있었다. 또한 Kim et al. (2004)과 Bang et al. (2008)의 실험에서 순무뿌리를 메탄올로 추출한 후 EtOAc와 BuOH로 용매분획을 하면 indole계 화합물과 phenolic acid계 성분 등이 분리되며 이 물질들은 항암활성, 식물성장호르몬, 항산화 작용, 소염작용 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다고 보고한 바 있다. 이에 따라 열수나 초음파로 추출한 경우도 항산화 효과를 나타내었지만 유기용매인 에탄올 용매에서 추출한 경우 항산화 효과가 더 높게 나타난 것으로 사료된다.

브로콜리, 무, 배추, 갯 등의 십자화과 식물들은 항산화 효과가 높은 sulforaphane(설폰라판) 물질을 함유하는 것으로 잘 알려져 있으며 GC/MS분석을 통해 십자화과 식물 중 브로콜리 다음으로 강화군 순무에서 sulforaphane 물질이 다량 함유되어 있다고 보고 된 바 있다(Kim et al. 1997). Sulforaphane에 의한 항산화 효소의 발현 유도는 산화적 손상에 의한 유전자 변형을 막아준다고 알려져 있으며 발암억제에 중요한 역할을 하는 제2상 효소(phase 2 enzyme)를 활성화하여 세포 내에서 발암물질을 제거하는 효과를 가지는 것으로도 알려져 있다(Chiao et al. 2002; Kim et al. 2009). 본 연구에서는 순무 캘러스 소재의 열수 추출물, 초음파 추출물 및 에탄올 추출물의 Sulforaphane 물질 분석을 위해 HPLC 기기를 이용하였다. 그 결과, Figure 3A는 브로콜리 및 순무의 활성성분으로 알려진 Sulforaphane의 standard peak를 나타내며 실험구인 순무 캘러스 초음파 추출물 및 에탄올 추출물에서 표준물질의 Sulforaphane 물질과 같은 retention time을 보이는 peak를 확인하였다(Fig. 3). 이와 같이 순무 캘러스 배양을 통해서도 Sulforaphane 물질을 함유하고 있다는 것을 확인 할 수 있었으며 순무캘러스 에탄올 추출물에서 DPPH자유라디칼 소거능이 열수 및 초음파 추출물보다 탁월함으로 에탄올 추출물에서 유용한 성분을 더 많이 함유하고 있을 것으로 사료되며 순무 캘러스 대량 배양이 가능한 장점을 이용해 천연 항산화 화장품 소재로서 활용이 가능할 것으로 기대된다.

수렴효과

수렴작용은 피부 단백질이 flavonoids와 가교적 결합 형태로 생성되어 피부가 수축되는 현상을 말한다(Jo et al. 2012). 본 연구에서는 헤모글로빈의 단백질이 추출물과 결합하는 정도에 따라 수렴효과 정도를 확인하였다. 순무 캘러스 추출

Fig. 3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) assay for sulforaphane determination from turnip plant callus extracts. A; Sulforaphane standard, B; water extract, C; Ultrasonic wave extract, D; 70% EtOH extract. Arrows indicate sulforaphane at 16 min retention time

물을 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도로 처리하였을 경우, 열수추출법에 의하여 1.3%, 1.7%, 4.5% 효과를 보였고, 초음파 추출법에 의하여 0.0%, 2.3%, 6.4% 효과를 보였고, 70% 에탄올 추출법에 의하여 4.7%, 15.5%, 32.7%의 astringent 효과를 보였다 (Fig. 4). 순무 캘러스 추출물의 농도별 Astringent 활성을 측정한 결과, 열수 추출물 및 초음파 추출물에서 수렴효과는 미비하였으나 70% 에탄올 추출물에 의해 astringent 효과가 농도 의존적으로 (0.1 ~ 1 mg/ml) 높게 나타남을 확인하였다. 이와 같이 순무 캘러스 70% 에탄올 추출물의 경우 모공축소 및 피부 보호 작용이 우수한 기능성 화장품 소재로서 적용이 가능할 것으로 사료된다.

주름개선 효과

활성산소의 증가와 자외선 노출 등으로 인한 피부 노화는 결과적으로 콜라겐의 구조적인 파괴를 유발하고 피부탄력을 감소시켜 주름을 생성한다. 피부의 주름형성과 밀접한 연관이 있는 콜라겐은 프로 콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성되며 프로 펩타이드의 양을 측정함으로써 콜라겐 합성 정도를 확인할 수 있다 (Kim et al. 2006; Kim et al. 2015). 본 연구에서는 피부 섬유아세포를 이용한 콜라겐 생합성량 측정을 통해 순무 캘러스 추출물의 주름 개선 효과를 확인하였다. 또한 순무를 이용하여 순무캘러스와 동일한 방법으로 실험하여 주름 개선 효과를 확인하였다. 그 결과, 순무의 열수, 초음파 및 에탄올 추출물과 순무캘러스의 열수 및 초음파 추출물에 의한 콜라겐 생합성량의 증가는 나타나지 않았다. 그러나 순무 캘러스 에탄올추출물에서 대조군에 비해 5 ppm 농도로 처리하였을 경우 59%, 10 ppm 농도로 처리하였을 경우 78%의 높은 콜라겐 생합성량을 나타내었다

Fig. 4 Astringent effects of various turnip plant callus extracts. Tannic acid was used as positive control (T; tannic acid)

Fig. 5 Anti-wrinkle effects of water (A, E), ultrasonic wave (B, F) and ethanol (C, G) extracts of turnip plant (A–C) and turnip plant calluses (E–F) using procollagen synthesis assay. All the data shown are the means of at least three independent experiments and represent as their average values

(Fig. 5). 조직배양을 통한 순무 캘러스 에탄올추출물이 프로콜라겐 합성을 농도 의존적으로 증가시키는 것을 확인하였으며 주름형성을 개선하는데 우수한 효과가 있는 기능성물질로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 산업통상자원부 지원으로 가천대학교의 강화특화 헬스케어 소재의 글로벌제품화 육성사업(과제번호: R0001090)의 연구과제로 수행되었다.

적 요

본 연구에서는 인천광역시 강화군의 특화작물을 이용한 기능성 소재를 개발하기 위해 순무 캘러스를 배양하고 열수, 초음파 그리고 에탄올 추출하여 생리활성을 평가하였다.

순무 캘러스의 열수, 초음파 그리고 에탄올 추출물에서 DPPH radical 소거활성이 대조군에 비해 농도 의존적으로 증가하였다. 순무 캘러스 에탄올 추출물의 수렴효과는 열수 및 초음파 추출물보다 높게 나타났다. 콜라겐 생합성량을 측정된 결과 순무 캘러스 에탄올 추출물의 5 ppm과 10 ppm 농도에서 59%와 78%의 주름개선 효과를 확인하였다. 이러한 결과들은 순무 캘러스의 열수, 초음파 그리고 에탄올 추출물이 천연 항산화 소재로서의 활용이 가능할 것으로 사료되며 특히, 에탄올 추출물은 수렴효과와 주름개선 효과가 뛰어나 기능성 화장품 천연소재로서의 활용이 가능할 것으로 기대된다.

References

- Bang MH, Lee DY, Han MW, Chng HG, Jeong TS, Choi MS, Lee KT, Baek NI (2009) Isolation and identification of secondary metabolites from the roots of *Brassica rapa* J. Plant Biotechnol

- 36:64–67
- Choi HC, Oh CH, (1997) Evaluation of skin furrows in the ageing process using an image analysis system. *Kor. J Dermatol* 35:292–302
- Choi HJ, Han MJ, Baek NI, Kim DH, Jung HG, Kim NJ (2006) Hepatoprotective effects of *Brassica rapa* (turnip) on d-galactosamine induced liver injured rats. *Kor J Pharmacogn* 37:258–265
- Chiao JW, Chung FL, Kancherla R, Ahmed T, Mittelman A, Conaway CC (2002) Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *Int J Oncol* 20:631–636
- Fotakis G, Timbrell JA (2006) In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol Lett* 160:171–177
- Huang D, Ou B, Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53:1841–1856
- Ha JH, Han JG, Jeong HS, Oh SH, Kwon MC, Choi YB, Ko JR, Lee HY (2008) Enhancement of Immune Activities of Natural Water-Soluble Sulforaphane by Nano Encapsulation Process. *Korean J. Medicinal Crop Sci* 16:402–408
- Ha JO, Ha TM, Lee JJ, Kim AR, Lee MY (2009) Chemical components and physiological functionalities of *Brassica campestris ssp rapa* Sprouts. *J Korean Soc Food Sci Nur* 38:1302–1309
- Jeon YS, Jo BS, Park HY, Kang SA, Cho YJ (2012) Screening of biological activity of *Caragana sinica* extracts. *J Korean Soc, Food Sci. Nutr* 41:1211–1219
- Jo BS, Cho YJ (2012) Biological activity of extracts from *Acanthopanax sessiliflorum* fruit. *Korean J Food Preserv* 19:586–593
- Kim MR, Lee KJ, Kim JH, Sok DE (1997) Determination of sulforaphane in cruciferous vegetables by SIM. *Korean J. Food Sci Technol* 29:882–887
- Kim JS, Choi YH, Seo JH, Lee JW, Kim YS, Ryu SY, Kang JS, Kim YK, Kim SH (2004) Chemical constituents from the root of *Brassica campestris ssp rapa*. *Kor J Pharmacogn* 35:259–263
- Kim JY, Lee YH, Kim JY, Roh BK, (2005) Study of antioxidation action of *Lenonuri herba* extract. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 31:189–196
- Kim HH, Cho S, Lee S, Kim KH, Cho KH, Eun HC (2006) Photoprotective and anti-skin-aging effects of eicosapentaenoic acid in human skin in vivo. *J Lipid Res* 47:921–930
- Kim HR, Lee JH, Kim YS, Kim KM (2007) Chemical characteristics and enzyme activities of inchoon ge-geol radish, ganghwa turnip and korean radish. *Korean J Food Sci Technol* 39:255–259
- Kim JY, Park SH, Lee KT (2009) Sulforaphane content and antioxidative effect of cooked broccoli. *J East Asian Soc Dietary Life* 19:564–569
- Kim JS, Lee JY, Park KT, An BJ, Lee SH, Cho YJ (2013) The Biological activity from *Prunella vulgaris* extracts. *Korean. J Food Preserv* 20:234–241
- Kim DH, Park TS, Son JH (2015) Anti-wrinkle activities verification of *Buplerum falcatum* extracts on CCD-986sk. *J Appl Biol Chem* 58:183–187
- Ko SH, Kim YS, Lee JH, Kim IH, Kim SB, Roh KB, Shin SW, Jung ES, Park DH (2013) Functional characterization of callus extracts of apple ‘Hirosaki’ for cosmetic materials. *KSM Journal* 28:244–248
- Kwon ST, Kliebenstein DJ (2014) Response of turnip to *Botrytis cinerea* infection and their relationship with glucosinolate profiles. *Korean J Plant Res* 27:371–379
- Lee JT, Jeong YS, An BJ (2002) Physiological activity of *Salicornia herbacea* and Its application for Cosmetic materials. *Kor. J. Herbology* 17:51–60
- Lee JY, An BJ (2012) Whitening and Anti-wrinkling Effects of Fractions from *Prunus persica* Flos. *Korean J. Microbiol. Biotechnol* 40:364–370
- Lee NN, Choi YE, Moon HK (2015) Somatic embryo induction and plant regeneration from cold-stored embryogenic callus of *K. septemlobus*. *J Plant Biotechnol* 42:388–395
- Moure A, Cruz J. M, Franco D, Dominguez J. M, Sineiro J, Dominguez H, Nunez M. J, Parajo J. C (2001) Natural antioxidants from residual source. *Food Chem* 72:145–171
- Oh ST, Jung HS, Cho MJ, Song MY, Moh SH, Seo HH, (2014) Effect of *Artemisia annua* Linne callus induced by plant cell culture technology on wound healing. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation society* 15:5628–5636
- Park YK, Kim HM, Park MW, Kim SR, Choi IW (1999) physicochemical and functional properties of turnip. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:333–341
- Potapovich AI, Lulli D, Fidanza P, Kostyuk VA, De Luca C, Pastore S, Korkina LG (2011) Plant polyphenols differentially modulate inflammatory responses of human keratinocytes by interfering with activation of transcription factors NF- κ B and AhR and EGFR-ERK pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 255:138–149
- Yamani MI (1993) Fermentation of brined turnip roots using *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 9:176–179