

식물자원의 산화 안전성 검색

권훈정* · 강기화** · 박유경**

(*서울대학교 식품영양학과 교수 · **서울대학교 식품영양학과 대학원생)

Screening of edible plants for the development of safe health food.

Hoon-Jeong Kwon* · Ki-Hwa Kang** · Eu-Kyung Park**

Dept. of Food and Nutrition, Seoul National University
Seoul, 151-742, Korea

적 요

인간은 호흡하는 과정과 외부물질에 의해 산화적 스트레스를 겪게 되고, 생체내의 주요물질인 DNA, 단백질, 생체막 등에 손상을 주게 되어 암이나 류마티즘, 심혈관계질환과 같은 만성질환의 주요한 원인이 된다. 뿐만 아니라 생성된 자유 라디칼은 식품내의 구성성분을 파괴시킬 수 있는데, 이를 막기 위한 항산화제로서 천연 식물에서 추출물을 이용하려는 시도가 많이 이루어지고 있으나, 일부 플라보노이드의 경우 지질계에서는 보호효과를 보이나, 수용액상에서는 자유 라디칼에 의한 손상을 유도한다는 것이 보고되었다. 본 연구에서는 항산화 효과가 있다고 알려진 식물 추출물의 안전성 연구를 위하여 체내와 같은 수용액상에서 물 추출물과 에탄올 추출물을 이용하여 산화 촉진효과와 그 이외의 다른 역효과가 있는지 *in vitro* 방법으로 확인하고, 측정법들 사이의 상관관계를 밝혀 생리적으로 안전한 항산화물질을 탐색하고자 하였다. 식물의 물과 에탄올 추출액은 지질 과산화를 90%이상 효과적으로 억제시켰으며, 생성된 hydroxyl radical을 60%까지 소거할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 생체 구성성분의 산화적 손상 가능성을 확인한 *in vitro* 방법으로는 bleomycin 착화합물을 이용하여 DNA파괴를 관찰한 방법과 DNA의 구성당인 deoxyribose의 파괴를 관찰한 deoxyribose 분해능 측정법, 소포체를 이용한 단백질 산화도 측정 방법 등을 이용하였다. 그 결과, 일부 시료들에서 3가 철 이온을 환원하여 deoxyribose 및 DNA를 파괴할 수 있는 능력이 관찰되었으며, 단백질의 손상효과에 있어서도 산화 촉진력을 보이는 것들이 있었다. 산화 유도물질에 민감한 *Salmonella typhimurium* TA 102를 이용하여 돌연변이성을 조사한 결과, 느타리버섯, 더덕, 고들빼기, 고수, 머위, 비비추리 등의 물 추출물에서 산화적 손상을 유도하였다. 실험 방법 중에서 지질 과산화가 가장 민감하게 항산화효과를 측정할 수 있었으며, 철복합체의 환원력을 확인하는 bleomycin 착화합물 측정법에서 가장 큰 산화 촉진 효과가 관찰되었다. 실험 방법 간의 상관관계를 살펴본 결과, 산화 촉진 효과를 측정하는 deoxyribose 분해능은 다른 측정법들과 약하기는 하나 모두 유의적인 상관관계를 가졌다. 그러므로, deoxyribose assay는 산화 촉진효과를 확인할 수 있는 쉽고 빠른 방법이라 할 수 있다. 이처럼 항산화 효과의 확인뿐만 아니라 유해한 효과까지 검색한 후에 식품에 이용할 수 있다면 생리적으로 더욱 안전한 항산화제를 찾아내어 이용할 수 있을 것이다.

주요어: 산화적 손상 (Oxidative Stress), 활성산소종 (Reactive Oxygen Species), 식물 추출물, 항산화 효과, 산화 촉진 효과.

I. 서론

농촌의 재배 대상 식물은 꾸준히 그 범위가 넓어지고 있으나, 판매 가능성이 그 한계로 남을 수밖에 없다. 식량 자원을 중심으로 하는 주재배 작물은 상대적 부가가치가 낮아, 농촌 소득을 증대시키고 환경을 개선하기 위해서는 고부가가치의 작물의 재배가 필수적이다. 현대 사회의 소비자에게 커다란 관심을 끌고 있는 상품 중 하나가 건강보조식품이다. 현재 판매되고 있는 건강보조식품은 매우 여러 종류가 있으나, 그 효과와 기전 및 안전성이 과학적으로 입증되지 못해, 많은 종류가 짧은 수명을 끝으로 사라져가고 있다.

유해 활성 산소종이 여러 종류의 만성 질환의 원인이 되는 것이 밝혀짐으로써 이를 소거할 수 있는 물질에 관한 관심이 최근 고조되고 있다. 특히 이러한 활성 산소종은 체내대사과정 중 발생하기 때문에 외부로부터의 유입을 차단하거나, 일시적인 약물투여 등으로 제거가 어려워, 항시 이용할 수 있는 식품을 이용한 활성산소종의 제거가 가장 효율적이다. 지방의 과산화는 식품 안에만 국한된 반응이 아니라 생체 내에서도 일어나며, 일반 대사과정에서 생성되는 유해 활성 산소와의 반응으로 일어난다. 이러한 산화 부산물들은 지질 뿐 아니라 세포내의 단백질, 핵산 등의 고분자 물질에 손상을 입히고, 세포 내 고분자 물질의 산화적 손상과 노화 및 퇴행성 질환과의 관련성이 제안되고 있다¹⁾. DNA, 단백질, 지질들의 산화 산물들이 노화가 진행됨에 따라 축적되는 것이 보고되어 있으며, 이런 산화 현상을 일으키는 활성 산소종은 정상 대사과정에서 뿐 아니라 방사선이나 화학물질에 의한 발생도 보고되고 있다. 활성 산소종과 세포내의 고분자 물질의 반응 역시 자유 라디칼 반응이므로 식품 내에서 지방의 산패를 촉진시키거나 지연시키는 물질들은 원칙적으로 세포 내에서도 같은 작용을 할 수 있으리라는 예측을 할 수 있으나, 식품내의 환경과 세포내의 환경차이에 따라 그 반응성이 차이가 나기도 한다.

항산화성을 갖는다고 보고된 물질 대부분이 전통적인 식품이나 한약 제제와 같은 천연물인 것이 특

징인데 천연물의 각종 분획에서 나온 유효결과를 가지고 그 천연물자체가 효과가 있는 것으로 과장적으로 판단하거나, 지방 자동산화에 대한 효과를 체내 활성 산소 소거 효과와 구분 없이 표현하는 오류 및 오래 전부터 사용해오던 사실에 집착하여 농축액의 독성에 대해서는 간과하는 경향이 있다²⁾. 본 연구에서는 한국에서 쉽게 구할 수 있는 식물을 중심으로 하여 *in vitro*에서 산화 촉진 효과를 살펴보고, 생체 내 반응과 유사한 실험 체계를 정립하여 이 결과를 비교한 후, 지방 자동산화 방지 역할 이상의 항산화 효과가 관찰되는 동시에 산화 촉진효과가 관찰되지 않는 식물을 찾아내어 상품화 대상물질로 삼고자 하였다.

*In vitro*에서 산화 촉진 효과 (Pro-oxidant effect)의 측정은 아직 국내에서는 연구된 바 없고, 국외에서도 정제된 물질을 이용하여 연구가 행해져 왔다. 국내에서 최근 많이 연구되고 있는 항산화 효과의 연구와 더불어 산화 촉진 효과 연구가 병행되어야 지방 자동 산화 환경과는 다른 체내에서의 효과를 예측할 수 있을 뿐 아니라, 안전성면에서 믿을 수 있는 결과를 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

II. 재료 및 방법

1. 시료준비

항산화효과가 있다고 보고된 바 있는 재료와 계절과 지역별로 좁은 범위에서 출하되는 재료를 선정·구입하여, 산화촉진효과와 항산화 효과를 여러 방법으로 측정하여, 가장 효율적인 *in vitro* 방법을 선정하였다. 구입한 식품은 동결건조 후 분쇄하여 사용하였다.

준비한 재료를 이용하여 물 분획과 에탄올 분획을 다음의 방법으로 추출하여 준비하였다. 초음파 추출기를 (MES-100, CEM) 이용하였고 재료 5g당 50ml의 용매를 넣은 후 80°C에서 30분 동안 추출하는 과정을 3번 반복하여 재료 5g당 150ml의 추출액을 모았다. 각각의 추출액을 여과지로 거른 후 농축하였다. 물 분획의 경우는 동결 건조기를 이용하여 분말로 얻은 후 농축 분말의 무게에 해당하는 탈이온수를

넣어 농축액을 만들어서 냉장 보관하면서 각 실험에 이용하였다. 에탄올 분획의 경우는 농축 플라스크에 모아서 48°C, 60mmHg에서 감압 농축한 후 10ml로 부피를 맞춘 후 농축액을 만들어 냉장 보관하면서 각 실험에 이용하였다.

2. 화학발광법 (A)

Microperoxidase에 의해 ABEI가 산화되는 것을 시료가 억제하여 화학발광 (chemiluminescence)의 세기가 줄어드는 것을 측정하였다. 사용한 ABEI의 농도는 0.09mM 이었고, 시료는 각각 다섯 가지 농도로 희석해서 사용했다. ABEI 50 μ l 와 희석된 시료액을 100 μ l 씩 Berthold 시험관(75×12mm)에 넣은 후, 0.1M 의 과산화수소 100 μ l 와 microperoxidase(10mg/ml)를 1:100으로 희석하여 50 μ l 를 동시에 넣어주었다. 화학발광의 세기는 Berthold Autolumat (LB953, Berthold) 을 이용하여 2초간 측정하였다.

3. 소포체를 이용한 지질 과산화

가. NADPH 의존성 지질 과산화 (산화촉진효과, F)

간의 소포체 현탁액을 이용하여 NADPH와 시료로 유도되는 막 손상 정도를 지질 과산화물의 산물로 thiobarbituric acid 반응물질(TBARS)의 양을 측정하였다³⁾. 약 15mg/ml의 단백질을 함유한 소포체 현탁액에 인산 완충용액(10mM, pH 7.4)으로 희석하여 농축된 시료를 1.25mg 되도록 넣고 삼산화철(100 μ M)을 넣어 반응을 개시시켰다. 반응액의 총 부피는 1ml로 만들었고, 반응은 37°C에서 60분간 진행시켰다. 여기에 11.2%(w/v) trichloroacetic acid(TCA) 250 μ l 와 2%(w/v) thiobarbituric acid 500 μ l 을 가한 뒤 100°C에서 15분간 발색시켜 얼음물에 급히 냉각시키고 3600rpm에서 5분간 원심분리하여 그 상층액으로 532nm에서 흡광도를 측정하였다 (UV/visible spectrophotometer, Beckman). 시료의 색을 보정하기 위해 모든 실험에서 삼산화철을 제외한 공실험을 실시하였다.

나. 지질 과산화 보호능 (B)

간 소포체 현탁액을 이용하여 철이온과 비타민 C에 의한 막 손상에 대한 시료의 저해효과를 측정하였다. 위의 산화 촉진효과와 같은 방법을 이용하되, 환원력이 매우 강한 아스코르빈산을 함께 반응시켜, 아스코르빈산의 반응에 의해 생성된 2가 철이온 소포체막 손상을 시료가 보호하는 정도를 thiobarbituric acid 반응물질을 이용하여 측정하였다.

4. 철이온 환원에 의한 deoxyribose 분해

Aruoma 등의 방법을 변형하여 hydroxyl radical에 의해 deoxyribose가 분해되는 양을 측정하였다⁴⁾. 시료에 의해 2가로 환원된 철3가 이온이 과산화수소와 반응하여 hydroxy radical을 생성하고 이는 다시 deoxyribose를 분해시킨다. 생성된 hydroxyl radical은 에탄올과 같은 유기용매에 불잡히므로, 에탄올분획을 시료로 이용할 때에는 질소가스로 용매를 날려보낸 후에 실시하였다.

가. Deoxyribose 분해능 (산화촉진효과, G)

Deoxyribose(2.8mM), 삼산화철(20 μ M), EDTA(100 μ M), 과산화수소(1.4mM), 인산 완충액(10mM)과 시료가 들어 있도록 반응용액 1ml를 제조하였다. 이때 삼산화철과 EDTA용액은 반응용액에 넣기 직전에 미리 착화합물화시켰다. 37°C에서 60분간 반응시킨 후, 여기에 11.2%(w/v) TCA 250 μ l 와 2%(w/v) thiobarbituric acid 500 μ l 을 가한 뒤 100°C에서 15분간 발색시킨 뒤 얼음물에 급히 냉각시킨 후 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

나. Deoxyribose 보호능 (hydroxy radical 소거작용, C)

위와 같은 방법을 이용하되 강한 환원제인 아스코르빈산을 첨가하여 아스코르빈산에 의해 생성된 hydroxy 라디칼을 시료용액이 소거하는 정도를 측정한다.

5. Bleomycin 착화합법 (산화촉진효과, E)

Aruoma 등의 방법을 변형하여 철이온 화합물의 환원과정을 통해 파괴되는 DNA의 분해산물로 TBA RS의 양을 측정하였다⁴⁾. Bleomycin (0.025mg/ml), DNA(0.2 mg/ml, 염화칼슘(5mM), 삼산화철(25 μ M), 인산 완충액(30mM, pH 7.0)이 들어있도록 반응용액 1ml를 제조하고 시료를 넣어 반응을 개시시켰다. 이 혼합액을 37°C에서 60분간 반응시킨 후, 0.1M EDTA 용액을 0.1ml 첨가하여 반응을 종결시켰다. 25%(v/v) HCl 250 μ l 과 0.05M NaOH에 녹인 2% thiobarbituric acid 500 μ l를 가한 뒤 100°C에서 15분간 발색시켜 얼음물에 급히 냉각시킨 후 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. 단백질 산화 손상도 (H)

산화에 의해 간 세포체에 생성된 단백질 carbonyl의 양을 Levine 등의 방법에 따라 2,4-dinitrophenylhydrazine(2,4-DNP)과 반응시켜 측정하였다⁵⁾. 약 1.5mg 정도의 단백질을 함유한 세포체를 NADPH (0.24mM)와 Tris 완충액(50mM Tris-base, 0.15M KCl, 0.5mM MgCl₂)을 넣어 반응용액을 500 μ l로 만들어 37°C 항온 진탕 수조(150rpm)에서 60분 동안 반응시켰다. 위의 반응용액 500 μ l에 동량의 TCA 500 μ l를 가해 단백질을 침전시킨 다음 4°C에서 10,000 \times g로 15분 동안 원심분리하여 침전층을 얻은 후 500 μ l의 2,4-DNP를 넣어 잘 혼합한 후 상온에서 1시간 방치하는데 10분마다 흔들어서 주었다. 다시 TCA를 500 μ l를 넣어 단백질을 침전시키고 11,000 \times g로 3분간 원심분리한 후 침전층을 ethanol: ethylacetate(1:1) 혼합액으로 3회 세척하였다. 6M guanidine solution (pH 2.3) 0.6ml를 넣어 37°C의 진탕 항온수조(150rpm)에서 녹여낸 후 3분 동안 원심분리한 후 그 상층액을 370nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료에 2,4-DNP 대신 2M의 염산으로 동일한 과정을 실시하여 blank로 삼았다. 이때 흡광계수는 22,000M⁻¹cm⁻¹을 사용하여 농도를 계산하였다.

7. 미생물 돌연변이 유발능(I)과 보호능(D)

Ames 등과 Levin 등의 방법에 따라 oxidant에 민감한 Salmonella typhimurium TA102를 가지고 plate incorporation를 이용하여 돌연변이 유발능을 확인하였다^{6,7)}. 균주는 -80°C의 DMSO 동결보존으로부터 직접 10 μ l씩 취해 10ml의 nutrient broth에 접종하여 37°C에서 16시간 진탕 배양한 후 실험에 이용하였다. 각각의 시험관에 Oxoid nutrient broth에서 하룻밤 배양시킨 균 배양액을 100 μ l씩 넣고, 시료를 3가지 농도별로 분주한 다음 (에탄올 시료의 경우 대조군과 함께 용매를 질소가스로 날린 후에 분주) 0.2M 인산 완충 용액(pH 7.4)을 넣어 700 μ l가 되도록 맞춘 후 histidine/biotin이 첨가된 45°C top agar를 2ml 씩을 가하여 즉시 섞은 후 미리 만들어 놓은 minimal glucose agar plate상에 부어 평판 고화시킨 다음, 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 역돌연변이 집락 수를 계수하였다. 완충용액만을 넣은 자연 발생한 집락 수를 음성 대조군으로 하였고, 과산화수소(0.33mM) 200 μ l를 넣은 tube의 집락 수를 양성대조군으로 하였다. 보호능을 관찰하기 위해서는 과산화수소와 시료를 함께 처리해 과산화수소 단독 처리일 때와 감소된 돌연변이 집락 수를 비교하였다.

8. 통계처리

모든 결과는 student's t-test의 양측검정을 이용하여 유의성을 확인하였다. 그리고, 각 실험 system에서의 시료의 효과정도는 SAS를 이용하여 Duncan's multiple range test를 사용하여 각 method간의 유의차를 살펴보았다. 또한, 모든 실험을 모두 고려할 때 시료의 효과의 차이가 있는지 알아보기 위하여 역시 Duncan's multiple range test를 이용하였다. 실험 방법 사이의 상관관계는, 순위를 매겨서 비교하는 Spearman correlation방법을 이용하여 살펴보았다.

III. 결과 및 고찰

산화 촉진 작용의 검색을 위해 항산화 효과가 있

다고 보고된 식물 18가지를 선택하여 여러 가지 방법으로 항산화 능력과 산화촉진 능력을 측정하여 비교하였다.

1. 항산화작용

가. 화학발광 (A)

Microperoxidase에 의한 산화반응과 그에 따른 자유라디칼의 생성을 각 시료가 얼마나 억제할 수 있는지를 알아보았다. 2mg/ml이상의 시료들은 산화를 대부분 억제했다. 시료 분말이 녹색을 띄는 녹차, 들깨잎, 쑥, 감잎, 솔잎, 뽕잎의 물 추출액에서 눈에 띄게 농도 의존적으로 화학발광의 강도를 감소시켰다(별첨 1, 2). 녹색식물의 chlorophyll의 구리 염의 형태인 chlorophyllin이 hydroxyl radical등을 제거한다는 이전의 보고에 따르면 녹색식물군의 색소물질이 산화를 억제한 것으로 추측해 볼 수 있다⁸⁾. 홍⁹⁾에 의하면 비타민C의 경우 저농도에서는 농도가 증가함에 따라 오히려 화학발광의 강도를 증가시켜 산화촉진 효과를 보였고, 고농도에서 산화를 억제하는 것으로 나타났으며, 지용성인 비타민 E의 경우 역시 농도 증가에 따라 빛의 강도가 늘었다가 줄어드는 효과가 있었는데, 이것은 여러 항산화제에서 서로 다른 경향을 나타낸다는 보고가 있었다. 시료들의 에탄올분획에서는 모든 시료에서 농도가 증가함에 따라 빛의 강도가 증가했다가 다시 감소하는 현상이 나타났는데, 이 결과 역시 시료 내에 있는 여러 가지 비타민들이나 항산화제로서 알려진 플라보노이드류 등의 복합적인 작용에 의하여 농도에 따라 서로 다른 경향성을 보이는 것으로 보인다.

나. 소포체 지질 과산화에 대한 보호능 (B)

철2가 이온에 의한 소포체의 지질 과산화에 대한 시료들의 보호효과를 확인하기 위하여 각 반응액마다 아스코르빈산과 추출물을 첨가하여 아스코르빈산만을 반응시킨 대조군 실험에 대한 억제정도를 백분율로 표시하였으며, 시료의 색깔을 보정하기 위한 공 실험을 실시하였다. 그 결과, 다시마, 양파의 물 추출액과 더덕의 에탄올분획을 제외하고는 대부분의 시

료들이 물 추출액과 에탄올분획 모두에서 지질과산화를 80%이상 억제했다(표 1). 반응액에 넣어준 철이온과 비타민C는 Fenton반응에 따라 철2가 이온이 지질 과산화를 유도하게 되는데, 시료들에 의한 억제 효과는 철이온을 붙잡거나, 소포체를 물리적으로 보호하는 barrier의 역할을 함으로써 항산화효과를 보이는 것으로 생각해 볼 수 있다.

다. Deoxyribose 보호능 (C)

Fenton반응에 의하여 과산화수소가 깨져서 생긴 hydroxyl radical이 핵산의 구성당인 deoxyribose를 분해하게 되는데, 시료가 hydroxyl radical에 대해 얼마나 항산화 효과를 보이는지를 확인하였다. 칩뿌리와 녹차의 에탄올분획을 제외한 모든 시료의 두 가지 분획에서 40% 이상의 유의적인 보호효과를 보였고, 녹색군의 물 추출액의 경우는 60% 이상의 효과를 나타냈다. 녹차의 경우 물 추출액에서는 보호효과를 보인 반면, 에탄올분획에서는 오히려 당의 분해를 촉진시켰다(표 2). 녹차에는 100g당 18.9mg정도의 철과 698 R.E. (relative equivalent)의 비타민A, 8400 μ g의 β -carotene을 함유하고 있고(한국인 영양권장량, 1995), 그 이외의 플라보노이드류를 많이 갖고 있다. Quercetin이나 myricetin, gossypol과 같은 플라보노이드류의 일부는 deoxyribose assay에서 산화촉진 효과를 나타냈다는 보고들이 있는데¹¹⁾ 녹차의 성분 중에서 철분이 촉매 역할을 했거나 그 이외의 phytochemical이 deoxyribose의 산화를 촉진한 것으로 보여진다.

18가지 시료의 물 추출액과 에탄올분획에서 대부분이 화학발광, 소포체 지질과산화 억제, hydroxyl radical 소거효과가 있는 것으로 확인되었고, 이것은 유지를 이용했거나, 다른 실험방법을 이용했던 이전의 보고들과 일치하는 결과를 나타냈다.

2. 산화 촉진 효과

가. NADPH 의존성 지질 과산화 (F)

간의 소포체에 철 이온 첨가 없이 cyt P450에 의해 hydroxyl radical이 생성될 수 있는데 시료 자체가 이 반응에 관여하여 지질 과산화를 유도하는 효과가 있

는지 알아보았다. 산화 촉진 효과는 시료가 빠진 대조군 실험에 대한 백분율로 나타내었고, 모든 실험은 시료색을 보정하는 공실험과 양성대조군 실험을 병행하였다. 항산화효과 확인 실험에서 유의적이지는 않았으나 비교적 낮은 항산화효과를 나타냈던 김에 있어서는 유의적이지는 않았으나 약간의 지질 과산화를 증가하는 경향을 나타냈고(별첨 3), 그 외에는 지질 과산화를 유도하는 시료는 없었다. 녹색 시료 중에서 감잎, 뽕잎, 솔잎, 쑥의 물 추출액과 뽕잎의 에탄올분획에서 유의적으로 소포체의 지질 과산화를 억제시켰고, 색깔 시료 중에서는 치자, 황금, 다시마의 물 추출액에서, 모든 에탄올 추출액에서 유의적인 억제효과를 보였다. 소포체를 NADPH를 농도별로 첨가함에 따른 산화유도 효과는 없었다. 그러나, cyto-

chrome P450 reductase에 의해 free radical을 생성시키는 사염화탄소와 반응시킨 결과 NADPH의 농도에 의존적으로 지질 과산화가 유도되는 결과를 얻었다. 이것은 소포체만을 반응시킬 때에는 cyt P450과 전자 제공물질인 NADPH가 존재하더라도 자유 라디칼의 생성원이 없어서 촉진효과가 없었던 것으로 볼 수 있고, 사염화탄소는 cyt P450 reductase에 의해 NADPH를 이용하여 대사된다는 것을 확인할 수 있었다. 철이온을 환원하여 Fenton 반응이 계속 진행할 수 있게 하는 비타민 C는 사염화탄소와는 달리 산화 촉진 효과를 보이지 않았다. 비타민C에 의한 효과가 없는 것으로 보아 철이온에 의한 것이 아니라 NADPH에 의한 지질 과산화임을 확인할 수 있다. 그러므로, 실험에 사용된 시료는 금속이온에 의한 기작

표 1. 식물 추출물의 지질과산화 억제

식물	산화 억제도 (%)	
	물 추출물	알코올 추출물
감잎	100.27 ± 0.17**	98.4 ± 0.17*
김	45.3 ± 3.8*	99.4 ± 0.41*
갯잎	95.4 ± 0.35**	99.4 ± 0.1 *
녹차	90.4 ± 6.26**	98.9 ± 0.21*
느타리	89.2 ± 0.46**	110.2 ± 0.44*
다시마	5.3 ± 2.72**	74.1 ± 5.27*
더덕	90.8 ± 0.12**	43.6 ± 14.4
모과	96.6 ± 0.22**	97.3 ± 0.90*
뽕잎	92.2 ± 1.18**	99.1 ± 0.14*
솔잎	94.1 ± 2.15**	90.0 ± 0.83*
쑥	101.1 ± 0.49**	99.0 ± 0.23*
양파	0.5 ± 1.43	81.6 ± 1.71*
오미자	97.6 ± 0.13**	95.9 ± 0.53*
치자	100.7 ± 0.16**	97.7 ± 0.12*
쑥쑥리	98.3 ± 0.15**	93.0 ± 1.19*
홍삼	92.4 ± 0.40**	91.9 ± 2.17*
황금	97 ± 3.26**	97.4 ± 0.15*
황기	90.3 ± 1.1**	85.3 ± 0.17*

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

% 억제도는 대조군과 실험군 모두 공반응 값으로 보정한 후 대조군과의 비례로 구하였음.

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음. p<0.01(*), p<0.001(**)

이 아닌 NADPH 의존성 지질 과산화는 유도하지 않는다는 것을 알 수 있었다.

나. Deoxyribose 분해능 (G)

대부분의 시료에서 산화촉진 효과가 없거나 deoxyribose의 파괴를 유의적으로 억제하였으나, hydroxyl radical 생성을 촉진한 시료는 녹차의 물, 에탄올 두 추출액과 감잎, 오미자, 황금, 김, 다시마, 더덕과 양파의 에탄올 추출액에서 유의적으로 촉진효과가 나타났다(표 3). 특히 녹차와 황금, 양파의 경우는 두드러진 촉진 효과를 보였는데, 녹차의 에탄올 추출액의 경우에는 hydroxyl radical 소거효과를 확인했던 앞의 deoxyribose assay에서 음의 수치를 보인 것과 관련이 있을 것으로 보인다. 시료내 함유되어 있던

Fenton반응의 원인이 되는 철분과 산화촉진 효과를 나타내는 quercetin과 같은 플라보노이드에 의한 효과를 생각할 수 있다. 황금과 같은 한약재의 경우 성분에 대한 연구가 미흡하여 정확한 예측이 어려우나, 양파의 경우에는 플라보노이드 함량에 대한 이전의 보고에서 다른 식용채소와 달리 quercetin의 함량이 버섯이나 시금치 등에 비해 300배 이상으로 함유된 것에 따르면¹⁰⁾ 산화 촉진 효과는 quercetin과 같은 플라보노이드도 기여했을 것이라고 의심해볼 수 있다.

다. Bleomycin 착화합법 (E)

시료가 Bleomycin-Fe(III)-DNA 복합체를 환원시켜 DNA의 파괴를 촉진할 수 있는지 알아보았다. (표 4)에서 볼 수 있듯이 물추출액에서는 녹색시료의 감잎

표 2. 식물 추출물의 Hydroxyl Radical 소거에 의한 Deoxyribose 보호능

식 물	산화 억제도 (%)	
	물 추출액	알코올 추출액
감잎	65.8 ± 0.16**	49.2 ± 1.30**
김	45.4 ± 1.05*	64.6 ± 7.89**
갯잎	72.6 ± 1.78*	52.3 ± 1.35**
녹차	70.7 ± 2.82*	-35.9 ± 5.16**
느타리	46.0 ± 0.13*	20.9 ± 4.29*
다시마	55.3 ± 2.12*	57.3 ± 1.98**
더덕	45.4 ± 1.19*	115.6 ± 9.58**
모과	55.1 ± 1.26*	53.9 ± 0.69**
뽕잎	74.2 ± 1.47*	37.0 ± 1.57**
솔잎	79.2 ± 0.56*	58.9 ± 1.54**
쑥	73.4 ± 0.46*	50.11 ± 0.93**
양파	43.5 ± 0.39*	58.6 ± 4.28**
오미자	57.1 ± 2.58*	56.7 ± 3.31**
치자	51.7 ± 0.51*	50.9 ± 5.52**
칩뿌리	74.6 ± 1.03*	36.8 ± 9.01
홍삼	38.7 ± 1.67*	39.2 ± 0.87**
황금	93.6 ± 0.74*	69.0 ± 3.41**
황기	49.6 ± 0.50*	46.6 ± 1.03**

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

% 억제도는 대조군과 실험군 모두 공반응 값으로 보정한 후 대조군과의 비례로 구하였음.

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음. p<0.01(*), p<0.001(**)

표 3. 식물추출물의 철 환원력에 의한 deoxyribose 분해도

식물	산화 유도가 (%)	
	물 추출액	알코올 추출액
대조군 (아스코르빈산)	926.3 ± 54.0***	1053.6 ± 24.5***
감잎	-71.1 ± 0.17**	31.3 ± 7.30**
김	-62.6 ± 3.8***	23.1 ± 8.84*
깻잎	-43.2 ± 0.35**	8.48 ± 13.1
녹차	94.3 ± 6.26***	870.6 ± 6.21***
느타리	-39.7 ± 0.46***	10.9 ± 7.50
다시마	-49.3 ± 2.72***	20.2 ± 3.39**
더덕	-53.4 ± 0.12***	13.7 ± 2.04*
모과	-30.1 ± 0.22**	-7.3 ± 0.76
뽕잎	-49.4 ± 1.18**	-3.0 ± 5.46
솔잎	-23.6 ± 2.15*	-67.3 ± 42.2**
쑥	6.60 ± 0.49	13.2 ± 14.7
양파	-5.90 ± 1.43	149.8 ± 5.67***
오미자	-13.6 ± 0.13*	24.0 ± 2.18**
치자	-42.5 ± 0.16***	26.8 ± 14.6
쪄뿌리	-44.8 ± 0.15***	-1.1 ± 1.88
홍삼	1.60 ± 0.40	26.9 ± 07.04**
황금	-34.6 ± 3.26**	422.1 ± 7.93***
황기	-59.0 ± 1.1***	-6.81 ± 6.58
가죽나물	207.7 ± 177	23.6 ± 3.1
고들빼기	42.5 ± 127	121.2 ± 46
고수	51.5 ± 10.4	-103.5 ± 14
꽃나물	-8.1 ± 4.4	-0.5 ± 0.9
돌나물	-24.8 ± 28	216.3 ± 67
두릅	-28.5 ± 29	-63.1 ± 40
머위	7.3 ± 1.4	-217.7 ± 31.2
민들레	32.6 ± 7.8	213.1 ± 49.4
비름	8.0 ± 11.5	137.7 ± 38.7
비비추리	-7.1 ± 4.1	79.07 ± 61
산나물	47.5 ± 108	-72.4 ± 46*
얼레지	291.3 ± 159	75.5 ± 7.4
음나무	117.5 ± 190	1.97 ± 0.82
참나물	342.9 ± 37.7	-40.2 ± 29
참취	299.1 ± 21.6	-89 ± 24*
청미래덩굴	204.1 ± 138	4.4 ± 2.5
초롱잎	118.2 ± 63	-4.3 ± 1.7
피마자	-8.7 ± 9.7	-9.4 ± 4.9

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

% 유도가 대조군과 실험군 모두 공반응 값으로 보정한 후 대조군(아스코르빈산)과의 비례로 구하였음.

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음. p<0.05(*), p<0.01(**), p<0.001(***)

과 솔잎, 색깔근의 오미자, 치자에서, 에탄올 추출액에서는 솔잎을 제외한 5가지의 녹색시료와 색깔근의 치자, 황금, 양파에서 두드러지게 DNA과괴를 촉진하는 효과를 나타내었다. 이것은 서론에서 언급한 대로, 시료내의 환원성물질들에 기인한 결과로 해석할 수 있다. 국내에서 식용으로 이용하고 있는 식물류의 성분들에 대한 연구는 주요 영양성분에 있어서는 확인된 반면, 생체활성을 갖는다고 알려진 물질들(phytochemical)의 정확한 성분이나 양과 그 기작에 대해서는 아직 잘 알려지지 않았다.

라. 소포체 단백질 산화도 (H)

반응시간 동안에 시료가 단백질 산화를 얼마나 유도하였는지 알아보기 위하여 간 소포체에서 유도된 carbonyl기의 양을 측정하였다(별첨 4). 실험방법의 내재요인으로 인한 오차가 컸다. 전체적으로 산화 촉진 효과의 경향을 나타내는 시료들이 있었으나 유의적인 것은 뽕잎, 다시마, 황금, 느타리, 황기의 에탄올 분획이었다. 물추출액에서는 대조군과 비교하여 양파와 칩뿌리가 유의적으로 단백질 산화를 억제했으며, 그와 반대로 에탄올 추출액에서는 녹색근의 뽕잎, 색깔근의 다시마와 황금, 그리고 백색 식물에서는 느타

표 4. Bleomycin 착화학물법에 의한 식물추출물의 산화촉진력 측정

식 물	산화 유도도 (%)	
	물 추출액	알코올 추출액
대조군 (아스코르빈산)	1670.8 ± 48.7***	1750 ± 36.0***
감잎	373.1 ± 32.6***	272.3 ± 0.17**
김	-45.3 ± 26.1	44.1 ± 3.8
깻잎	7.60 ± 44.3	256.9 ± 0.35***
녹차	19.1 ± 23.7	262.6 ± 6.26***
느타리	-20.7 ± 21.6	-79.2 ± 0.46**
다시마	-3.9 ± 7.19	21.3 ± 2.72
더덕	-4.0 ± 21.5	33.7 ± 0.12*
모과	20.5 ± 38.5	36.0 ± 0.22
뽕잎	3.50 ± 35.2	242.2 ± 1.18***
솔잎	136.5 ± 21.0**	0.50 ± 2.15
쑥	-8.6 ± 77.6	73.4 ± 0.49**
양파	0.9 ± 30.3	261.4 ± 1.43**
오미자	138.7 ± 23.6**	2.00 ± 0.13
치자	185.2 ± 9.62***	293.5 ± 0.16***
칩뿌리	36.7 ± 10.5**	95.4 ± 0.15***
홍삼	-9.4 ± 33.2	30.8 ± 0.40
황금	45.9 ± 7.32**	70.3 ± 3.26
황기	35.2 ± 13.4*	-12.4 ± 1.1

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

유도도는 대조군과 실험군 모두 공반응 값으로 보정한 후 대조군과의 비례로 구하였음.

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음. p<0.01(*), p<0.001(**)

표 5. 식물 추출액의 활성산소종 발생에 의한 돌연변이 유발능

식물	물 추출액 Conc(mg/plate)			알코올 추출액 Conc(mg/plate)			
	0.625	1.25	2.5	0.625	1.25	2.5	
I	감잎	304±12.5	329±10.5	338±16	307±29	319±7.5	354±6.5
	갯잎	328±21.5	358±7.5	388±8.5	348±0.5	367±203	21±17
	녹차	292±19	296±17	302±64.5	321±12	314±5	291±28
	뽕잎	292±26.5	308±6.5	352±3	284±14.5	262±10	323±26
	솔잎	342±28	315±16	343±5.5	363±2	299±31.5	338±6.5
	쑥	281±16.5	296±5.5	295±15	297±0.5	286±21	265±32.5
	김	307±22.5	334±8	338±31	n.d.	394±22	n.d.
	다시마	358±11.5	354±5	359±3.5	n.d.	476±22.5	n.d.
	양파	289±11.5	331±1.5	351±2	295±42.5	268±34.5	310±10.5
	오미자290±6	277±33.5	280±2	316±20.5	286±21.5	320±14	
	치자	258±2.5	250±9	224±7	287±6.5	359±2.5	346±18
	황금	314±1	318±8.5	337±49	369±6.5	369±13.5	272±16.5
	느타리 †	367±12	4.2±27.5	453±22	387±7	385±6.5	428±29.5
	더덕 †	306±4	423±37.5	494±31.5	336±38	396±18	432±1.5
	모과	337±26	294±13	334±5.5	327±3.5	291±18	310±1.5
	취뿌리	312±37	339±8.5	327±13.5	361±77.5	374±2	315±15.5
	홍삼	307±11	299±8	302±8.5	369±4.5	326±1.5	370±21
	황기	286±36.5	316±37	330±5.5	346±19	396±18.5	458±31
음성대조군 I	297±24			370±82			
양성대조군 I	924±121			920±206			
II	가죽나물	700±3	751±33	751±106			
	고들빼기 †	667±58	684±36	740±23			
	고수 †	676±17	758±43	838±58			
	꽃나물	694±13	669±41	792±46			
	돌나물	709±	684±3	791±6			
	두릅	624±16	630±36	601±45			
	머위 †	557±41	604±70	697±4			
	민들레	686±5	601±105	652±19			
	비름	624±60	540±100	675±16			
	비비추리	717±69	745±19	783±2			
	산나물	708±2	743±2	746±79			
	얼레지	496±214	596±60	15±21			
	음나무	734±21	799±53	755±29			
	참나물 †	745±26	762±13	890±7			
	참취	712±31	746±21	716±4			
	청미래덩굴	833±70	806±48	921±54			
	조롱잎	725±3	674±34	715±53			
	피마자	730±89	751±53	793±146			
음성대조군 II	652±74						
양성대조군 II	886±89						

각란의 숫자는 His⁺ 돌연변이 균락이며 (mean±S.D), 실험은 두 번에 나누어 실시되어 각 실시 때마다, 용매만 사용한 음성대조군과 과산화수소를 이용한 유도시킨 양성대조군을 나타내었음

† 표는 농도의존적으로 돌연변이를 유도시킨 시료임.

리와 황기가 단백질의 산화를 촉진시켰다. 양성대조군으로 이용한 사염화탄소는 NADPH 의존성 지질 과산화는 크게 유도한 반면, 단백질의 산화에는 그리 큰 효과를 나타내지 않았음을 알 수 있었다. 단백질 산화를 촉진시킨 시료들에는 철이 단백질에 결합하여 주변의 단백질-철(III)-hydroxy 복합체에서 라디칼이 생성되어 carbonyl기를 생성한 것으로 보인다.

3. 미생물의 산화적 손상에 의한 돌연변이

가. 돌연변이 보호능 (D)

시험용 균주는 산화적 손상에 민감한 TA 102를 이용하여 실시하였고 돌연변이 유발물질로는 과산화수소를 이용하였다. 이 경우는 대사적 활성이 없이도 충분히 돌연변이 효과를 나타내기 때문에⁷⁾ 직접법 (standard plate incorporation)을 이용하였다. 물 추출액에서 녹색균의 뽕잎, 솔잎, 쑥에서 유의적으로 돌연변이를 억제하였는데, 특히 솔잎이 경우는 농도의존성이 두드러지게 나타나서 2.5mg/plate를 처리할 때까지 억제효과를 나타냈다. 에탄올 추출액에서는 백색균의 느타리버섯이나 칩뿌리에서 유의적인 억제효과가 나타났다(별첨 5).

나. 돌연변이 유발능 (I)

음성대조군에 비하여 student's t-test에서 유의적으로 복귀돌연변이 집락 수를 나타낸 것은 백색균의 물 추출액에서 느타리버섯과 더덕의 경우 증가하는 경향을 보였고, 에탄올 분획에서는 색깔균인 황금에서 백색균인 느타리, 칩뿌리에서 집락수의 감소를 나타냈다(표 5). 식물 추출물들의 경우에는 단순히 돌연변이 능만으로 유전 독성을 판정하기에는 무리가 있으나, 산화적 손상을 유발하는 능력을 무시할 수는 없으리라 사료된다.

또한 계절이나 지역별로 소량 판매되며, 안전성이 입증될 경우 건강보조식품으로 개발될 가능성이 있는 식물들을 수집하여 산화적 손상에 의한 돌연변이 능을 관찰한 결과(표 5, 실험군 II), 고들빼기, 고수, 머위, 비비추리 등에서 농도의존적으로 돌연변이를 발생시켰다. 특히, 열레지의 물 추출물의 경우에는 세

포 독성이 매우 강해 미생물의 생존율이 매우 낮게 나타난 것은 주목할 만하다. 이외에 에탄올 추출액의 황금과 칩뿌리, 머위의 물 추출액 등도 항돌연변이효과 및 집락수 감소를 종합하여, 세포 독성을 나타낼 가능성을 시사한다.

4. 항산화 및 산화 촉진 효과간의 상관관계

가. 방법간의 비교

Duncan's multiple range test를 실시한 결과 같은 양의 시료로 항산화효과를 확인한 4가지 실험에서 방법간의 유의적으로 다른 차이가 있었고($p < 0.001$), 물과 에탄올 두 분획 모두에서 지질 과산화와 화학발광 측정법에서 80%정도로 가장 억제효과가 큰 것으로 나타났다. 그 다음으로 60%정도의 hydroxyl radical 소거효과를 보였으며 항돌연변이 효과는 7% 정도의 가장 낮은 억제효과를 보였다. 산화촉진 효과를 확인한 5가지 실험에서 역시 방법간의 유의적으로 다른 차이($p < 0.001$)가 있었다. Bleomycin assay에서 50%이상의 가장 큰 효과를 보였으며 물추출액에서는 돌연변이원성 실험과 단백질 산화의 순서로 5-10% 정도의 촉진효과를 나타냈다. 에탄올 추출액에서는 deoxyribose 파괴와 단백질 산화의 순서로 촉진효과를 보였으며, 앞에서 언급한대로 NADPH 의존성 지질과 산화에서는 40-80%의 억제효과를 나타냈다.

이처럼 측정방법에 따라 산화 억제 정도가 다르게 나타났고, 항산화 효과가 크다고 알려진 식물 추출물들은 지질 과산화에 가장 민감하게 반응하였고, 수용액상에서는 지질계와 조금 다른 양상을 띤 것을 알 수 있다.

나. 방법간의 상관관계 비교

SAS를 이용하여 9가지 실험방법을 시료와 용매 구분 없이 방법간의 상관관계를 비교하였다. 순위를 매겨서 비교하는 Spearman correlation 방법을 이용하여 상관관계를 비교하여 $p < 0.05$ 인 것만 유의적인 관계로 보았다(표 6).

지질 과산화를 측정하는 방법과 bleomycin assay가 양의 상관관계를 나타내어 철복합체를 환원하는 능

력이 클수록 지질 과산화를 막는 효과가 크다는 것을 알 수 있었다. 그리고, 단백질 산화와 deoxyribose assay로 산화 촉진 효과를 확인한 두 실험사이에 역시 양의 상관관계를 보여 과산화수소로부터 hydroxyl radical을 생성하는 정도가 클수록 단백질의 산화 역시 촉진하는 것으로 나타났다. Deoxyribose과과가 클수록, 돌연변이 억제효과가 적었고, NADPH 의존성 지질 과산화를 억제하는 음의 상관관계를 나타내었다. NADPH 의존성 지질 과산화의 경우 산화 촉진 효과를 확인하려고 하였으나 대부분의 시료가 억제 효과를 보여 음의 수치를 갖게 되어, 산화 촉진 효과를 측정할 deoxyribose assay와 음의 상관관계를 가졌다고 볼 수 있다.

방법간의 상관관계를 고려해 본 결과, 산화 촉진 효과를 확인하는 여러 가지 *in vitro* 실험들 중에서 deoxyribose assay가 지질 과산화, 단백질 산화, bleo-

mycin assay, 돌연변이 억제효과와 약하기는 하나 유의적으로 상관성을 갖는 것을 알 수 있었다. 여러 가지 항산화제의 효능을 검색할 때에 deoxyribose assay를 병행한다면, 쉽고 빠른 방법으로 산화 촉진효과를 알아보는데 이용할 수 있을 것이다.

IV. 결론

건강 보조식품으로 개발 가능할 식물들의 물 추출물과 에탄올 추출물을 *in vitro* 방법으로 항산화와 산화 촉진 효과를 확인해 보고, 실험 방법간의 상관관계를 비교하여 보았다.

항산화 효과를 확인한 실험 중에서 시료들은 지질 과산화 억제효과와 hydroxyl 라디칼 소거에 의한 deoxyribose 보호능 측정법에서 큰 효과를 보였으며, 산화 촉진 효과의 경우 bleomycin 착화합물에 의한

표 6. 여러 가지 항산화력 측정법과 산화촉진력 측정법간의 상관관계^a

	항산화력 측정법				산화촉진력 측정법				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
항산화력 측정법									
화학발광법 (A)	1.000	-0.069	-0.077	-0.097	0.011	0.143	0.130	-0.188	0.010
소포체 지질 과산화 보호능 (B)		1.000	0.053	-0.213	0.422**	-0.174	0.114	-0.031	-0.085
deoxyribose 보호법 (C)			1.000	0.124	0.053	-0.174	-0.128	-0.134	0.104
돌연변이보호법 (D)				1.000	-0.147	0.126	-0.446**	-0.110	-0.140
산화 촉진력 측정법									
Bleomycin에 착화합물법 (E)					1.000	-0.016	0.293*	-0.006	-0.015
NADPH의존성 지질과산화						1.000	-0.280*	-0.105	0.074
deoxyribose 분해능 (G)							1.000	0.368**	-0.056
단백질 carbonyl (H)								1.000	-0.165
돌연변이능 (I)									1.000

a) Spearman correlation coefficient

유의적인 상관관계를 보이는 것은 별표로 표시하였음. p<0.01(*), p<0.001(**)

방법을 나타내는 영문 대문자는 본문 및 방법란의 표기와 같음

DNA 분해도 측정법에서 제일 큰 효과를 나타내었다. 그러나, 방법간 통계적으로 상관관계를 조사한 결과 deoxyribose 분해능 측정에 의한 산화 촉진 효과 검색이 지질 과산화, 단백질 산화, bleomycin assay, 돌연변이 억제효과와 약하긴 하나, 유의적인 상관성을 나타내어 간편한 방법을 필요로 하는 대단위 검색에 효율적일 것으로 판단된다.

물 추출액에서 가장 항산화 효과가 높게 나타난 시료는 황금, 쑥, 솔잎, 칩뿌리였으며, 양파의 경우에 있어서는 물 추출액에서 가장 낮은 항산화 효과를 보이는 것으로 나타났다. 산화촉진 효과를 확인한 결과, 물 추출액에서 감잎만이 70%정도의 높은 촉진효과를 보이는 것으로 구분되었고, 나머지의 시료는 모두 효과가 미미한 것으로 나타났다. 에탄올 추출액에 있어서는, 녹차의 경우가 가장 높은 산화촉진 효과를 보였고 다음으로 황금, 감잎, 양파, 치자, 깻잎, 칩뿌리, 뽕잎, 쑥, 다시마가 같은 그룹으로 구분되었고, 나머지는 보호효과를 나타냈다.

식물 추출물들이 NADPH 의존성 지질 과산화반응은 오히려 억제효과를 보였으나, deoxyribose와 DNA 파괴정도는 녹차와 황금, 양파의 에탄올 추출물의 경우에 눈에 띄는 산화촉진의 경향을 보여, 시료내에 철이온 환원성 있는 물질들이 다량 함유되어 있는 것을 의심해 볼 수 있다. 단백질 산화의 경우 뽕잎, 황금, 황기의 물, 에탄올 추출물에서 산화촉진의 경향을 나타냈고, 양파, 칩뿌리의 에탄올 추출물에서는 산화 억제효과를 보였다. 느타리버섯과 더덕, 고들빼기, 고수, 머위, 비비추리의 경우 돌연변이로 확인한 산화촉진 효과가 농도의존적으로 관찰되었으며, 얼레지는 강한 세포 독성을 나타내었다. 종합하면 다른 분야의 안전성 평가가 수반되어야 하나, 일차적으로 뽕잎, 칩뿌리, 황금, 쑥 등이 산화촉진 효과 없이 강한 항산화 효과를 나타낸 반면, 현재 여러 항산화 관련 효과가 널리 선전되고 있는 녹차의 경우, 환경에 따라 산화촉진 효과를 나타내어 고농도에서의 안전성 보장이 문제시된다.

항산화 효과 및 라디칼 소거능 등이 관찰되어 건강 보조 식품 또는 천연 첨가물로서의 개발 가능성이 있는 식물의 경우, 별다른 안전성 평가없이 개발

이 진행되고 있는 실정이나, 화합물 구조적 특성 때문에 위와 같이 환경에 따라서는 역으로 산화 촉진을 보일 수 있다. 이들 물질은 저농도로 식품으로 섭취할 경우에는 건강 장애 요소로 크게 작용하지 않으나 건강 보조 식품이나 첨가물처럼 고농도로 섭취할 경우에는 안전성을 보장하기 어렵다. 따라서, 항산화성 기능성 물질을 개발하기 위해서는 항산화능력과 더불어 본 연구에서와 같은 산화촉진 효과의 관찰이 필수적이라 사료된다.

참고문헌

1. Ames, B.N., Shigenaga, M.K., and Hagen, T.M., 1993, Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, p.7915.
2. 박상철, 이미숙, 오세인, 1996, 한국산 전통식품 및 천연물 중 항돌연변이, 항암, 항산화효과 물질 검색에 대한 국내연구 현황, *J. Korean Ass. of Cancer Prev.* 1, pp.46-51.
3. Chinmay, K., Mukhopadhyay, and Indu, B. Chatterjee, 1994, NADPH-initiated dytochrome P450-mediated free metal ion-independent oxidative damage of microsomal proteins, *J. Biol. Chem.* 269, pp.13390-13397.
4. Aruoma, O.I., 1991, Pro-oxidant properties: an important consideration for food additives and/or nutrient components? In: *Free radicals and Food additives* Ed, by Aruoma OI and Halliwell BH, Taylor & Francis, London.
5. Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A., Ahn, B., Shaltiel, S. and Stadtman, E.R., 1990, *Methods Enzymol.* 186, pp.464-478.
6. Ames, B.N., 1983, Dietary carcinogens and Anticarcinogens, *Science* 221, pp.1256-1264.
7. Levine, D.E., Hollstein, M., Christman, M.F. and Ames, B.N., 1984, Detection of oxidative mutagens with a new Salmonella tester

- strain(TA102). In: *Methods in Enzymol.* vol. 105, pp.249-254.
8. 김부여, 1996, Chlorophyllin에 의한 수산화 라디칼의 제거, 한국과학기술원 석사학위논문.
 9. 홍은경, 1994, Studies on the methods for antioxidant activity and cytotoxic effect and their application to the mixed extract(RIC) from *Ficus communis L.* and *Coptis Japonica*, 건국대학교 박사학위논문.
 10. Hertog, M.G.L., Hooiman, P.C.H. and Katan, M.B., 1992, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands, *J. Agri. Food, Chem.* 40, pp.2379-2383.
 11. Laughton, M.J., Halliwell, B., Evans, P.J. and Hoult, J.R.S., 1989, Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolic quercetin, gossypol and myricetin, *Biochem. Pharmacol.* 38, pp.2359-2865.

별첨 1. 화학적 발광법에 의한 식물 열수추출물의 항산화력

	0.08mg/ml	0.4mg/ml	2mg/ml	10mg/ml	50mg/ml
감잎	289923	216757	8225	4725	1690
김	110633	98517	194041	252744	38828
녹차	90164	10922	1099	10483	227
느타리	42764	70639	48593	48615	9164
다시마	17017	40951	114851	74775	56533
더덕	49518	102359	52625	80907	138891
모과	160686	105977	6616	59	735
뽕잎	135050	140031	33794	7695	3406
솔잎	415006	223478	7877	492	195
쑥	155997	88624	8522	4959	1372
오미자	152829	64726	50887	54175	10873
치자	155869	225192	73011	2643	2138
쑥쑥리	106516	112504	28988	5843	1757
황금	145470	25674	7244	354	846
황기	36911	59020	468946	20031	19255
홍삼	196179	255462	168777	9789	3414
깻잎	119150	60449	13910	5834	1400
양파	93654		124544	45169	30252

별첨 2. 화학발광법에 의한 식물 알코올 추출액의 항산화력

	0.008mg/ml	0.04mg/ml	0.2mg/ml	1mg/ml	5mg/ml
감잎	98278	174268	457691	253954	12858
김	64417	96003	146516	77035	4219
녹차	368486	538061	97439	3289	4060
느타리	79138	142178	349603	234599	28628
다시마	45326	64054	269374	722116	7040
더덕	41706	48663	322183	205023	5841
모과	39501	95788	250963	45758	271
뽕잎	62370	67170	138070	193044	10909
솔잎	58848	162842	275797	138171	1541
쑥	71110	203774	469767	223233	22196
오미자	70173	94146	698835	4133	647
치자	126061	193562	337871	74924	7762
쑥쑥리	97137		165025	87857	12456
황금	166070	364338	277220	7724	5354
황기	88542	75161	280879	226140	8985
홍삼	58394	158677	333291	213032	50349
깻잎	68707	80258	99599	20463	3516
양파	62956	124791	245462	308586	20411

별첨 3. NADPH 의존성 지질과산화

식 물	산화 유도기 (%)	
	물 추출액	알코올 추출액
사염화탄소	615.4 ± 52.2***	1023.2 ± 75.8
감잎	-45.7 ± 16.7 **	9.20 ± 13.4
김	20.5 ± 18.2	-130.6 ± 22.4*
깻잎	-52.4 ± 56.3	-65.9 ± 25.4
녹차	-40.9 ± 22.9	-25.2 ± 20.9
느타리	-20.9 ± 6.80	-117.4 ± 8.16**
다시마	-11.6 ± 1.40**	-64.1 ± 6.85**
더덕	-5.0 ± 13.6	-223.6 ± 10.6*
모과	-35.9 ± 27.2	-72.7 ± 27.9*
뽕잎	-71.9 ± 11.7**	-223.3 ± 35.5**
솔잎	-169.2 ± 19.7***	-3.80 ± 20.7
숙	-103.4 ± 22.5**	-31.8 ± 16.5
양파	-29.9 ± 18.0**	-113.5 ± 17.5*
오미자	3.60 ± 19.0	-54.8 ± 16.8
치자	-66.6 ± 13.4**	-51.7 ± 17.1
쪼뽕리	-41.9 ± 11.3*	-51.2 ± 14.1*
홍삼	-32.0 ± 23.4	-123.5 ± 22.7*
황금	-34.9 ± 6.25**	-51.3 ± 5.30
황기	-20.1 ± 12.4	-71.8 ± 12.9*

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음.

p<0.05(*), p<0.01(**), p<0.001(***)

음의 값은 결과적으로 산화억제를 의미함

별첨 4. 식물추출액의 소포체 단백질 산화력

Group	산화 유도기 (%)	
	물 추출액	알코올 추출액
Control	4.08 ± 1.80	3.89 ± 1.17
감잎	8.14 ± 3.50	5.88 ± 2.27
김	0.48 ± 1.60	4.10 ± 1.65
갯잎	23.3 ± 24.2	6.25 ± 2.34
녹차	2.62 ± 0.90	4.44 ± 0.63
느타리	5.05 ± 2.50	6.58 ± 1.31*
다시마	1.55 ± 2.40	6.73 ± 0.69*
더덕	7.42 ± 1.10	6.14 ± 0.84
모과	7.35 ± 2.60	6.47 ± 0.50
뽕잎	10.4 ± 4.00	6.83 ± 0.56*
솔잎	5.39 ± 3.10	7.29 ± 1.58
Control	20.3 ± 0.96	
쭈	22.1 ± 2.86	5.40 ± 1.49
양파	11.4 ± 2.38*	6.55 ± 1.39
오미자	13.9 ± 2.46	5.35 ± 0.91
치자	16.6 ± 2.97	5.05 ± 0.40
참뿌리	13.4 ± 1.40**	7.12 ± 1.87
홍삼	23.5 ± 12.9	7.43 ± 0.72
황금	11.3 ± 5.70	10.7 ± 2.38*
황기	14.1 ± 5.50	9.35 ± 0.89*

수치는 3반복 실험의 평균과 표준편차임

Student's t-test에 의해 비교할 때 대조군과 유의적으로 다른 것을 별표로 표시하였음. p<0.05(*), p<0.01(**)

별첨 5. 식물 추출액의 활성산소종 발생에 의한 돌연변이 억제능

식물	물 추출액 Conc(mg/plate)			알코올 추출액 Conc(mg/plate)		
	0.625	1.25	2.5	0.625	1.25	2.5
감잎	840±17.5	844±59	788±72	835±37	632±60	813±47
깻잎	911±37	877±97	815±55	752±30	852±86	681±3
녹차	705±56	737±12	711±16.5	691±71	581±145	560±52
뽕잎	892±4	850±126	845±4	693±137	841±123	723±55
솔잎	936±1	842±17.5	722±18	730±12	666±30	720±34
쑥	744±34	772±45	713±127.5	745±81	621±55	682±46
김	796±32.5	742±26	678±17	n.d.	394±22	n.d.
다시마	905±42	882±64	906±11.5	n.d.	476±22.5	n.d.
양파	758±36	968±74	985±1	638±38	800±36	689±99
오미자	945±15	948±90	862±62	638±94	650±12	654±50
치자	712±48	619±11	607±59	723±107	808±28	866±6
황금	849±23	770±33.5	670±78	1170±92	1060±74	1008±54
느타리 †	1193±39	1096±29	1162±30	861±49	868±76	1013±51
더덕 †	926±58	1036±56.5	1174±36	881±85	913±63	842±28
모과	932±109	727±5	858±42	792±50	684±74	655±3
취뿌리	768±60	729±57	641±21	949±105	911±85	846±54
홍삼	872±39.5	976±68	824±2	979±75	928±58	1128±92
황기	784±28	921±43	969±85	829±19	983±55	964±28
대조군 (과산화수소)	915±89			920±70		

각란의 숫자는 His+ 돌연변이 균락이며 (mean±S.D), 실험은 두 번에 나누어 실시되어 각 실시 때마다, 용매만 사용한 음성대조군과 과산화수소를 이용한 유도시킨 양성대조군을 나타내었음