

한국인 상용채소 7종의 항산화능 및 항돌연변이능 검색

오세인* · 이미숙*

한남대학교 식품영양학과

*서울대학 식품영양과

Screening for Antioxidative and Antimutagenic Capacities in 7 Common Vegetables Taken by Korean

Se-In Oh* and Mee Sook Lee†

Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Seoul College, Seoul 131-702, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antioxidative effect as the inhibition of malondialdehyde (MDA) and bovine serum albumin (BSA) conjugation reaction, inhibition of lipid peroxidation and the scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical, and antimutagenic capacities as the Ames test in 7 common vegetables taken by Korean for suggestion of prevention and dietetic treatment of chronic diseases and development of antioxidative and antimutagenic functional food. The water fractions of perilla leaves and sedum were most effective in the inhibition of MDA and BSA conjugation reaction showing 62.5% of inhibition rate among 7 vegetables. The inhibition rates of ethanol fractions of sedum and wild water dropwort on the lipid peroxidation were 67.1% and 61.5%, respectively. The ethanol fractions of crown daisy and wild water dropwort showed the most effective results among 7 vegetables in the DPPH radical scavenging capacities showing inhibition rate of 78.8% and 73.6%, respectively. The indirect and direct antimutagenic effects of ethanol extract of 7 vegetables were examined by Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. Inhibitory effects of wild water dropwort was superior to the other vegetables on the Ames test. These results suggest that common 7 vegetables taken by Korean are believed to be a possible antioxidative and antimutagenic capacities, although the results were different, more or less, according to the assay method and vegetables used.

Key words: MDA & BSA conjugation reaction, lipid peroxidation, DPPH radical scavenging effect, Ames test

서 론

우리나라는 고도의 경제성장과 소득증대로 인하여 국민들의 전반적인 생활수준이 향상되었고, 식생활 패턴이 서구화 되어 곡류와 채소류의 섭취는 감소한 반면, 지방, 육류 및 가공 식품의 섭취는 증가되었다(1). 이러한 식생활의 변화로 비만, 심순환계질환, 암 등의 만성질환 발병률이 증가되고 이들이 주요 사인으로 대두되고 있어(2,3) 만성 성인병의 예방 및 치료를 위한 식이요법의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 또한 최근 생체 내에서 각 조직의 활성산소의 반응물질이 증가되어 여러 가지 질병 및 노화를 가져오는 것으로 보고 이에 대한 연구로서 항산화비타민을 비롯한 여러 가지 항산화물질에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 현재 항산화제에 대한 연구는 식품첨가물로서 뿐만 아니라, 각종 질병 및 노화 등의 예방 및 치료제의 개발까지 확대되고 있다. 그러나 superoxide dismutase(SOD)와 같은 항산화 효소의 경우, 경구 투여 시 소화

효소에 의해 불활성화 되므로 피하주사로만 사용하여야 하는 용도의 한계성이 있다. 또한 합성 또는 천연 항산화 물질도 많이 개발되어 왔으나 그 효과와 경제성 및 안전성 때문에 실제로 많이 사용되고 있는 것은 합성 항산화제 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene)이며, 천연 항산화제로는 tocopherol 정도이다. 그러나 합성 항산화제는 간을 비대시키고, 간에서의 microsomal enzyme activity를 증가시킴으로써, 체내 흡수물질의 일부를 독성물 혹은 발암성 물질로 변화시킨다는 연구결과(4-6)에 따라 천연으로부터 얻은 항산화제를 인공합성물에 대체하려는 시도가 이루어지고 있다(7). 한편, 최근에는 각종 채소에 다량으로 들어있는 bioflavonoid류가 갖는 항돌연변이성, 항암성 등이 밝혀지면서 큰 관심을 모으고 있으며 식물로부터 천연 항돌연변이, 항암성 물질들을 찾으려는 시도가 계속되고 있다. 암화 과정의 개시단계에서 발생하는 세포돌연변이는 DNA의 산화적 손상에 의해 초래되고, 원인물질은 대기오염성분, 흡

†Corresponding author. E-mail: meesook@hannam.ac.kr
Phone: 82-42-629-7494, Fax: 82-42-629-7490

연, 특정 항생제 등 외인성 화학적 발암물질의 대사과정에서 뿐만 아니라 산소를 소비하는 정상적인 세포대사과정에서도 다량 생성되는 free radical들이다. 즉 친전자성을 띤 free radical들은 세포 내 DNA의 친핵성 부위와 결합함으로써 세포 변이를 일으키게 된다(8). 따라서 대사과정 중 free radical 생성은 세포의 암화에 긴밀하게 연관되어 관여하는 것으로 보인다(9). 채소류에 존재하는 여러 물질들 중 Vitamin C, β -carotene, 섬유소, 리그닌 유사화합물 등이 돌연변이 유발물질의 활성을 억제할 수 있는 것으로 보고되고 있으며, 녹색채소류에 존재하는 클로로필 및 이와 유사한 색소성분도 강한 항돌연변이 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(10,11).

따라서, 본 실험에서는 한국인이 일상생활에서 손쉽게 구입하여 나물 등으로 상용하는 채소류 7종, 깻잎, 돌나물, 돌미나리, 부추, 시금치, 쪽갓, 참취를 대상으로, 각 채소마다 항산화효과와 항돌연변이 효과가 어느 정도인지 측정해보고, 이 채소들 간의 항산화효과와 항돌연변이 효과를 비교해 보고자 하였다. 채소류 물추출물의 MDA(malondialdehyde)에 대한 단백질의 보호효과와 채소류 에탄올 추출물의 지질과산화(lipid peroxidation) 저해효과, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거효과를 측정하여 단백질의 산화 및 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과를 알아보고, Ames test를 통하여 채소류 에탄올추출물의 돌연변이 유발 억제능을 탐색하고 상호 비교함으로써, 항산화 및 항돌연변이성 기능성 식품개발을 위한 기초자료 뿐만 아니라 광범위하게는 만성 성인병의 예방 및 치료에 효과적인 식사요법 개발 자료를 제시함으로써 국민건강에 도움을 주고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

나물로 상용하는 채소 7종, 깻잎(*Perilla leaf, Perilla frutescens var. japonica Hara*), 돌나물(*Sedum, Sedum sarmentosum Bunge*), 돌미나리(*Wild water dropwort, Ostericum sieboldii Miq. Nakai*), 부추(*Leek, Allium tuberosum R.*), 시금치(*Spinach, Spinacia oleracea L.*), 쪽갓(*Crown daisy, Chrysanthemum coronarium L.*), 참취(*Aster, Aster scaber Thunb.*)을 구입하여 수세하여 동결건조하고 분쇄한 후 밀봉·냉동보관(-20°C)하여 시료로 사용하였다.

시료의 제조

시료의 물추출물은 건조시료 일정량(5 g)에 20배의 증류수를 가하여 실온에서 24시간 동안 추출한 후 여과하는 과정을 2회 반복하였다. 여과액을 동결건조(BioTron, Vacuum freeze dryer)한 후 최소량의 0.1 M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)에 녹여 MDA-BSA(Sigma, Bovine serum albumin) conjugation 반응을 위한 시료로 사용하였다.

시료의 에탄올 추출물은 건조시료 일정량(5 g)에 20배의 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 동안 추출한 후 여과하는

과정을 2회 반복하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Rotary vacuum evaporator N-N series)로 농축한 후, DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거활성 및 Ames test를 위한 시료로 사용하였다.

항산화효과 측정

MDA-BSA conjugation 반응 억제효과 측정: Park(12)의 방법에 따라 bovine serum albumin(BSA, 2 mg/mL), malondialdehyde(MDA, 20 mM), 채소류 물추출물, 0.1 M PBS를 혼합하여 37°C에서 24시간 반응시켰다. 이때 BSA 단백질정량은 Bradford법(13)을 사용하였고 MDA는 Gomez-Sanchez 등(14)의 방법에 따라 제조하였다. 반응시킨 시료 500 μ L를 Centricon(Amicon, Centricon YM-10)에 넣고, 1,400 \times g에서 2시간 동안 원심분리하여(Beckman, Model J2-21 centrifuge), MDA와 BSA의 결합물을 분리한 후, 증류수 700 μ L를 넣고 1,400 \times g에서 2시간 동안 원심분리하여 여분의 염등을 세척하였다. 세척은 동일한 방법으로 3회 실시하였다. 세척한 시료를 분리하여 12% SDS-PAGE(polyacryl-amide gel electrophoresis)를 120 V, 3시간 동안 실시한 후, gel을 Coomassie 염색하여 Densitometer(Vilber Lourmat, BIO-1D Image Analysis)로 정량한 다음, 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다.

지질과산화 억제효과 측정: Saija 등(15)과 Haase와 Dunkley(16)의 방법에 따라 Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성을 TBA(thiobarbituric acid, Sigma)로 발색시켜 측정하였다. 10 mL의 10 mM linoleic acid solution에 시료 20 μ L를 가하고 37°C shaking incubator에서 1시간 동안 shaking 시킨 후, 0.05 M $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 를 20 μ L 첨가한 다음 다시 37°C에서 2시간 동안 shaking 시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleic acid solution 800 μ L를 4°C에서 10분 동안 tempering 시키고, 400 μ L의 TBA reagent를 첨가한 다음 잘 혼합한 후 boiling water bath에서 15분 동안 처리한 후 흐르는 물에 냉각시켰다. 냉각된 용액에 n-butanol 1,120 μ L를 가하고 잘 섞은 다음 250 \times g로 20분 동안 원심분리하여(Hanil, Union 5KR) butanol phase를 취한 후 535 nm에서 흡광도를 측정(Molecular Devices, SpectraMAX 340 pc)하였다. Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화물을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 채소류 에탄올 추출물을 첨가하여 그 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 농도를 IC_{50} 으로 나타내었고, 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다.

DPPH 라디칼 소거효과 측정: Chen 등(17)의 방법에 따라, DMSO 10 μ L(대조구)와 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 μ L에 200 μ M DPPH/ethanol 190 μ L를 가한 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc). 대조구에 대해 시료를 넣었을 때의 흡광도의 감소 정도를 측정하였다.

대조구의 흡광도를 100%로 하였을 때, 채소류 에탄올 추출물을 첨가하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도를 IC₅₀으로 하여 결과를 나타내고, 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다.

항돌연변이능 측정

Salmonella typhimurium TA98과 TA100 균주를 이용하여 항돌연변이능을 측정하였다. 정기적으로 이들 균주의 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이와 R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 이들 균주는 nutrient broth(Difco)에 접종, 배양하여 현탁액 1 mL당 DMSO 90 µL를 가하여 냉동보관용 tube에 채워 액체질소(Thermolyne)에 보관하면서 사용하였다. Master plate에 배양한 균주를 nutrient broth에 접종하여 37°C에서 약 14~16시간 동안 진탕배양(Vison Scientific Co., KMC-8480S)한 후 1~2 × 10⁹ cells/mL의 밀도가 되도록 하여 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발물질로는 간접 또는 직접돌연변이 물질을 사용하였는데 간접돌연변이 물질로는 환경성 돌연변이 물질인 2-AA(anthramine, Sigma)을 사용하였고, 직접돌연변이 물질로는 2-NF(2-nitrofluorene, Aldrich)와 sodium azide phosphate(Sigma)를 사용하였다. 2-AA와 2-NF는 DMSO에 녹여 사용하였고, sodium azide phosphate는 증류수에 녹여 사용하였다. 각 돌연변이 유발물질은 2-AA의 경우 TA98과 TA100에서 2.5 µg/plate, 2-NF는 TA98에서 4 µg/plate, sodium azide phosphate는 TA100에서 2 µg/plate의 농도로 사용하였다.

Ames의 방법에 의한 항돌연변이 유발실험을 위한 배지 및 시약의 조제는 Maron과 Ames의 방법(18)에 따라 행하였으며 Matsushima 등의 방법(19)에 따라 실험을 행하였다. 모든 실험은 ice bath 상에서 행하였고 중복 실험하였다. 대사 활성 물질이 필요한 간접돌연변이 물질을 사용할 때는 S9mix(Moltox, 11-01L RAT LIVER LS-9)를 첨가하였다. DMSO에 녹인 시료 90 µL와 배양한 실험균주 0.1 mL, 돌연변이 유발물질 10 µL, 직접돌연변이원에는 0.5 mL의 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)를, 간접돌연변이원에는 0.5 mL의 S9mix를 멸균된 시험관에 첨가한 후 가볍게 vortex하여, 37°C shaking water bath(Vison Co., KMC-1205SW1)에서 30분 동안 예

비 배양하였다. 0.5 mM histidine/biotin 용액을 100 mL당 10 mL 첨가한 45°C 정도의 top agar를 2 mL씩 각 시험관에 붓고 3초간 vortex한 후 minimal glucose agar plate에 도말하여 굳혔다. 그 다음 plate를 뒤집어 37°C incubator(Vison scientific Co., VS-1203P3)에서 48시간 배양한 후 각각의 revertant colonies를 계수하였고 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)를 계산하였다.

결과 및 고찰

항산화효과

MDA-BSA conjugation 억제효과 : 채소류의 물추출물을 첨가하여 MDA-BSA의 교차결합(cross-linking) 형성을 차단하는 정도를 비교한 전기영동실험 결과는 Fig. 1과 같고, 이를 대조군의 저해율로 표시한 결과는 Table 1과 같다. 두 개의 aldehyde기를 가진 MDA는 단백질 내부의 아미노산 잔기들 사이에서뿐만 아니라 외부 단백질분자의 잔기 사이에서도 교차결합을 일으킬 수 있는데(12) 각각의 채소류 물추출물을 처리하면 MDA-BSA의 교차결합 형성이 차단되었고, 교차결합의 형성 차단정도를 비교한 상대 저해율은 채소류의 물추출물 처리농도가 증가할수록 저해율이 높아짐을 알 수 있었다. 상대 저해율을 채소류별로 살펴보면, 깻잎과 돌나물이 62.5%로 MDA-BSA의 교차결합을 가장 효과적으로 저해할 수 있음을 보여주었다. 부추, 참취, 돌미나리도 각각 57.4%, 53.5%, 45.6%의 저해율을 보였고, 쪽갓과 시금치는 각각 42.9%, 39.6%로 상대적으로 낮은 저해율을 나타내었다. 7종 채소류 물추출물의 MDA에 대한 단백질의 보호효과를 살펴본 결과, 단백질의 산화를 억제하는데 효과가 우수한 채소는 깻잎과 돌나물이었다.

지질과산화 억제효과 : Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 각 채소류 에탄올추출물의 농도별 최고 저해율(inhibition rate, %)을 살펴보면(Table 2) 돌나물(67.1%), 돌미나리(61.5%)는 상대적으로 높은 저해율을 보였으며 참취(50.1%), 깻잎(48.1%), 시금치(43.8%), 부추(31.6%), 쪽갓(21.8%) 순이었다. 농도에 따른 채소류의 에탄올 추출물의 저해율을 보면 돌나물, 돌미나리, 시금치, 부추, 쪽갓은 에탄

Table 1. Inhibition rate of water fraction of vegetables on the conjugated malondialdehyde with bovine serum albumin

Conc. (µg/assay)	Inhibition rate (%)						
	Perilla leaf	Sedum	Wild water dropwort	Leek	Spinach	Crown daisy	Aster
12.5	9.57 ± 0.9 ^{1(a2)}	0.00 ± 0.0 ^a	10.87 ± 0.3 ^a	7.40 ± 0.3 ^a	0.00 ± 0.0 ^a	25.60 ± 4.1 ^a	0.00 ± 0.0 ^a
25	15.63 ± 0.4 ^b	21.51 ± 1.2 ^b	15.50 ± 1.1 ^b	32.63 ± 1.0 ^b	0.00 ± 0.0 ^a	28.07 ± 2.8 ^a	0.00 ± 0.0 ^a
50	20.95 ± 1.0 ^c	22.23 ± 0.4 ^b	19.27 ± 0.4 ^c	34.80 ± 0.9 ^b	13.47 ± 1.6 ^b	29.03 ± 2.8 ^a	21.30 ± 2.9 ^b
100	38.07 ± 0.9 ^d	40.73 ± 1.1 ^c	27.13 ± 1.0 ^d	45.62 ± 0.8 ^c	24.50 ± 0.3 ^c	32.00 ± 1.4 ^{ab}	34.27 ± 2.9 ^c
200	57.12 ± 0.6 ^e	56.67 ± 0.2 ^d	35.22 ± 1.0 ^e	51.65 ± 0.7 ^d	30.73 ± 0.8 ^d	35.13 ± 0.9 ^b	49.30 ± 1.2 ^d
400	62.48 ± 0.6 ^f	62.52 ± 0.7 ^e	45.57 ± 0.6 ^f	57.37 ± 1.4 ^e	39.63 ± 0.4 ^e	42.93 ± 1.1 ^c	53.47 ± 4.9 ^d

¹Values are mean ± SE.

²Values with different letters within a column are significantly different at p<0.05 by LSD test.

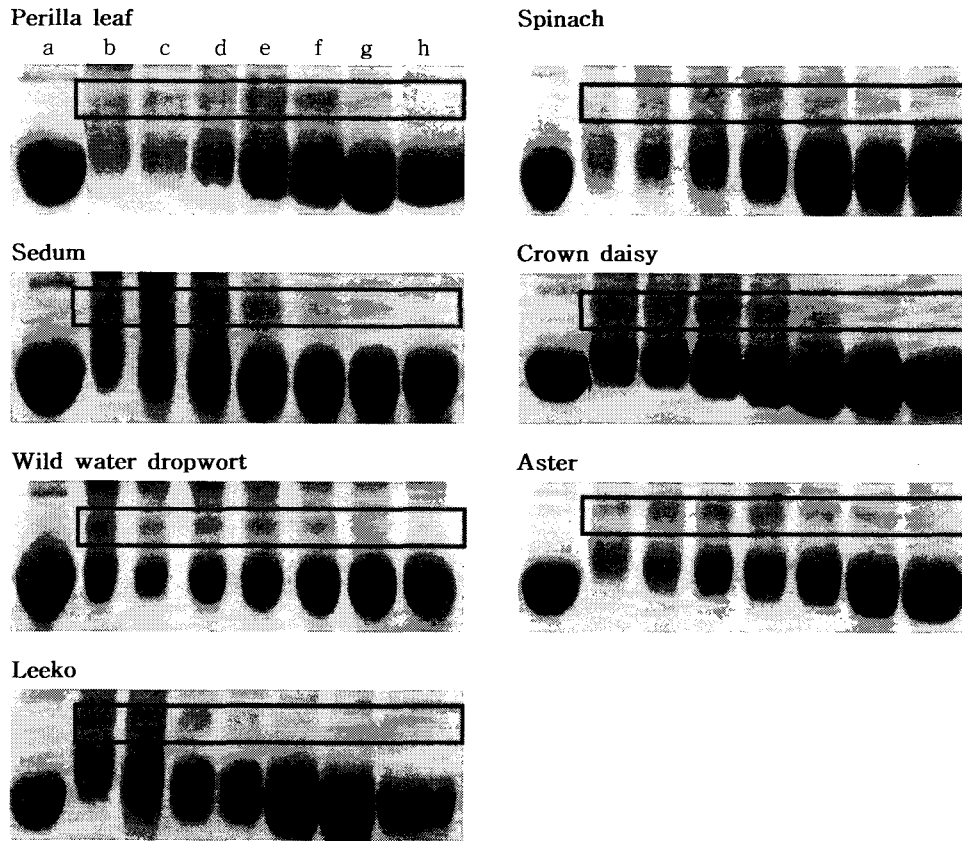


Fig. 1. Inhibitory effect of vegetables on conjugated malondialdehyde with bovine serum albumin in 12% SDS-PAGE.

- a: BSA (100 μ L)+PBS (900 μ L).
- b: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+PBS (800 μ L).
- c: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (12.5 μ L)+PBS (787.5 μ L).
- d: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (25 μ L)+PBS (775 μ L).
- e: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (50 μ L)+PBS (750 μ L).
- f: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (100 μ L)+PBS (700 μ L).
- g: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (200 μ L)+PBS (600 μ L).
- h: BSA (100 μ L)+MDA (100 μ L)+sample (400 μ L)+PBS (400 μ L).

Table 2. Antioxidative effects of ethanol fractions of vegetables on lipid peroxidation

Conc. (μ g/assay)	Inhibition rate (%)						
	Perilla leaf	Sedum	Wild water dropwort	Leek	Spinach	Crown daisy	Aster
10	20.0 \pm 2.3 ^{1)a2)}	8.9 \pm 3.2 ^a	10.4 \pm 2.5 ^a	3.9 \pm 0.9 ^a	11.2 \pm 1.8 ^a	3.0 \pm 1.3 ^a	17.0 \pm 1.2 ^a
30	26.7 \pm 1.3 ^b	11.3 \pm 1.8 ^a	23.7 \pm 4.2 ^b	8.1 \pm 1.5 ^a	18.6 \pm 3.0 ^a	5.2 \pm 0.6 ^{ab}	28.9 \pm 1.3 ^b
100	35.1 \pm 2.4 ^c	18.8 \pm 3.2 ^a	40.7 \pm 5.7 ^c	19.7 \pm 0.6 ^b	26.4 \pm 2.2 ^b	9.8 \pm 0.5 ^{bc}	39.2 \pm 2.3 ^c
300	48.1 \pm 1.9 ^d	43.3 \pm 4.6 ^b	60.6 \pm 3.3 ^d	44.0 \pm 2.8 ^c	38.6 \pm 3.9 ^c	14.5 \pm 2.2 ^c	50.1 \pm 1.0 ^d
1000	41.1 \pm 2.7 ^c	67.1 \pm 3.2 ^c	61.5 \pm 4.5 ^d	41.5 \pm 2.9 ^c	43.8 \pm 1.1 ^c	21.8 \pm 2.2 ^d	37.4 \pm 1.5 ^c
IC ₅₀ (μ g/assay)	473.0	464.0	236.2	804.0	2007.9	1306196.4	298.1

¹⁾Values are mean \pm SE.

²⁾Values with different letters within a column are significantly different at p<0.05 by LSD test.

을 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화 저해율이 증가하였다. 깻잎과 참취는 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 저해율이 증가하여 300 μ g 수준에서 가장 높은 저해율을 보였다가 1,000 μ g 수준에서는 오히려 저해율이 감소하여 최고의 효과를 보인 농도는 300 μ g 수준임을 알 수 있었다. 채소류 에탄올 추출물의 지질과산화 저해효과를 측정하여 유지류의

자동산화 반응에 대한 항산화효과를 살펴 본 결과, 상대적으로 돌나물(67.1%), 돌미나리(61.5%)가 가장 높았다.

DPPH 라디칼 소거효과 : 채소류 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하여 항산화효과를 알아본 결과는 Table 3과 같다. 채소류의 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 최고저해율을 보면 쑥갓(78.8%)과 돌미나리(73.6%)는

Table 3. Scavenging effects of DPPH radical by ethanol fraction of vegetables

Conc. ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Inhibition rate (%)						
	Perilla leaf	Sedum	Wild water dropwort	Leek	Spinach	Crown daisy	Aster
2	5.3 \pm 2.4 ^{1)a2)}	3.3 \pm 1.1 ^a	3.6 \pm 0.9 ^a	0.0 \pm 0.0 ^a	1.1 \pm 0.7 ^a	5.4 \pm 1.2 ^a	3.2 \pm 0.2 ^a
6	11.3 \pm 5.6 ^{ab}	4.9 \pm 0.8 ^a	7.9 \pm 0.7 ^a	0.0 \pm 0.0 ^a	2.2 \pm 1.2 ^a	13.4 \pm 1.4 ^a	11.7 \pm 0.5 ^b
20	23.4 \pm 8.6 ^b	12.4 \pm 1.6 ^a	19.5 \pm 0.8 ^a	4.6 \pm 0.4 ^b	5.5 \pm 0.7 ^{ab}	38.5 \pm 2.6 ^b	29.7 \pm 0.3 ^c
60	32.7 \pm 5.3 ^b	27.5 \pm 2.1 ^b	43.7 \pm 6.8 ^b	13.3 \pm 0.8 ^c	10.3 \pm 1.5 ^b	72.5 \pm 13.5 ^c	37.1 \pm 0.2 ^d
200	46.5 \pm 2.1 ^c	42.1 \pm 3.0 ^c	65.7 \pm 12.1 ^c	24.6 \pm 0.2 ^d	23.7 \pm 1.9 ^c	78.8 \pm 6.6 ^c	44.3 \pm 0.3 ^e
500	31.9 \pm 3.8 ^b	51.1 \pm 7.2 ^c	73.6 \pm 8.5 ^c	27.7 \pm 0.4 ^e	10.8 \pm 2.9 ^b	68.7 \pm 2.4 ^c	51.5 \pm 0.5 ^f
IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	354.9	578.1	93.8	8023.4	144702.6	31.1	336.7

¹⁾Values are mean \pm SE.

²⁾Values with different letters within a column are significantly different at $p < 0.05$ by LSD test.

비교적 높은 저해율을 보였고, 그 다음은 참취(51.5%), 돌나물(51.1%), 깻잎(46.5%)이었다. 부추(27.7%) 시금치(23.7%)의 에탄올 추출물은 비교적 낮은 저해율을 보였다. 채소류의 에탄올 추출물의 농도에 따른 저해율은 돌나물, 돌미나리, 부추, 참취는 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하였으나, 시금치, 썩갓은 200 μg 수준에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 보이다가 채소류의 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 오히려 DPPH 라디칼 소거활성이 감소하였다. DPPH를 첨가하여 안정한 라디칼을 발생시키는 농도를 100%로 하고, 이를 50% 소거하는 시료의 농도를 IC₅₀으로 하였을 때, 각 채소류 에탄올 추출물들의 IC₅₀값을 살펴보면 썩갓이 31.1 $\mu\text{g}/\text{assay}$, 돌미나리가 93.8 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 로 강한 소거활성을 보였다. 참취, 깻잎, 돌나물, 근대의 IC₅₀값은 각각 336.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$, 354.9 $\mu\text{g}/\text{assay}$, 578.1 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었으며 부추, 시금치의 IC₅₀값은 각각 8,023.4 $\mu\text{g}/\text{assay}$, 144,702.6 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 으로 다른 채소류보다 낮은 활성을 보였다.

7종 채소류의 항산화효과를 탐색하기 위해 MDA-BSA conjugation 반응, 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거 활성을 측정된 결과, 각 측정법에 따라 항산화효과에 차이가 있음을 알 수 있었다. 채소류 별로 살펴보면, 깻잎은 MDA-BSA conjugation 반응에서 돌나물과 함께 62.5%의 억제효과를 보여 단백질 산화를 억제하는데 그 효과가 매우 우수하였고, 지질과산화 억제효과와 DPPH 라디칼 소거효과에서도 48.1%, 46.5%의 저해율을 나타내 항산화효과가 비교적 우수한 채소라고 사료된다. 다른 연구들에서도 깻잎의 메탄올 추출물이 과산화지질 생성의 억제작용이 있다고 보고하였고(20), Perilla속 식물로부터 항산화제들이 분리되었고(21) 깻잎의 건분과 깻잎의 에탄올 추출물들이 혈장과 간에서 과산화지질 생성을 억제하는 효과가 있음이 보고되었다(22). 돌나물, 돌미나리는 지질과산화 저해율이 가장 높아(각각 67.1, 61.5%) 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과가 우수함을 알 수 있었고 단백질 산화억제(각각 62.5, 45.6%)와 DPPH 라디칼 소거활성(각각 51.1, 73.6%)에도 효과가 좋음을 알 수 있었다. Lee 등(23)은 사염화탄소에 의하여 유도된 급성 간손상을 미나리 n-butanol추출물이 억제하였는데 이는 미나리

n-butanol추출물이 free radical 생성계효소인 간조직 xanthine oxidase의 활성조절을 조절하기 때문이라고 보고하였다. 썩갓은 DPPH 라디칼 소거활성이 높아 전자공여능이 상대적으로 가장 우수한 채소(78.8%)였으나 지질과산화억제능은 7 채소류 중 가장 효과가 낮았다(21.8%). Cho 등(24)도 21종 식용식물의 부위별 메탄올 추출물의 항산화 효과를 조사한 결과 참취잎, 썩갓잎, 머위잎에서 DPPH를 이용한 유리 라디칼 소거효과가 높았으며, 썩갓잎이 FeSO₄로 유발시킨 지질과산화에 대한 억제효과가 특이적으로 높았다고 보고하였다. 참취는 MDA-BSA conjugation 반응에서 53.5%의 억제활성을 보여 단백질 산화를 억제하는데 상당한 효과가 있음을 알 수 있었고, 지질과산화억제활성과 DPPH 라디칼 소거활성에서도 비교적 높은 저해율을 보였다(각각 31.6%, 51.5%). 부추와 시금치는 지질과산화 저해율이 각각 44.0%, 43.8%로 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과가 비교적 우수함을 알 수 있었다. 단백질 산화억제 효과는 부추는 57.5%로 상당히 높으나 시금치는 39.6%로 가장 낮았고, DPPH 라디칼 소거활성에서는 두 채소(각각 27.7, 23.7%)가 다른 채소류에 비해 효과가 적었다.

항돌연변이능

본 연구에서 채소류 에탄올추출물 4.5 mg의 간접작용 항돌연변이능을 환경성 돌연변이 물질인 2-AA(2.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$)를 사용하여 *S. typhimurium* TA98과 *S. typhimurium* TA100으로 측정하였고 그 결과는 Table 4와 같다.

S. typhimurium TA98에서 간접작용 돌연변이능에 대한 저해 효과는 돌미나리(99.8%)가 가장 효과적이었으며 깻잎(85.6%), 부추(79.6%), 썩갓(79.4%), 시금치(74.5%) 등도 높은 저해율을 보여주었으며 참취도 52.7%의 저해율을 보여주었다. 또한 *S. typhimurium* TA100에서 간접작용 돌연변이능을 돌미나리는 100.0% 저해하였으며, 썩갓(79.1%), 시금치(71.3%), 돌나물(58.1%), 부추(50.5%) 순으로 간접작용 돌연변이 저해율을 나타내었다.

채소류 에탄올 추출물 4.5 mg의 직접작용 항돌연변이능을 직접돌연변이 물질인 2-NF(4 $\mu\text{g}/\text{plate}$)와 sodium azide(2

Table 4. Effects of ethanol fraction¹⁾ from vegetables on indirect mutagenicity mediated by 2-anthramine²⁾ in *Salmonella typimurium* TA98 and TA100

Vegetables	<i>Salmonella typimurium</i>			
	TA98		TA100	
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
Perilla leaf	504.5 ± 290.5 ³⁾	85.6 ± 12.9	1222.0 ± 184.0	8.9 ± 5.5
Sedum	1670.0 ± 578.0	16.7 ± 0.7	1441.5 ± 23.5	58.1 ± 1.1
Wild water dropwort	36.0 ± 1.5	99.8 ± 0.0	88.7 ± 9.0	100.0 ± 0.0
Leek	852.0 ± 0.0	79.6 ± 0.0	1473.0 ± 27.0	50.5 ± 2.3
Spinach	969.5 ± 252.5	74.5 ± 5.9	2394.0 ± 646.0	71.3 ± 17.8
Crown daisy	594.0 ± 11.0	79.4 ± 0.6	739.0 ± 13.0	79.1 ± 0.1
Aster	1589.0 ± 299.0	52.7 ± 18.6	2168.0 ± 656.0	34.2 ± 14.6

¹⁾Ethanol fraction: 4.5 mg/plate. ²⁾2-anthramine: 2.5 µg/plate.
³⁾Values are mean ± SE.

Table 5. Effects of ethanol fraction¹⁾ from vegetables on direct mutagenicity mediated by 2-nitrofluorene²⁾ in *Salmonella typimurium* TA98 and sodium azide³⁾ in *Salmonella typimurium* TA100

Vegetables	<i>Salmonella typimurium</i>			
	TA98		TA100	
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
Perilla leaf	251.7 ± 61.1 ⁴⁾	82.8 ± 5.4	1979.3 ± 160.3	0.0 ± 0.0
Sedum	794.0 ± 0.0	34.2 ± 0.0	1457.0 ± 55.0	19.9 ± 0.3
Wild water dropwort	382.0 ± 24.0	52.4 ± 2.9	286.5 ± 44.5	91.8 ± 0.3
Leek	463.5 ± 16.5	49.6 ± 2.9	1307.5 ± 238.5	29.6 ± 0.2
Spinach	558.0 ± 257.1	56.1 ± 19.3	2405.0 ± 529.4	0.0 ± 0.0
Crown daisy	294.0 ± 17.0	66.6 ± 1.1	1893.0 ± 275.0	23.9 ± 11.8
Aster	300.0 ± 40.0	82.3 ± 9.6	1956.0 ± 227.0	3.3 ± 3.3

¹⁾Ethanol fraction: 4.5 mg/plate. ²⁾2-nitrofluorene: 4 µg/plate. ³⁾Sodium azide: 2 µg/plate.
⁴⁾Values are mean ± SE.

µg/plate)를 사용하여 *S. typimurium* TA98과 TA100으로 실험한 결과는 Table 5와 같다. *S. typimurium* TA98에서 직접 작용 돌연변이능에 대한 저해 효과가 큰 채소류는 깻잎(82.8%), 참취(82.3%)이었으며 쑥갓(66.6%), 시금치(56.1%), 근대(55.2%), 돌미나리(52.4%)도 모두 직접작용 돌연변이능을 50% 이상 저해였다. 또한 *S. typimurium* TA100에서 돌미나리 에탄올 추출물만이 직접작용 돌연변이능을 91.8% 저해하여 탁월한 항돌연변이능을 보였으며 부추, 쑥갓, 돌나물은 각각 29.6%, 23.9%, 19.9%의 저해율을 보였고 깻잎과 시금치는 전혀 직접작용 항돌연변이능 효과가 없었다.

7종 채소류의 항돌연변이능 측정 결과, 상대적인 차이는 있으나 7종의 채소류 에탄올 추출물들이 간접작용 돌연변이원에 관여한 전구물질이 최종 돌연변이물질로 전환되는 것을 방지하였거나, 활성화된 돌연변이물질에 직접 결합하여 돌연변이원성을 제거하였을 것이라고 추측된다. 그 중 돌미나리가 *S. typimurium* TA98과 TA100에서 모두 가장 효과적인 간접작용 항돌연변이능(각각 99.8%, 100%)을 보여 주었으며, *S. typimurium* TA100에서도 직접적인 항돌연변이효과(91.8%)를 보여줌으로서 항돌연변이효과가 가장 탁월하였다고 사료된다. Park 등(25)도 식용식물 중 미나라가 가장 우수한 돌연변이 억제활성이 있다고 보고하였고, 미나라 메탄올추출물이 *S. typimurium* TA100균주에서 aflatoxin B₁과 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine에 의해 유도

된 돌연변이에서 억제 효과가 있었으며 활성물질은 isorhamnetin, hyperoside 및 persicarin의 플라보노이드 화합물이라고 보고하였다(26). 또한 본 연구에서 깻잎은 *S. typimurium* TA98에서 간접작용과 직접작용에 대해 항돌연변이능이 높았는데(각각 85.6%, 82.2%) Lee 등(27)은 깻잎의 메탄올 추출물이 *S. typimurium* TA98과 TA100에서 aflatoxin B₁의 돌연변이 유발성을 억제시키는 효과가 있었으며 항돌연변이 효과가 큰 화합물은 phytol과 methyl 11, 14, 17-eicosatrienoate이라고 보고하였다.

요 약

한국인이 일상생활에서 손쉽게 구입하여 주로 상용하는 7종의 채소에 대해 MDA에 대한 단백질의 보호효과, linoleic acid를 이용한 지질과산화억제, DPPH 라디칼 소거활성을 측정하여 항산화 효과를 측정하고, Ames test를 통한 항돌연변이능의 탐색 및 상호 비교 결과는 다음과 같다. 7종의 채소류 물추출물의 MDA에 대한 단백질의 보호효과에서는 깻잎과 돌나물(62.5%)이 가장 효과적으로 MDA의 교차결합을 차단하였고 부추, 참취, 돌미나리도 각각 57.4%, 53.5%, 45.6%의 저해율을 보였다. 또한 MDA의 교차결합의 형성 차단정도를 비교한 상대 저해율은 채소류의 물추출물 처리능도가 증가할수록 저해율이 높아짐을 알 수 있었다. 7종의 채소류 에

탄을추출물의 지질과산화억제 활성을 측정된 결과, 가장 우수한 저해활성을 보인 채소는 상대적으로 돌나물(67.1%), 돌미나리(61.5%)가 유지류의 자동산화 반응에 대한 항산화효과가 가장 높았다. 7종의 채소류 에탄올추출물의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정된 결과, 쪽갓(78.8%), 돌미나리(73.6%)가 높은 저해활성을 보였다. 각 채소류 에탄올 추출물들의 IC₅₀값은 쪽갓이 31.1 µg/assay, 돌미나리가 93.8 µg/assay이었다. Ames test를 통한 채소류 에탄올 추출물의 항돌연변이능 실험에서는, 간접작용 항돌연변이능을 *S. typimurium* TA98로 측정된 결과 2-anthramine에 대한 항돌연변이능은 돌미나리(99.8%), 깻잎(85.6%), 부추(79.6%), 쪽갓(79.4%), 시금치(74.5%) 등이 높았다. *S. typimurium* TA100에서 2-anthramine의 돌연변이능에 대한 저해효과는 돌미나리(100%), 쪽갓(79.1%), 시금치(71.3%) 등이 높았다. 직접작용 항돌연변이능을 *S. typimurium* TA98로 실험한 결과 2-nitrofluorene의 돌연변이능의 저해율이 높은 채소는 깻잎(82.8%), 참취(82.3%), 쪽갓(66.6%)이었다. 또한 *S. typimurium* TA100에서 sodium azide의 돌연변이능에 저해효과가 가장 큰 채소는 돌미나리(91.8%)이었다. 따라서 MDA & BSA conjugation 반응, 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거활성을 측정된 결과, 각 측정법에 따라 항산화효과에 차이가 있었으나 이들 7종의 채소류를 상용함으로써 광범위하게는 만성 성인병의 예방 및 치료에 효과를 볼 수 있을 것이라고 사료되며, 본 연구의 결과가 항산화성 및 항돌연변이성 기능성 식품을 개발할 수 있는 기초자료로 이용될 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 서일대학 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 깊이 감사드립니다.

문헌

- Lee HS. 1997. Dietary fiber intake of Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 540-548.
- Annual report on the cause of death statistics. 1996. National statistical office, Republic of Korea.
- WHO. 1996. 1990 World health statistics, Annual.
- Farag RS, Badei AZMA, Baroty GSAE. 1989. Influence of thyme and clove essential oils in cotten seed oil oxidation. *JAOCs* 66: 800-804.
- Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCs* 52: 59-63.
- Farag RS, Badei AZMA, Hewedi FM, Baroty GSAE. 1989. Antioxidant activity of some spice essential oils on linolenic acid oxidant in aqueous media. *JAOCs* 66: 792-799.
- Lrson RA. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969-978.
- Colditz GA, Branch LG, Lipnick RJ, Willett WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. 1985. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32-36.
- Moon SH, Park KY. 1995. Antimutagenic effects of boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 880-886.
- Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
- Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim MN, Rhee SH, Moon SH, Park KY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica nakai*) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 308-313.
- Park YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomedics by aldehydes. *PhD in Medicine Thesis*. Seoul National University.
- Bradford M. 1970. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 240-254.
- Gomez-Sanchez A, Hermosin I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28: 4077-4080.
- Saija A, Scalse M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology & Medicine* 19: 481-486.
- Haase G, Dunkley WL. 1969. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation. I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Research* 10: 555-560.
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K, Nokihara K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *J Agric Food Chem* 46: 49-53.
- Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113: 173-215.
- Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test. In *Short-term test, systems for detecting carcinogens*. Norphth KH, Garner RC, eds. Springer, Berling. p 273.
- Lee KI, Rhee SH, Kim JO, Chung HY, Park KY. 1993. Antimutagenic and antioxidative effects of Perilla leaf extracts. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 175-180.
- Tada M, Matsumoto R, Yamaguchi H, Chiba K. 1996. Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var. crisp (Thunb.). *Biosci Biotech Biochem* 60: 1093-1095.
- Kim JH, Kim MK. 1999. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of *Perilla frutescens*, *Artemisia princeps* var. Orientalis and *Aster scaber* on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32: 540-551.
- Lee SI, Park YS, Cho SY. 1993. Protective effect of *Oenanthe javanica* extract on the carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 392-397.
- Cho SY, Han YB, Shin KH. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plants *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 133-137.
- Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
- Park JC, Ha JO, Park KY. 1996. Antimutagenic effect of flavonoids isolated from *Oenanthe javanica*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 588-592.
- Lee KI, Rhee SK, Park KY, Kim JO. 1992. Antimutagenic compound identified from perilla leaf. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 302-307.

(2003년 6월 18일 접수; 2003년 10월 9일 채택)