KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 26, No. 3, pp. 317~323(1994)

식물성 식품중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성

이정희 · 이서래
이화여자대학교 식품영양학과

Some Physiological Activity of Phenolic Substances in Plant Foods

Junghi Lee and Su-Rae Lee
Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University

Abstract

Nine plant foods (persimmon leaf, perilla seed, Chinese quince, ginger root, walnut, mugwort leaf, arrowroot, buckwheat and sorghum) rich in phenolic substances were examined for their effects on the digestive enzymes, food-poisoning bacteria and mutagenicity/antimutagenicity by Ames test. Among tested samples, Chinese quince significantly inhibited the α-amylase activity (97%), exhibiting an uncompetitive inhibition type. Protease activity was inhibited by Chinese quince (86%), persimmon leaf (51%) and mugwort leaf (20%), in which mugwort extract exhibited a noncompetitive type. Lipase was activated >50% by all samples. The inhibition of α-amylase was highly correlated with the content of condensed tannin ($r=0.89$) and the inhibition of protease, with total phenolic content ($r=0.84$). Total phenolics fraction of tested samples showed the growth inhibition toward *E. coli, Streptococcus faecalis* and *Salmonella enteritidis,* in which the effect of perilla, sorghum and arrowroot was the highest for *E. coli.* Standard phenolics and food samples did not show any mutagenicity toward *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. Tannic acid inhibited the mutation of the two strains by benzo[a]pyrene whereas total phenolics fractions of Chinese quince and walnut exhibited antimutagenicity to a lesser extent.

Key words: phenolic substances, physiological activity, plant foods

서 론

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 그들의 phenolic hydroxyl그룹 때문에 단백질 또는 효소단백질, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화효과, 2가 금속이온과의 결합력을 가진다. 일부 비상용 식품과 동물사료로 사용되는 식물에는 탄닌류가 상당히 높은 농도로 존재하여 떫은 맛을 주어 식이섭취량을 저하시키고 단백질과의 상호작용으로 효소활성의 저해와 단백질 배설을 증가시키며 Fe 이용율을 저하시킨다. 또한 어떤 페놀성 물질은 동물체에서 변이원성과 발암성과 같은 심한 독성을 발휘한다. 따라서 일반적으로 탄닌은 동물이나 인간에게 영양저해인자로 인식되어 왔다[1].

반면 단백질과 결합하는 이러한 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항미생물 효과를 보여주고 항산화 작용에 의한 항암효과가 제안되고 있으며 Pb, Cd과 같은 유해 중금속을 제거시키는 효과를 기대할 수 있다. 그 외에도 어떤 페놀성 물질은 특정한 호르몬과 모세혈관의 유연성에 관계하는 등 다양한 약리효과가 제시되고 있다[2].

국내에서는 한약재로 이용되는 식물과 산채류의 어떤 분획에 대한 항산화성[3,4], 항균성[5-7]과 같은 단편적인 생리활성이 시험되고 있으나, 식물성 식품중 실제로 존재하는 형태와 섭취수준에서의 생리적 효과에 대한 체계적인 연구가 아직 부족한 실정이다. 페놀성 물질은 여러 식물체에 널리 분포되어 있지만 그들의 함량, 종류, 형태 등이 각각 다르므로 이들 식품을 직접 섭취하였을 때의 생리적 효과도 다를 것이라 예상된다.

본 연구에서는 페놀성 물질의 함량이 높게 분석된 시료를 선택하여, 그들의 생리적 효과를 몇가지 *in vitro* 법으로 실시하였다. 즉 시료중의 페놀성 물질이 3대 소화효소인 α-amylase, lipase, protease의 활성에 미치는 영향, Ames법에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성, 그리고 식품의 부패와 식중독에 관계되는 세균인 *E. coli, Salmonella enteritidis, Streptococcus faecalis*의 3균주에 대한 항균성을 실험하였다.

재료 및 방법

시료의 준비 및 전처리

Corresponding author: Su-Rae Lee, Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea

페놀성 물질의 함량이 많은 것으로 예상되는 국내산 식품과 민간요법에서 사용되는 비상용식품 45가지중 그 함량이 많은 것으로 분석된 9종 시료(감잎, 들깨씨, 모과, 생강, 호두, 쑥, 칡뿌리, 메밀, 수수)[8]를 선택하여 실험재료로 사용하였다. 지방함량이 높은 들깨씨와 호두는 탈지를 시킨 후, 기타 시료는 수세한 다음 가식부위를 냉동건조시킨 후 PE 병에 담아 실리카겔을 넣은 데시케이터에서 냉장보관하였다. 갈변을 최대한 방지하기 위해 실험을 수행하기 직전 시료를 Waring blender로 곱게 갈아 25 mesh 체를 통과시켰다.

페놀성 물질의 추출 및 분별

소화효소의 활성저해 실험을 위해서는 분말 시료 1g에 증류수 350 ml를 넣고 5시간 동안 reflux 한 후 원심분리하였다. 상청액은 40℃ 이하에서 순간농축기로 농축한 후 50 ml 용량으로 만들어 시험용액으로 하였다.

돌연변이원성, 항돌연변이원성과 항균성 시험을 위해서는 Hagerman과 Butler[9]의 방법을 변형하여 시료중의 페놀성 물질을 추출, 농축하였다. 즉 분말시료 1g당 10 mM ascorbic acid를 함유한 에탄올 용액 3 ml를 넣은 후 4℃ 의 어두운 곳에서 저어주면서 2시간 동안 추출한 후 3,000 rpm으로 30분간 4℃ 에서 원심분리하였다. 이 잔사에 10 mM ascorbic acid를 함유한 메탄올 용액 3 ml씩을 가하여 추출, 분리하는 조작을 3회 반복하였다. 이들 추출물을 모아 동량의 1 mM acetate buffer(pH 4.0)와 혼합한 뒤 진공회전농축기로 알콜을 제거하였다. 남아있는 수용액에 동량의 ethyl acetate를 넣어 2회 추출하고, 수용액 부분을 순간농축기로 건조시킨 잔사를 총 페놀 분획으로 하였다.

소화효소의 활성저해

소화효소인 α-amylase, protease , lipase의 활성에 페놀성 물질이 어떠한 영향을 주는지 살펴보았고, 페놀성 물질과 선택적으로 결합하는 PVP(polyvinyl pyrrolidone, 분자량 40,000)을 이용하여 효소활성 저해가 페놀성 물질에 의한 것인지를 확인하였다.

α-Amylase[10] : 효소용액(Sigma porcine pancreas α-amylase 0.1 mg/ml) 1 ml와 식품시료추출액 1 ml, 그리고 0.02 M phosphate buffer(pH 6.9) 1 ml 또는 2% PVP 용액 1 ml을 37℃ 수욕조에서 10분간 preincubation 시킨 후, 2% 녹말기질용액 1 ml을 넣고 정확히 10분간 반응시킨 다음 3,5-dinitrosalicylcic acid 용액 2 ml를 넣었다. 이것을 끓는 물에서 5분간 가열한 후 즉시 찬물에 냉각하고 30분간 실온에서 방치 후 Spectronic 601 분광광도계(Milton Roy)로 546 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 모든 실험은 각 식품시료에 대해 3회 반복하였으며 모든 용액은 37℃ 로 온도평형시킨 후 사용하였다.

Protease[11] : Folin-Ciocalteu 법을 변형하여 실시하였다. 즉 효소용액(Sigma bovine pancreas protease 0.05 mg/ml 10 $^{-3}$ N HCl) 1 ml와 식품시료추출액 1 ml, 그리고 0.1 M phosphate buffer(pH 7.5) 1 ml 또는 2% PVP 용액 1 ml을 수욕조에서 10분간 preincubation시킨 뒤 1.7% 카제인 기질용액을 3 ml 넣고 잘 혼합하여 37℃ 에서, 10분간 효소반응시킨 후 5% TCA 용액 10 ml를 넣고, 30분간 실온 방치한 뒤 원심분리하였다. 상청액 5 ml에 0.5 N NaOH 용액 10 ml와 phenol 시약 3 ml을 넣고 혼합한 뒤 Spectronic 601 흡광광도계로 620 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

Lipase[10] : Bier의 적정법으로 실시하였다. 즉, 효소용액(Sigma porcine pancreas lipase 10 mg/ml) 1 ml와 식품시료추출액 1 ml, 그리고 1 ml 증류수 또는 2% PVP 용액 1 ml을 37℃ 수욕조에서 10분간 preincubation 한 후, 기질용액(sodium acetate 용액 90 ml, Tween 20[polyoxyethylene sorbitan monolaurate] 50 ml, 10 ml의 지시약을 넣어 pH 7.0으로 조절) 3 ml을 넣고 잘 혼합한 뒤 30분간 효소반응시킨 후 0.02 N NaOH 용액으로 적정하여 효소활성을 나타내었다.

효소활성의 저해유형 : 각 소화효소의 활성을 억제한 식품시료에 대하여 기질농도를 달리하여 효소활성을 측정한 결과로부터 Lineweaver-Burk plot을 작성하였다.

항균작용

Kirby-Bauer법[12]을 약간 변형한 disk susceptibility test를 실시하였다. 즉 시험균주를 nutrient broth(Difco, USA)에 접종하여 하루저녁 배양한 후 1×10^8 CFU/ml가 되도록 조정하였다. MHA(Mueller-Hinton agar) 평판배지 위에 위의 배양액 0.3 ml를 멸균 면봉으로 서로 다른 각도로 3회 도말하여 균액이 고루 분산되도록 한 후 5분간 건조시켰다. 멸균 paper disk(직경 6 mm)에 standard phenolics는 정해진 농도로 DMSO(dimethyl sulfoxied)에 녹이고, 건조시료 각 500g에서 추출, 농축된 총 페놀 분획은 25 ml의 DMSO에 녹인 용액을 10 μl씩 loading한 후 멸균 핀셋으로 균액이 도말된 MHA 배지위에 올려놓고 살짝 눌러주었다. 37℃ 항온기에서 18시간 배양후, 균의 성장이 억제된 직경을 계측하였다.

돌연변이원성 시험법

돌연변이원성과 항돌연변이원성 시험은 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 균주에 대해 히스티딘 요구성, 막투과성, 자외선 감수성, R인자 유무 등의 유전형질을 확인한 후 Maron과 Ames의 방법[13]에 따라 시행하였다.

변이원성의 판정에서는 부가된 소량의 histidine에 의하여 세균의 background lawn이 존재하는지 확인하고 변이주의 수를 세었다. 변이원성물질 대조구로는 S-9 mix 없이 sodium azide와 2-nitrofluorene을, S-9 mix 존재하에 2-anthramine과 benzo[*a*]pyrene을 사용하였다. 시험물질의 농도가 증가함에 따라 시험균주의 콜로니 수가 일정하게 증가하는지를 살펴보았고, 전과정을 3반복 실시하였다. 시험물질로 표준 페놀물질은 0, 100, 200, 400

μg/plate에서, 식품시료 추출물은 총페놀 함량으로 0, 29, 58, 115 μg/plate에서 S-9 mix 존재하에 시험하였다.

항돌연변이원성 시험법

Ames 등의 방법[13]에 준하여 돌연변이원성과 발암성을 나타내는 것으로 알려진 benzo[a]pyrene을 사용하여 실시하였다. 즉 건열살균된 시험관에 top agar 2 ml, 각 농도의 시험물질 0.1 ml, 시험세균 현탁액 0.1 ml, benzo [a]pyrene 0.1 ml(8 mg/0.1 ml), S9 mix 0.5 ml를 넣어 부드럽게 혼합한 후 포도당-한천 최소배지 표면에 균일하게 부어 굳혔다. 이것을 37℃에서 48~72시간 배양한 후 background lawn의 존재를 확인하고, 변이주 수를 세었다. 시험물질의 농도 증가에 따라 시험균주의 변이주 수가 감소하는지 살펴보았고 전 과정을 3반복 실시하였다. 시험물질의 농도는 돌연변이원성 시험에서와 똑같이 하였다.

결과 및 고찰

소화효소의 활성저해

3대 영양소의 소화에 필요한 α-amylase, protease, lipase의 활성에 식물성 페놀물질이 어떠한 영향을 주는지 살펴본 결과는 Table 1과 같다. 본 실험에서는 페놀물질의 함량이 비교적 높으며, 기호음료인 차의 형태로 이용되는 7종의 식품을 시료로 사용하였다.

α-Amylase에 대한 실험결과 모과의 경우 97%의 저해효과를 보여준 반면, 감잎, 생강에서는 오히려 25%나 증가되는 결과를 가져왔다. 또 페놀성 물질과 결합하는 성질을 가진 PVP를 첨가하여 실험한 결과 모과에 의해 저하되었던 효소활성이 57%나 회복되었으므로 모과중의 페놀물질이 α-amylase 활성을 저해하는 것으로 판단되었다. Protease의 경우 모과, 감잎, 쑥에서 각각 86%, 51%, 20%의 저해효과를 보인 반면 호두, 들깨, 생강, 칡뿌리에서는 효소활성에 영향을 주지 않았다. 또 PVP를 넣어 실험한 결과, 감잎, 모과, 쑥에서 저해되었던 효소활성의 64%, 38%, 100%가 각각 회복되었다. Lipase의 경우 모든 시료가 효소활성을 50% 이상 증가시켰으며 PVP를 넣고 실험한 결과 증가되었던 효소활성이 모두 감소하였는데 그 효과는 감잎, 모과, 호두, 칡뿌리에서 뚜렷하였다. 시료에 따라 각 효소에 대한 활성저해 여부와 그 정도에 차이를 보였는데, 일반적으로 protease에 대한 저해 효과가 큰 반면, α-amylase와 lipase의 경우에는 오히려 활성을 증가시켰다.

Griffiths[11]는 탄닌함량이 높은 faba bean testa의 물 추출물이 α-amylase, trypsin, lipase의 활성을 각각 95%, 36%, 69% 저해하며 PVP 첨가시 이들 효소들이 재활성화

Table 1. Activation or inhibition of digestive enzymes by water extractable phenolics from some food samples

Sample	Relative enzyme activity*		% Activation		% Inhibition	
	PVP**	+PVP	-PVP	+PVP	-PVP	+PVP
〈α-Amylase〉						
Persimmon leaf (감잎)	123.7	150.0	23.7	50.0	–	–
Perilla seed (들깨씨)	114.5	108.9	14.5	8.9	–	–
Chinese quince (모과)	2.6	57.8	–	–	97.4	42.2
Ginger root (생강)	126.3	124.4	26.3	24.4	–	–
Walnut (호두)	109.2	105.6	9.2	5.6	–	–
Mugwort leaf (쑥)	113.2	115.4	13.2	15.6	–	–
Arrowroot (칡뿌리)	102.6	104.4	2.6	4.4	–	–
〈Protease〉						
Persimmon leaf	49.0	81.4	–	–	51.0	18.6
Perilla seed	100.0	95.3	–	–	0.0	4.7
Chinese quince	14.3	46.5	–	–	85.7	53.5
Ginger root	102.0	114.0	2.0	14.0	–	–
Walnut	100.0	116.3	–	16.3	0.0	–
Mugwort leaf	79.6	100.0	–	–	20.4	0.0
Arrowroot	93.9	118.6	–	18.6	6.1	–
〈Lipase〉						
Persimmon leaf	266.7	150.0	166.7	50.0	–	–
Perilla seed	150.0	137.5	50.0	37.5	–	–
Chinese quince	216.7	100.0	116.7	0.0	–	–
Ginger root	233.3	225.0	133.3	125.0	–	–
Walnut	200.0	150.0	100.0	50.0	–	–
Mugwort leaf	216.7	187.5	116.7	87.5	–	–
Arrowroot	166.7	125.0	66.7	25.0	–	–

*Activity in absence of phenolics was set at 100.
**PVP: polyvinylpyrrolidone (a tannin-complexing agent)

Table 2. Correlation coefficients between the degree of enzyme inhibition and phenolics content in 7 plant food samples

Phenolics	α-Amylase	Protease
Total phenolics[a]	0.79*	0.84*
Condensed tannin[b]	0.89*	0.50
Protein-precipitable tannin[c]	0.07	−0.12

*significant at $p<0.05$
[a]% tannic acid equivalent
[b]% catechin equivalent
[c]% tannic acid equivalent

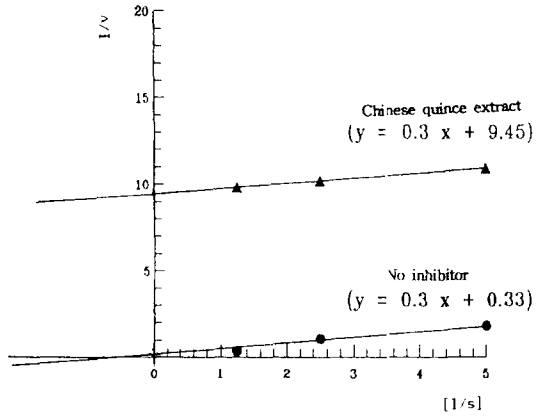

Fig. 1. Inhibitory effect of Chinese quince extracts on α-amylase

되었으므로 이는 시료중의 tannin이 관계한 것이라고 하였다. 한편 Daiber의 연구[15]에서는 tannic acid가 효소활성을 저해했지만 D-catechin은 이러한 저해효과를 주지 못했으며, 효소 활성의 저해는 polyphenol의 양과 종류에 따라 달라진다고 하였다. Oh와 Hoff[16]는 protease와 이들 zymogen에 포도 tannin이 어떤 효과를 주는지 *in vitro* 법으로 살펴본 결과 효소의 종류와 기질 단백질의 종류에 따라 tannin과의 친화력이 상당히 달라진다고 하였다.

본 실험에 사용한 시료에서 총페놀, 축합형 탄닌, 단백질 침전성 페놀함량[8]과 α-amylase와 protease 활성저해도(%)와의 상관관계를 보면 Table 2와 같다. α-Amylase의 활성저해도와 축합형 탄닌함량이 높은 상관관계 ($r=0.89$)를 보여 축합형 탄닌이 효소단백인 α-amylase와 친화성이 높아 효소활성을 크게 저하시킨 것으로 설명되며, protease의 경우는 총페놀함량과 높은 상관관계 ($r=0.84$)를 보여 시료중 여러 형태의 페놀물질이 protease와 높은 친화력을 가짐을 제시하였다.

α-Amylase에 대해 강한 저해활성을 보인 모과시료가 어떤 저해양상을 보이는지 알기 위하여 Lineweaver-Burk plot을 작성한 결과는 Fig. 1과 같다.

모과의 물추출물은 α-amylase에 대해 무경쟁 저해(uncompetitive inhibition)를 보였다. 이는 모과 성분이 효소-기질 복합체와 결합하여 효소-기질-억제제의 결합체를 만들므로서 효소반응이 더 이상 진행되지 않아 기질농도 증가시에도 억제효과가 감소하지 않았음을 의미한다.

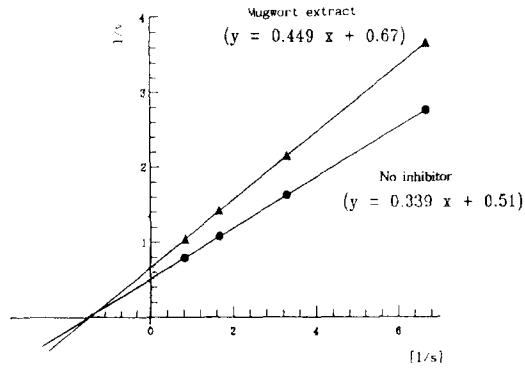

Fig. 2. Inhibitory effect of mugwort extracts on protease

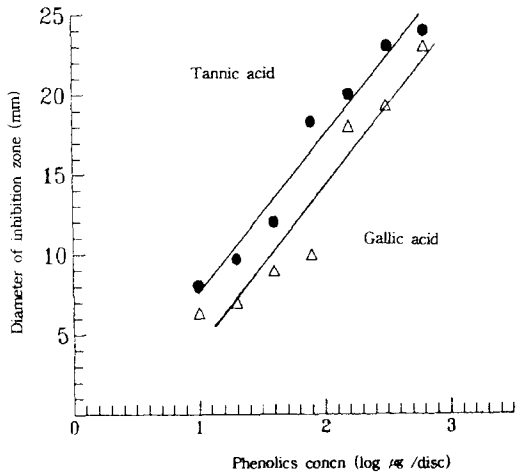

Fig. 3. Growth inhibition of *E. coil* by standard phenolics

Protease의 활성을 억제한 쑥시료에 대해 Lineweaver-Burk plot을 작성한 결과는 Fig. 2와 같이 비경쟁저해(non-competitive inhibition)를 보였다. 즉, 효소저해인자로 작용한 쑥의 물추출물이 protease의 active site외의 부위와 결합하여 효소의 구조를 변화시키고, 또한 효소-기질 복합체가 형성된 경우에도 protease에 결합하여 효소반응을 억제하므로, 기질농도 증가시에도 반응속도가 회복되지 않았다.

Trypsin에 대한 carob 축합형 탄닌의 저해 실험결과 비경쟁저해를 보였고[17], field bean의 추출물에서 lipase에 대한 비경쟁저해가 보고되었으며[18], α-amylase에 대하여 수수의 축합형 탄닌이 비경쟁저해 양상을 보였다[19]. 결국 페놀물질이 소화효소들에 대한 저해작용은

경쟁저해가 아니며 효소단백질 또는 기질단백질에 대한 영향때문이라 생각된다.

항균작용

본 연구에서는 4가지 표준 페놀성분과 함께 7종 식품의 총페놀 분획을 얻어 항미생물활성을 평가하였다. 미생물 균주는 식중독과 식품의 변패와 관련된 것으로 Gram(−)의 간균인 *Escherichia coli*와 *Salmonella enteritidis*를, Gram(+)의 구균인 *Streptococcus faecalis*를 사용하였다.

*E. coli*에 대한 표준 페놀성분의 효과는 Fig. 3과 같다. Tannic acid의 경우 10 μg/disc 농도에서 부터, gallic acid의 경우, 20 μg/disc에서 부터 농도증가에 따른 급격한 저해효과를 나타낸 반면, caffeic acid와 catechin은 저해효과를 보이지 않았다.

*Salmonella enteritidis*에 대한 표준 물질의 저해실험 결과는 Fig. 4와 같다. Catechin, tannic acid, caffeic acid는 농도증가시 저해효과가 증가하였으나, gallic acid는 저해효과를 보이지 않았다. *E. coli*와는 달리 catechin과 caffeic acid가 저해효과를 보였고, 특히 catechin은 낮은 농도에서도 효과적인 반면 tannic acid는 320 μg/disc 농도에서 부터, caffeic acid는 160 μg/disc에서 부터 저해효과를 보였다. 즉, 같은 Gram(−)인 두 균주에서 각 페놀물질마다 항균효과가 달리 나타났다.

*Streptococcus faecalis*에 대한 실험 결과는 Fig. 5와 같다. Tannic acid, caffeic acid, catechin은 이 균주에 대해 저해효과를 보였고, gallic acid는 저해효과를 보이지 않았다. Caffeic acid는 40 μg/disc 농도부터, catechin은 320 μg/disc 부터 tannic acid는 80 μg/disc 부터 농도증가에 따라 저해효과가 증가하였다. 이때 tannic acid는 catechin, caffeic acid보다 농도증가에 따른 저해효과가 더 크게 나타났다.

시험한 3균주에 대해 공통적으로 높은 항균작용을 보인 tannic acid는 특히 *E. coli*에 대해 낮은 농도에서도 그 효과가 컸으며, 그의 농도증가에 따른 항균작용의 효율도 *Streptococcus faecalis*나 *Salmonella enteritidis* 보다 컸다. 이러한 결과는 페놀물질의 종류와 농도에 따라 각 균주에 대한 항균력이 다르다는 것을 말해주고 있다.

식품시료에서 얻은 총페놀 분획의 3균주에 대한 항균력을 비교한 결과는 Fig. 6과 같다. 먼저 *E. coli*에 대한 결과를 보면, 각 시료간에 $\alpha=0.05$ 수준에서 차이를 보였으며 특히 들깨, 수수, 취뿌리는 높은 항균력을 나타냈다. 반면 *Salmonella enteritidis*와 *Streptococcus faecalis*에 대해서는 $\alpha=0.05$ 수준에서 시료간에 유의적인 차이를 보이지 않아, 두 균주에 대해서는 시험물질들이 비슷한 항균력을 가지는 것으로 나타났다. 결국 시료중 각 페놀성분의 함량과 항균성간의 일반적인 관련성을 맺기는 어려웠지만 사용한 시료의 페놀물질들이 3균주에 대하여 어느 정도의 항균성을 나타내었다.

식물성 페놀성분의 항균작용에 대해서는 오래전부터 보존료 탐색이라는 측면에서 연구가 수행되어 왔으며 특히 최근에는 천연식품을 섭취함으로서 식중독과 관련된 항균효과를 기대하려는 노력이 시도되고 있다. 국내에서도 최근 식품오염에 관계있는 여러 미생물에 대한 식물추출물의 항균효과를 검색하고 있으며 그 결과 식물중의 페놀물질이 항균작용에 관계한다고 하였다[5-7]. 페놀물질의 항균작용에 대한 메카니즘은 아직 확립되지 않았지만, 일반적으로 미생물 세포벽에 작용하여 물질이동에 영향을 준다는 이론과 미생물 대사에 필요한 효소에 작용하여 발육을 저해한다는 주장이 있다.

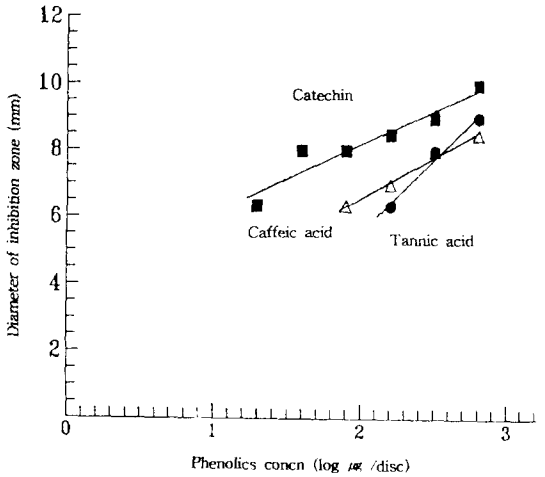

Fig. 4. Growth inhibition of *Salmonella enteritidis* by standard phenolics

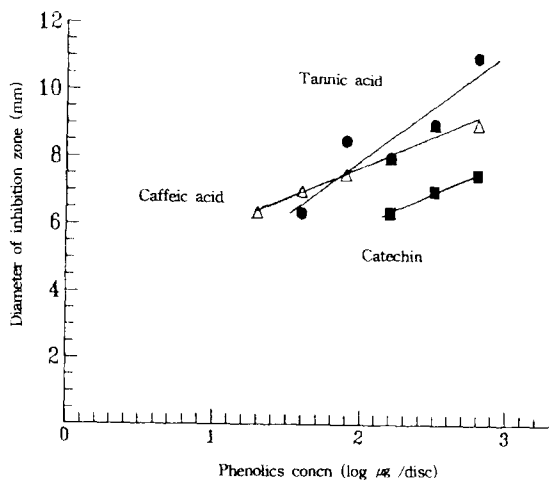

Fig. 5. Growth inhibition of *Streptococcus faecalis* by standard phenolics

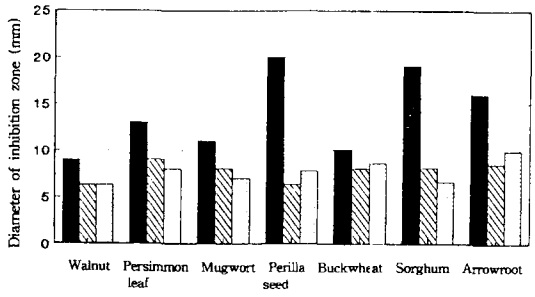

Fig. 6. Growth inhibition of 3 food-poisoning bacteria by total phenolics of plant foods
■; *E. coli*, ▨; *Streptococcus faecalis*, ▥; *Salmonella enteritidis*

돌연변이원성 및 항돌연변이원성

본 연구에서는 표준 페놀물질인 tannic acid, catechin, gallic acid와, 9종의 식품시료로 부터 얻은 총페놀 분획에 대하여 Maron 및 Ames 방법으로 돌연변이원성과 항돌연변이원성을 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100으로 살펴보았다.

두 균주에 대해 표준물질인 catechin과 tannic acid는 변이원성을 보이지 않았으나 gallic acid는 같은 농도에서 균주자체에 독성을 나타내어 background lawn을 형성하지 않았다. 또 9종 식품에서 얻은 총페놀 분획에 대한 실험 결과 115 μg/plate 까지의 농도에서 revertant 수가 증감하였지만 2배에는 달하지 않았으므로 변이원성은 인정할 수 없었다. 이때 시험물질을 첨가하지 않은 대조군에서 plate당 revertant의 평균 콜로니수는 TA98균주에서는 20개, TA100 균주에서는 120개이었다.

전형적으로 돌연변이원성과 발암성을 나타내는 것으로 알려진 benzo[a]pyrene을 이용하여 항돌연변이원성을 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 시험물질을 첨가하지 않은 대조군에서 plate당 revertant의 콜로니수는 TA98에서는 110개, TA100에서는 280개이었다. 표준 페놀물질은 TA98과 TA100 모두에서 항돌연변이원성이 나타났다. 즉 tannic acid는 TA98에 대해 발암물질만 첨가했을때 보다 40~80%의 돌연변이 억제효과를 보였고, TA100에 대해서는 70~95%의 강한 돌연변이 억제효과를 보였다. 반면에 catechin은 TA98에 대해 100 μg/plate 농도에서만 22%의 돌연변이 억제효과를 보였고, TA100에 대해서는 돌연변이 억제효과를 보이지 않았다. Gallic acid는 400 μg/plate 농도에서 두 시험균주에 독성을 나타내어 background lawn을 보이지 않았으므로, tannic acid나 catechin보다 낮은 농도인 50 μg/plate에서도 실험한 결과 200 μg/plate 농도에서 TA98과 TA100에 대해 40~50%의 돌연변이 억제효과를 발휘하였다.

식품시료중 페놀물질 함량이 높았던 모과와 호두의 항돌연변이원성을 보면, TA98에 대하여는 항돌연변이원성을 보이지 않았으나 TA100에 대해서는 115 μg/plate

Table 3. Antimutagenicity of plant phenolics against benzo[a]pyrene in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S_9 mix

Phenolics	Concn (μg/plate)	Inhibition of mutagenicity(%) TA98	TA100
Tannic acid	100	42	95
	200	68	94
	400	82	71
Catechin	100	22	(−17)
	200	0	(−18)
	400	(−6)	3
Gallic acid	50	16	18
	100	13	25
	200	40	51
Chinese quince phenolics	29	8	33
	58	(−3)	23
	115	(−2)	(−2)
Walnut phenolics	29	(−28)	(−17)
	58	(−22)	(−56)
	115	16	44

Average number of revertant colonies per plate was 110 in TA98 and 280 in TA100.
(−) denotes % activation of mutagenicity, rather than inhibition.

에서 모과의 총페놀 분획은 30%의, 호두의 경우는 44%의 돌연변이 억제효과를 보였다. 그러나 기타 식품시료에서는 두 균주에 대하여 항돌연변이원성을 관찰할 수 없었다.

Ames[20]는 많은 변이원성인자와 발암성인자들은 oxygen radical을 형성하는데 작용하므로, 자연적으로 존재하는 항산화성분들을 섭취하므로서 항암작용을 기대할 수 있으며, 식용식물중의 페놀성분도 이러한 항산화 작용에 관계하는 중요한 인자라고 하였다. 이에 따라 식물체에 자연적으로 존재하는 항돌연변이 인자에 대한 연구가 최근 국내외에서 많이 이루어졌으며 미국의 National Cancer Institute에서도 암예방식품에 대한 연구결과를 종합하여 페놀물질을 포함한 14개 그룹의 식이성 식물성분(dietary phytochemical)이 유방암의 발생을 막는 메카니즘을 제시하였다[21].

본 연구에서도 표준페놀물질의 종류에 따라 조금씩 다른 수준의 항돌연변이원성을 보였고, 식품시료중의 총페놀 분획도 자연의 혼합물 상태에서 시험한 때문으로 그 효과가 적었지만 항돌연변이원성을 보였으므로 이들 시료의 항암효과를 기대할 수 있을 것이다. 그러나 이들 식품의 항암효과를 주장하기 위해서는 한국인의 식생활과 관련하여 체계적인 연구가 더 이루어져야 할 것이다.

요 약

페놀성 물질의 함량이 높게 분석된 9개 시료(감잎, 들깨씨, 모과, 생강, 호두, 쑥, 칡뿌리, 메밀, 수수)를 선

택하여 소화효소에 대한 활성저해, 식품오염세균에 대한 항균성, 그리고 Ames 법에 의한 돌연변이원성 및 항돌연변이원성을 살펴보았다.

소화효소 활성저해를 실험한 7개시료중 모과만이 α-amylase에 대해 97%의 활성저해를 보였고, 무경쟁저해를 나타냈다. Protease에 대하여 모과, 감잎, 쑥은 각각 86%, 51%, 20%의 저해효과를 보였고, 이때 쑥시료는 비경쟁저해를 나타냈다. Lipase는 모든 식품에 의해 50% 이상 활성화되었다. α-Amylase의 활성저해는 축합형 탄닌함량과 높은 상관관계(r=0.89)를, protease는 총페놀 함량과 높은 상관관계(r=0.84)를 보였다.

표준물질인 tannic acid, gallic acid, caffeic acid, catechin과 7개 식품시료의 총페놀 분획을 얻어 항균성 효과를 실험한 결과 tannic acid는 3균주에 대해 비교적 높은 항균력을 보였고 들깨, 수수, 칡뿌리는 *E. coli*에 대해 높은 항균력을 보인 반면 *Salmonella enteritidis*와 *Streptococcus faecalis*에 대해서는 시료들간에 큰 차이를 보이지 않았다.

표준물질 및 9개 식품의 총페놀 분획은 모두 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100에 대해 돌연변이원성을 보이지 않았다. 한편 benzo[a]pyrene을 이용한 항돌연변이원성 실험결과 tannic acid는 TA98의 경우 40~80%, TA100의 경우 70~95%의 강한 항돌연변이원성을 나타냈다. TA100에 대해 모과는 30%의, 호두는 44%의 항돌연변이원성을 보였으나 기타 식품에서는 항돌연변이원성을 관찰할 수 없었다.

문 헌

1. Kumar, R. and Singh, M.: Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 447 (1984)
2. Salunkhe, D.K., Chavan, J.K. and Kadam, S.S.: *Dietary Tannins: Consequences and Remedies.* CRC Press, Inc., Boca Raton(1990)
3. 오만진, 이기순, 손화영, 김성렬 : 칡뿌리의 항산화 성분. 한국식품과학회지, **22**, 793(1990)
4. 김나미, 성현순, 김우정 : 용매추출조건이 계피추출액의 항산화성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, **25**, 204 (1993)
5. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, **23**, 200 (1991)
6. 이병완, 신동화 : 식품 부패미생물에 대한 천연 항균성 물질의 농도별 및 분획별 항균 특성. 한국식품과학회지, **23**, 205(1991)
7. 정동옥, 정지훈 : 영지의 항균성 물질에 관한 연구 한국식품과학회지, **24**, 552(1992)
8. 이정희, 이서래 : 국내산 식물성 식품중 페놀성 물질의 함량 분석. 한국식품과학회지, **26**, 310(1994)
9. Hagerman, A.E. and Butler, L.G.: Condensed tannin purification and characterization of tannin-associated proteins. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 947(1980)
10. Bernfeld, P.: α-Amylase. Lipase. In *Methods in Enzymology.* Colowick, S.P. and Nathan, N.O.(ed), Academic Press, New York, Vol.1, p.149, p.627(1955)
11. Bergmeger, H.U.: *Methods of Enzymatic Analysis.* Academic Press, New York, Vol.2, p.1019(1974)
12. Benson, H.J.: Antimicrobic sensititivity testing (Kirby-Bauer method). In *Microbiological Applications: A Laboratory Manual in General Microbiology,* 5th ed., Wm. C. Brown Publishers, p.138(1990)
13. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mut. Res.*, **113**, 173 (1983)
14. Griffiths, D.W. and Moseley, G.: The effect of diets containing field beans of high or low polyphenolic content on the activity of digestive enzymes in the intestines of rats. *J. Sci. Food Agric.*, **31**, 255(1980)
15. Daiber, K.H.: Enzyme inhibition by polyphenols of sorghum grain and malt. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1399 (1975)
16. Oh, H.I. and Hoff J.E.: Effects of condensed grape tannins on the *in vitro* activity of digestive protease and activation of zymogens. *J. Food Sci.*, **51**, 577(1986)
17. Tamir, M. and Alumot, E.: Inhibition of digestive enzymes by condensed tannins from green and ripe carobs. *J. Sci. Food Agric.*, **20**, 199(1969)
18. Griffiths, D.W.: The inhibition of digestive enzymes by extracts of field bean (*Vicia faba*). *J. Sci. Food Agric.*, **30**, 458(1979)
19. Davis, A.B. and Hoseney, R.C.: Grain sorghum condensed tannins. II. Preharvest changes. *Cereal Chem.*, **56**, 314(1979)
20. Ames, B.N.: Dietary carcinogens and anticarcinogens (oxygen radicals and degenerative disease). *Science*, **221**, 1256(1983)
21. Caragay, A.B.: Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technol.*, **46**(4), 65(1992)

(1994년 2월 19일 접수)