THE KOREAN JOURNAL OF MYCOLOGY
Vol. 28, No 1, p55-59 April 2000
Copyright © 2000 by The Korean Society of Mycology
Printed in S. KOREA

까치버섯(*Polyozellus multiplex*) 추출물의 항산화 및 항암효과

한 정 · 이인선*

계명대학교 식품가공학과

Antioxidation and Anticancer Effects of *Polyozellus multiplex*

Jung Han and In-Seon Lee*

Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Teagu 704-701, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to investigate the antioxidative and chemopreventive effects of the extracts from *Polyozellus multiplex*, an edible mushroom through *in vitro* and *in vivo* assay. *Polyozellus multiplex* fractions were assayed for its antioxidative effect with colony formation assay. *Polyozellus multiplex* methanol extract and water fraction showed protective effects against the cytotoxicity of H_2O_2. The modifying effects of *Polyozellus multiplex* methanol extract and water fraction on the induction of carcinogenesis by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) were investigated in Wistar rats. The GSH content was decreased by MNNG treatment but was increased by adding *Polyozellus multiplex* water fractions. Also the activity of glutathione S-transferase and the superoxide dismutase levels were increased by the treatment of *Polyozellus multiplex* water fractions more than with MNNG alone. In addition to the *Polyozellus multiplex* water fraction increased the p53 expression as compared with the value of MNNG alone.

KEYWORDS: antioxidative effect, chemopreventive effect, *Polyozellus multiplex*, p53

서 론

까치버섯은 여름부터 가을까지 침엽수림, 활엽수림내 땅위에 군생 또는 속생하는 버섯으로 한국, 일본 등 동아시아와 북아메리카에 주로 분포하고 특히 우리나라에서는 강원도 지역에서 자생하며, 그 지역에서는 '먹버섯'이라 불리워지기도 하며 향기와 맛이 좋은 식용버섯이다(박과 이, 1999). 또한 까치버섯은 항균, 항종양, 지질과산화 저해활성 및 항치매 효과가 알려져 있다(황, 1994., Hwang *et al.*, 1997).

한편, 여러종류의 화학물질, 환경오염 물질 및 약물과 같은 이물질(xenobiotics)의 체내흡수시 분자상의 산소가 환원되어 superoxide radical, hydrogen peroxide 등의 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다(Kraut and Sagone, 1981). 이들 활성산소종들은 *in vivo*에서 정상적 대사과정에서도 끊임없이 생성되는 것으로 대식세포의 살균작용, 정보전달 등 필수불가결한 물질이나, 생체내에서 세포막, 단백질 및 핵산 등을 손상시켜 세포기능을 억제시키고 나아가 DNA, RNA 및 단백질 등에 작용하여 돌연변이 및 발암을 유발하기도 하며(Hamilton-Koch *et al.*, 1986), 또한 각종 성인병, 노화, 암 등을 발생시키기도 한다(White, 1973).

이러한 양면성을 가지고 있는 활성산소종의 생체내 항상성을 유지하기 위한 항산화계에는 glutathione S-transferase, superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소와 glutathione (GSH), vitamin E, β-carotene 등의 비효소성 항산화제가 알려져 있다(Chung and Kim, 1992).

그리고 활성산소종에 의해 세포의 DNA에 손상이 생기게 되면 생체내에서는 p53 암억제 유전자의 작용으로 세포분열 단계 중 G1 phase에서 세포를 정지시키거나(Bates and Cousden, 1996), p53과 같은 DNA 수리체계들에 의해 손상된 DNA가 복구되게 되며, DNA의 손상정도가 심한 경우 세포의 apoptosis를 일으켜 손상된 세포가 무절제한 증식으로 암이 되는 것을 차단하게된다.

따라서 본 연구에서는 까치버섯의 항산화 및 항암효과를 살펴보고자 먼저 까치버섯 추출물과 분획물을 제조하여 *in vitro*에서 항산화효과를 조사하였으며, 또한 *in vivo*에서 발암물질인 MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)를 투여한 동물의 조직내의 항산화 효소 활성변화에 미치는 영향과 암억제 유전자인 p53의 발현에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

시료조제

강원도 오대산 지역에서 자생하는 식용버섯인 까치버섯(*Polyozellus multiplex*)을 건조하여 분말로 만든 후, 10배의

*Corresponding author

80% 메탄올을 첨가하여 10시간 동안 3회 반복 추출하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이 메탄올 추출물에 ethylacetate와 증류수를 1 : 1로 혼합한 용액으로 추출하여 각 층의 여액을 얻어 각각 여과시킨 후 감압농축시킨 다음, 동결건조하여 에틸아세테이트 추출물과 물 추출물을 얻었다.

*In vitro*에서의 항산화효과 검색

까치버섯 추출물의 항산화능 측정은 Nakayama 등(1991)의 방법에 준하여 colony formation assay를 실시하였다. 이때 사용된 V79 cell(Chinese hamster lung fibroblast)은 Dr. Tsutomu Nakayama(University of Shizuoka, Japan)로부터 분양받았다.

V79 cell의 수를 200개/dish(60 mm)로 조정하여 10% FBS가 첨가된 MEM배지에서 37°C, 5% CO_2 배양기에서 2시간 배양 후, 배지를 제거하고 FBS가 없는 MEM 배지에서 시료첨가 후 4시간 더 배양하였다. HBS(HEPES buffer saline : NaCl 0.8%, KCl 0.04%, $NaHPO_4 \cdot 12H_2O$ 0.025%, glucose 0.1%, HEPES 0.59%, pH 7.0)로 세척한 다음, 60 μM의 H_2O_2가 첨가된 HBS를 넣고 30분간 다시 배양한 후 10% FBS가 첨가된 MEM을 넣어 5일간 배양하였다. 다시 MEM배지를 제거하고 99% 메탄올을 첨가하여 cell을 고정시킨 다음 Giemsa stain으로 염색하여 세포수를 측정하였다. 그리고 세포 생존률은 시료무첨가 대조군에 대한 시료첨가군의 세포수로 표시하였다.

까치버섯의 항암효과

실험동물의 사육 및 처치 6주령된 Wistar male rat를 SLC Inc.(Shizuoka, Japan)으로부터 분양받아 사용하였고, 이들 rat는 23±2°C, 상대습도 55±10%를 유지하고 밤, 낮의 길이를 12시간씩 인공조명으로 조절하였다. 사료(CRF-1, Japan Charles River Co. Japan, Tokyo)와 정제수는 자유로이 공급하였으며, 특히 발암물질로 MNNG를 10% DMSO에 용해한 후 150 mg/kg b.w. 농도로 1회 경구투여 한 다음, 투여 4시간 후부터 시료가 혼합된 사료를 3일간 공급하였다.

즉 실험동물은 각각 10마리씩 네 군으로 나누었으며 제 1군과 2군은 MNNG를 투여한 후 까치버섯 메탄올 추출물과 물추출물을 사료의 0.5% 농도로 각각 첨가하여 공급하였다. 제 3군은 MNNG를 투여한 후 표준사료만 공급하였고, 제 4군은 대조군으로 DMSO를 경구투여한 후 표준사료를 공급하였다. 그리고 동물의 처치는 CO_2로 마취시켜 복부 정중선을 따라 개복한 후 간을 적출하였다.

*In vivo*에서의 항산화 활성 검색

적출한 간 조직 1 g당 4배의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 가한 후 빙냉하에서 마쇄하여 간 균질액(20% W/V)을 만들었다. 이 액을 4°C에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 그 상등액을 다시 13,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 얻은 상등액은 다시 24,000 rpm에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosol fraction과 microsomal fraction을 얻었다. 간 균질액은 glutathione 함량 측정에, cytosol fraction은 glutathione S-transferase (GST)와 superoxide dismutase(SOD) 활성 측정에 사용하였다. Glutathione 함량은 Ellman(1959)의 방법에 의하여 실험하였으며, glutathione 함량은 간조직 1 g당 μmole로 나타내었다. 또한 Habig 등(1974)의 방법에 준하여 GST를 측정하였으며 SOD 활성 측정은 Marklund(1974)의 방법에 준하여 측정하였다. 또한 단백질의 양은 Lowry(1951)법에 준하여 측정하였다.

암억제 유전자인 p53의 발현

간 microsomal fraction의 단백질 양이 10 μg이 되도록 조정한 다음 2배의 sample buffer와 혼합하여 95°C에서 5분간 가열한 후 준비된 acrylamide gel에 60volts에서 2시간 전기영동(Electrophoresis Unit, Hoefer Co., U.S.A.)하였다.

전기영동한 gel의 단백질을 PVDF membrane으로 전사시킨 후 이 membrane을 5% skim milk가 함유된 TBS buffer에 넣어 4°C에서 1일간 방치하여 membrane의 비특이성 부위들을 차단하였다. 이 skim milk을 제거한 후 membrane을 1차 항체인 p53(Ab-3)을 1 : 500 비율로 희석한 용액에 담구어 실온에서 2시간 반응시킨 후 세척하여 2차항체인 peroxidase Goat anti Mouse IgG를 넣어 실온에서 1~2시간 반응하였다.

세척한 membrane을 ECL detection kit(Amersham Co., U.S.A.)의 발색시약 혼합액으로 도포한 다음, X-ray 필름에 노출하여 현상한 후 필름상의 띠를 관찰하였다.

통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, 각 군간의 통계적 유의성은 SAS program을 이용하여 5% 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

*In vitro*에서 까치버섯의 항산화 효과

버섯류의 항산화 성분에 대한 연구로는 큰비단 그물버섯(Suillus grevillei)의 bolegrevil(1-acetoxy-6-geranylgeranyl-2,4-digydroxybenzen)과 같은 것이 있으며(Jung *et al.*, 1996), 일반적인 버섯류의 항산화 효과에 대한 연구로는 느타리버섯(古川久彦, 1991), 표고버섯(Ma, 1983), 양송이버섯(Lee, 1997), 영지버섯(정, 1992)에 대한 항산화 효과가 밝혀져 있으며 이러한 버섯의 항산화 효과는 합성 항산화제인 BHA, BHT의 항산화력 보다 우수하다고 보고되었다.

이에 따라 Chinese hamster V79 cell을 이용하여 H_2O_2로 유도된 세포독성에 대한 까치버섯 추출물의 억제효과를 colony formation assay로서 살펴본 결과, Fig. 1과 같이

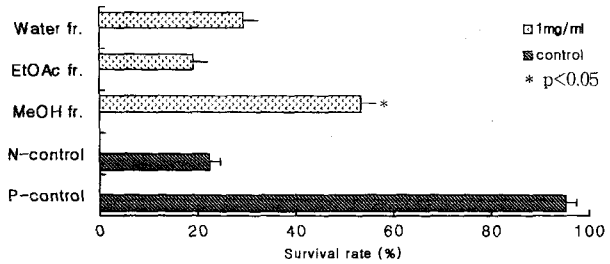

Fig. 1. Effects of the *Polyozellus multiplex* extracts on the cytotoxicity of H_2O_2.
V79 cell were treated with each samples in MEN (-FBS) at 37℃ for 4h, and subsequently with H_2O_2 (60 μM) in HBS for 30 min. After culture in MEM (+FBS) for 5 days, the number of colonies were mounted. The control was not treated with samples and H_2O_2.
Water fr. : water fraction of *Polyozellus multiplex* (water fr. No samples + V79 cell + 60 μM H_2O_2).
MeOH fr. : methanol fraction of *Polyozellus multiplex* (MeOH fr. No samples + V79 cell + 60 μM H_2O_2).
EtOAc fr. : ethylacetate fraction of *Polyozellus multiplex* (EtOAc fr. No samples + V79 cell + 60 μM H_2O_2).
N-control : negative control (No samples + V79 cell + 60 μM H_2O_2), P-control : positive control (only V79 cell).

H_2O_2만 처리시 세포의 생존율은 23.9% 정도인데 비하여 까치버섯 H_2O_2와 메탄올 추출물을 함께 처리하였을 때는 생존율이 2배 정도 증가한 53.5%였고, 물 추출물에서도 29.4%로 약간 높게 나타났다. 이는 천연 항산화제로 알려진 caffeic acid, quercetin, catechin을 동일한 방법으로 처리하여 그 생존율을 살펴본 결과, 각각 55%, 51%, 42%였다는 보고(Nakayama *et al.*, 1991)와 비교할 때 까치버섯 메탄올 추출물의 항산화 효과가 매우 크다는 것을 알 수 있었다.

현재 가장 많이 사용하고 있는 합성 항산화제인 BHA와 BHT는 그 효과는 우수하지만 원성과 발암성이 문제시되고 있으며(Branen, 1975), tocopherol류와 같은 천연 항산화제는 효과가 낮은 문제점이 있음을 고려할 때 항산화능이 높고 안전한 천연 항산화제 연구에 까치버섯 추출물의 이용이 매우 의의가 있을 것으로 생각된다.

까치버섯의 chemopreventive 효과

항산화계 효소 활성 변화 까치버섯 물 추출물의 GSH의 함량변화에 대한 영향을 MNNG를 투여한 rat을 통하여 살펴본 결과, Fig. 2와 같이 간에서의 GSH 함량을 살펴보면 MNNG 단독 투여로 감소한 GSH 함량이 까치버섯 메탄올 추출물 0.5% 투여군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 까치버섯 물 추출물 0.5% 투여군에서는 GSH 함량이 약 2배 이상으로 증가되었음을 알 수 있었다. GSH는 생체내에서 환원상태로 존재하며 DNA 합성물질 이동, 효소활성의 조절, 활성산소나 free radical에 의한 세포손상 예방 등에 직접 또는 간접적으로 관여한다(Lasini *et al.*, 1985). 따라서 산화상태 혹은 산화적 스트레스의 영향을 받아 그

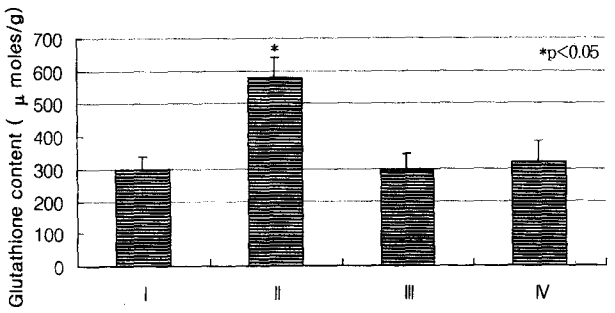

Fig. 2. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on glutathione the content in liver of rats treated with MNNG.
I : 0.5% methanol extract of *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
II : 0.5% water fraction *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
III : MNNG group.
IV : Control group.

함량이 낮을 경우 세포손상 및 독성에 대한 민감도가 높아져 간 질환, AIDS 등의 질병을 일으키게 된다(Lee and Ai, 1996)고 한다.

위 결과로 보아 MNNG가 체내로 흡수되면서 조직에 항산화상태 혹은 산화적 스트레스 환경을 유발하여 이를 해독하기 위한 GSH의 소모로 인해 체내 GSH가 감소하였으며, 0.5%의 까치버섯 물 추출물의 투여로 체내의 GSH 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 것으로 추측된다.

GST 활성에 대한 까치버섯 물 추출물의 영향을 살펴보면 Fig. 3과 같이 까치버섯 물추출물 0.5%를 투여한 군의 GST 활성이 MNNG 단독투여군에 비해 26.3% 증가하였다. GST는 독성산화 물질을 glutathione의 -SH group과 결합시켜 배설되기 쉬운 형태로 만들어 줌으로써 지질과산

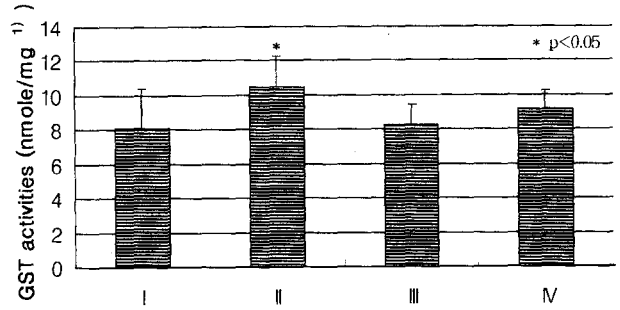

Fig. 3. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on the activity of glutathione S-transferase in liver of rats treated with MNNG.
[1]Conjugated 1,2-dinitro-4-nitrobenzene nmoles/mg protein/min.
I : 0.5% methanol extract of *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
II : 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
III : MNNG group.
IV : Control group.

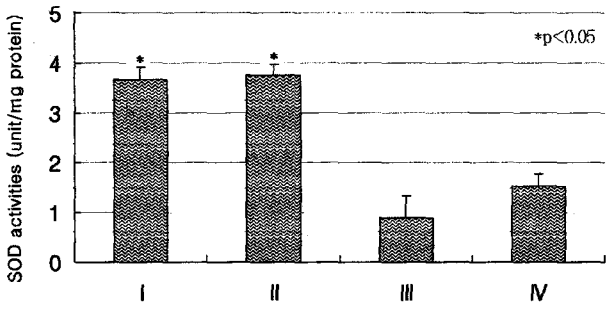

Fig. 4. Effect of *Polyozellus multiplex* water fraction on the superoxide dismutase activity in liver and stomach of rats treated with MNNG.
I : 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
II : 1% water fraction of *Polyozellus multiplex* + MNNG group.
III : MNNG group.
IV : Control group.

화 반응으로부터 생체를 보호하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Burk *et al.*, 1980). 그러므로 까치버섯 물 추출물이 GST를 활성화시켜 친전자성 외부물질에 glutathione을 결합시켜 수용성 물질로서 배설되기 쉽도록 해줌으로써 MNNG로부터의 조직 손상을 보호하는 것으로 생각된다(Kitagara *et al.*, 1984).

한편, SOD는 반응성이 크고 독성이 강한 분자상 산소를 과산화수소로 바꾸며, 이때에 생성된 과산화수소와 유기과산화물은 glutathione peroxidase, catalase의 작용에 의해 물로 전환됨으로써 독산소로 부터 생체를 보호하는 것으로 알려져 있다(Yoon and Rhee, 1994).

까치버섯 메탄올 추출물과 물 추출물을 MNNG와 함께 투여하였을 경우 MNNG 단독 투여군에 비해 투여군 모두 4배 정도의 SOD의 활성이 증가하였다(Fig. 4). 이는 남 등(남, 김 등, 1999)의 쑥 추출물에서 얻은 결과와 유사한 것으로 까치버섯이 SOD 활성을 증가시켜 생성된 독성산소의 제거효과가 큰 것으로 추측된다.

p53 발현에 미치는 영향 p53 유전자는 세포분화과정 중 G1기에서 손상된 DNA가 있을 때는 세포 조절물질들과 결합하여 이 물질들을 불활성화시켜 G1기에서 S기로의 진입을 억제하며, 또한 PCNA와 결합하여 이를 불활성화 시키므로써 손상된 DNA가 증식되는 것을 차단시키는 이중작용을 한다. 또한 DNA의 손상정도가 심하여 복구가 불가능할 경우 세포사(apoptosis)를 일으켜 손상된 DNA로부터 증식되는 세포를 미리 제거시키는 암억제 유전자로 알려져 있다(Kuerbiz *et al.*, 1992).

까치버섯과 MNNG를 투여한 rat의 microsome을 이용한 immunoblot 분석에서 p53의 수준이 MNNG투여군에 비하여 까치버섯을 함께 투여한 경우에 증가하였다. 특히 까치버섯 물 추출물 0.5%를 투여했을 때 p53의 수준이 현저하게 증가하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 5). 이는 p53 암억제 유전자의 발현으로 MNNG에 의해서 손상된 세포의 무절

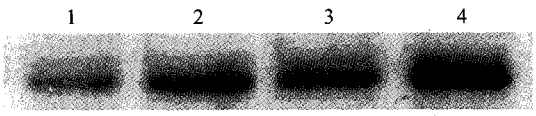

Fig. 5. Immunoblot analysis of p53 expression in rats treated with MNNG and/or *Polyozellus multiplex* water fraction. Each lane was loaded with 10 μg of rat liver microsomes. p53(Ab-3) antibody (diluted 1 : 500) was used.
Lane 1 : MNNG (150 mg/kg) treatment.
Lane 2 : control group.
Lane 3 : 0.5% methanol extract of *Polyozellus multiplex* in diet + MNNG.
Lane 4 : 0.5% water fraction of *Polyozellus multiplex* in diet + MNNG.

제한 증식이 억제되어 종양으로의 발전이 차단된 효과로 생각된다.

적 요

까치버섯(*Polyozellus multiplex*) 메탄올 추출물과 물 추출물은 산화 유발물질인 H_2O_2에 대하여 메탄올 추출물과 물 추출물에서 각각 53.5%, 29.4%의 생존율을 보여 까치버섯 추출물의 항산화 효과를 확인하였다. 까치버섯 메탄올 추출물과 물 추출물을 이용하여 동물에 강력한 발암물질인 MNNG를 투여한 후 항산화 효소계를 측정한 결과, 물 추출물은 항산화효소인 glutathione S-transferase(GST)와 superoxide dismutase(SOD)의 활성과 조직내의 해독물질인 glutathione(GSH)의 함량을 높혀주었다. 또한 0.5%의 까치버섯 물 추출물은 암억제 유전자인 p53의 발현을 매우 증가시켰다.

이상의 결과로 까치버섯(*Polyozellus multiplex*)은 항산화능이 있으며 특히, 물 추출물은 체내의 항산화 효소를 활성화시키고 항산화 물질의 함량을 높혀주었고 암 억제유전자인 p53의 발현을 증가시켜 항암효과가 있음을 보여주었다.

참고문헌

남상명, 김종군, 함승시, 김수진, 정명은, 정차권. 1999. 쑥 추출물이 Benzo(α)pyrene을 투여한 흰쥐의 항산화계 효소에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 **28**(1): 199-204.

박원희, 이호득. 1999. 한국약용버섯도감. 교학사. 서울.

정동옥. 1992. 영지버섯의 항산화성 물질에 관한 연구. 한국식품과학회지 **24**(3): 497-451.

황지숙. 1994. *Polyozellus multiplex*가 생산하는 신규 지질과산화 저해물질의 화학구조 및 생물활성에 관한 연구. 부산대학교 박사 학위논문.

古川久彦, 1992. 『きのこ學』. 公立出版株式會社.

Bates, S. and Cousden, K. H. 1996. p53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **6**: 12-18.

Branen, A. S. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated

hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS* **52**: 59-63.

Burk, R. F., Trumble, M. and Alawrence, R. 1980. Rat hepatic cytosolic glutathione-dependent enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH microsomal lipid peroxidation system. *Biochem. Biophys. Acta.* **618**: 35-42.

Chung, H. Y. and Kim, Y. K. 1992. Age-associated alteration in the hepatic superoxide generation and antioxidant activities in the senescence-accelerated mice. *Yakhak Hoeji* **36**: 460-465.

Eliyahu, D., Michalovitz, D. and Oren, M. 1989. Wild type p53 can inhibit oncogene mediated focus formation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**: 8763-8767.

Ellman, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl group. *Archives of biochemistry and Biophysics* **82**: 70-77.

Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercaputric acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**: 7130-7139.

Hamilton-Koch, W., Snyder, R. D. and Lavelle, J. M. 1986. Metal-induced DNA damage and repair in human diploid fibroblasts and Chinese hamster ovary cells. *Chem. Biol. Interact.* **59**: 17-28.

Hwang, J. S., Song, K. S., Kim, W. G., Lee, T. H., Koshino, H. and Yoo, I. D. 1997. Polyozellin, a new inhibitor of prolyl endopeptidase from *Polyozellus multiplex. J. Antibiotics* (Tokyo) **50**(9): 773-777.

Jung, I. C., Park, S., Park, K. S., Ha, H. C., Kim, S. G., Kwon, Y. I. and Lee, J. S. 1996. Effects of fruit body and mycelial extracts of pleurotus ostreatus. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**(3): 464-469.

Kitahara, A., Saton, K., Nishimura, K., Ishikawa, T., Ruike, K., Sato, K., Tsuda, H. and Ito, N. 1984. Change in molecular forms of rat hepatic glutathione S-transferase during chemical hepatocarcinogenesis. *Cancer Res.* **44**: 2698-2703.

Kraut, E. H. and Sagone, A. L. 1981. The effect of oxidant injury on the lymphocyte membrane and function. *J. Lab. Clin. Med.* **98**: 697-703.

Kuerbiz, S. J., Plunkett, B. S. and Walsh, W. V. 1992. Wild type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**: 7491-7495.

Lasini, A. F., Pompella, A. and Comporti, M. 1985. Liver glutathione depletion induced by bromobenzen, iodobenzen and diethylmalate poisoning and its relation to lipid peroxidation and necrosis. *Am. J. Pathol.* **118**: 225-237.

Lee, G. D., Chang, H. G. and Kim, H. K. 1997. Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**(3): 432-436.

Lee, U. W. and Ji, L. L. 1996. Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats. *J. Nutr.* **126**: 1833-1843.

Lowry, O. H., Rosebrough, J., Farr, A. L. and Randall, R. L. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biological Chemistry* **193**: 265-275.

Marklund, S. and Marklund, C. T. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in to oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**(469): 311-319.

Ma, S. J. 1983. Effects of the substances extracted from dried Lentinus edodes by several organic solvents on the stability of fat. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **15**(2): 150-154.

McBride, O. W., Merry, D. and Givol, D. 1986. The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm(17p13). *Proc. Natl. Acad. Sci.* **83**: 130-134.

Nakayama, T., Niimi, T., Osawa, T. and Kawakishi, S. 1991. The protective role of polyphenols in cytotoxicity of hydrogen peroxide. *Mutat. Res.* **281**: 77-80.

Nam, S. N., Kim, J. G., Ham, S. S., Kim, S. J., Chung, M. E. and Chung, C. K. 1999. Effects of Artemisia iwayomogi extracts on antioxidant enzymes in rats administered benzo(α)pyrene. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**(1): 199-204.

White, A., Handler, P. and Smith, E. 1973. Principles of Bioenergetics: In principles of biochemistry. New York: McGraw-Hill Book Co.

Yoon, Y. H. and Rhee, S. J. 1994. Effects of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the antixoidative detoxification in rat poisoned with cadmium. *Kor. J. Nutr.* **27**: 1007-1017.