

# 녹즙혼합음료 섭취가 흡연자의 임파구 DNA 손상 및 혈장 항산화 영양상태에 미치는 영향

김혜영\* · 박유경\*\* · 김태석\*\*\* · 강명희\*§

한남대학교 이과대학 식품영양학과, \* 경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과,\*\*  
(주) 풀무원 기술연구소 생물공학연구팀\*\*\*

## The Effect of Green Vegetable Drink Supplementation on Cellular DNA Damage and Antioxidant Status of Korean Smokers

Kim, Hye-Young\* · Park, Yoo Kyoung\*\* · Kim, Tae Seok\*\*\* · Kang, Myung-Hee\*§

Department of Food and Nutrition, \* Hannam University, Daejeon 306-791, Korea  
Department of Medical Nutrition, \*\* College of East-West Medical Science, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea  
Biotechnology Team, \*\*\* R & D, Pulmuone Co., Ltd., Seoul 120-600, Korea

### ABSTRACT

Smoking is well known to be associated with increased indices of free radical-mediated damage of DNA, indicating that smoking may exacerbate the initiation and propagation of oxidative stresses, which are potential underlying processes in the pathogenesis of many diseases. The purpose of this study was to evaluate whether a daily regimen of green vegetable drink supplementation to smokers can be protective against endogenous lymphocytic DNA damage and whether it could enhance other antioxidant status. Twenty nonsmokers and nineteen smokers aged 23 - 60 were given 240 ml of green vegetable drink every day for 8 weeks in addition to their normal diet, and blood samples were drawn before and after the intervention. The 8 weeks of green vegetable drink consumption resulted in a significant decrease ( $p = 0.000$ , by paired t-test) in lymphocyte DNA damage expressed by TL (before:  $63.13 \pm 1.05$  vs after:  $37.86 \pm 10.83$ , before:  $66.73 \pm 1.24$  vs after:  $36.51 \pm 1.13$ ), TM (before:  $14.55 \pm 0.61$  vs after:  $6.61 \pm 0.25$ , before:  $15.36 \pm 0.45$  vs after:  $6.65 \pm 0.38$ ) and % DNA in tail (before:  $19.7 \pm 0.41$  vs after:  $16.6 \pm 0.37$ , before:  $20.6 \pm 0.31$  vs after:  $17.1 \pm 0.5$ ) in both nonsmokers and smokers respectively. Vitamin C and TRAP level was not significantly changed after the supplementation. In conclusion, these results support the hypothesis that green vegetable drink exert a cancer-protective effect partially via a decrease in oxidative damage to DNA. (*Korean J Nutrition* 39(1): 18~27, 2006)

KEY WORDS : green vegetable drink, supplementation, lymphocyte, DNA damage, antioxidant status, vitamin C, TRAP, smokers.

### 서론

만성질환에 영향을 미치는 생활양식 중 가장 강력한 위험요인으로 인체에 유해한 흡연을 들 수 있으며 1960년대 이후 미국을 비롯한 선진국의 흡연율은 흡연으로 인한 유해성이 인식되면서 차츰 감소하는 추세이다. 최근 우리나라도 전 국가적인 금연 캠페인으로 인하여 흡연율이 감소하

는 추세를 보이고는 있으나 2001년 국민건강·영양조사 결과를 보면 15세 이상 성인 남자의 흡연율은 아직도 58.7%이며, 경제협력개발기구 31개국 가운데 가장 높은 것으로 나타났다.<sup>1)</sup> 흡연은 폐암을 비롯한 각종 암의 발병 원인으로도 잘 알려져 있으며, 담배 연기 속에 들어있는 약 4,000여 가지의 유해물질은 호흡기, 순환기 및 소화기 등 각종 장기에 유해한 영향을 끼쳐 폐 관련 질병 이환율과 조기 사망율을 증가시킨다.

흡연으로 인해 신체 내에서 광범위하고 해로운 활성을 가진 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS) 농도가 비정상적으로 높아지면, 체내의 항산화계의 방어 한계를 넘어서게 되고 그 결과 체내에서 산화 반응이 강하게 일어난

접수일 : 2005년 11월 17일

채택일 : 2006년 1월 12일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : mhkang@hannam.ac.kr

다.<sup>2)</sup> 우리 몸은 이러한 산화 반응으로부터 세포를 보호하기 위한 항산화 방어기전을 갖추고 있는데 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px)와 같은 항산화 효소계와 vitamin C, E, Coenzyme Q 10,  $\beta$ -carotene과 같은 식이성 항산화 물질이 이에 속한다.<sup>3)</sup> 생체 내에 ROS 농도가 증가하여 항산화 시스템의 균형이 깨짐과 동시에 항산화계의 방어한계를 넘어서면 산화적 스트레스 현상이 일어나며, 과도한 산화반응은 혈장 내 vitamin C, E, Coenzyme Q 10,  $\beta$ -carotene 등의 항산화 비타민을 소모시키고, 지질의 과산화와 DNA 손상을 유도하여 노화, 암을 비롯한 여러 질병의 발병 및 진행에 매우 큰 영향을 준다.<sup>3)</sup> 그 동안 수행된 대규모 역학조사는 혈중 항산화 비타민 수준과 만성질환 발생이 역의 관계에 있다고 보고하고 있으므로,<sup>4)</sup> 체내 항산화 체계를 강화하고 DNA 손상을 억제한다면 산화적 스트레스와 관련된 질환 발병률을 효과적으로 줄일 수 있을 것이다.<sup>5)</sup>

흡연자들의 항산화 체계를 강화하여 산화적 스트레스로 인해 유도되는 질환 발병률을 줄이려는 노력이 최근 국내 외에서 계속되고 있다.<sup>5,6)</sup> 흡연자에게 비타민 E, 비타민 C,  $\beta$ -carotene을 각각 경구투여하거나, 혼합하여 투여하였을 때, 적혈구 catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase 활성도의 증가가 보고되었다.<sup>6)</sup> 단기연구에서 흡연자에게 항산화 비타민을 보충하여 DNA 손상이 감소한 경우도 있었고,<sup>7)</sup> 흡연자에게 비타민 E나 비타민 C,  $\beta$ -carotene, 홍삼을 4주 동안 투여하였을 때 8-OHdG (8-Hydroxydeoxy guanosine)로 측정된 DNA의 산화적 손상이 감소되었다는 연구도 보고되었다.<sup>8)</sup> 그러나 국제적으로 연구된 CARET (Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial)이나, ATBC (Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study) 연구에서는  $\beta$ -carotene의 장기 보충섭취가 흡연자의 폐암 위험을 예방하는데 효과가 없었을 뿐 아니라 오히려 폐암의 위험을 높일 수 있다고 보고되어 있다.<sup>9,10)</sup> 이에 따라 많은 연구자들이 vitamin C, vitamin E 및  $\beta$ -carotene 같은 정제된 항산화 영양소보다는 체내에서 효과적으로 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려진 flavonoids 등의 phytochemical을 많이 함유한 채소나 과일 섭취를 권장하고 있다.<sup>11,12)</sup> 앞선 여러 역학조사에서 채소나 과일의 풍부한 섭취가 암 예방에 효과가 있음이 밝혀졌고, 외국의 경우 comet assay로 측정된 DNA 손상 정도를 biomarker로 이용해 암과 관련된 역학조사들을 많이 수행하고 있으며, 암 예방을 위한 영양중재효과 연구도 활발히 진행되고 있다.<sup>12-14)</sup> Collin 등<sup>13)</sup>은 키위 주스 섭취 후에 *in vitro*에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유발된 DNA 손상이 유의적으로

감소된 것을 관찰하였고, 3주간 토마토 퓨레를 보충 받은 여대생들의 comet assay로 본 임파구 DNA 손상이 감소하는 효과가 나타난 연구가 보고되었으며,<sup>14)</sup> 꽃양배추, 브로콜리와 같은 십자화과 야채 또는 토마토, 양파 및 도정하지 않은 곡류를 보충한 intervention 연구에서도 DNA 손상 억제 효과가 나타났다.<sup>12)</sup> 국내에서의 연구로는 최근 흡연자에게 신선초 녹즙을 6주간 보충시켰을 때 comet assay로 본 임파구 DNA 손상이 감소될 뿐 아니라 혈장 항산화 영양상태가 개선되었다는 보고가 있다.<sup>15)</sup>

최근 신선한 생야채를 마쇄하여 흡수하기 쉽도록 제조된 녹즙의 항산화 기능들이 일부 밝혀지면서 녹즙의 응용이 증가하고 있는데, 녹즙은 카로티노이드와 비타민, 무기질, 그 외에도 flavonoids 등 phytochemical을 풍부하게 포함하고 있다.<sup>16,17)</sup> 녹즙의 생리적 효능에 대한 과학적인 연구는 충분하지 않은데, 녹즙의 항산화 기능성과 관련된 연구결과로는 *in vitro* 상에서 항 돌연변이 효과와,<sup>18)</sup> DNA 손상 억제효과,<sup>19)</sup> 암세포 성장 억제효과 등<sup>20)</sup>이 보고되었으며, *in vivo* 인체시험을 통한 연구는 매우 드물다. 최근 본 연구실에서 신선초 녹즙을 6주 동안 공급한 인체 intervention 연구결과, 항산화 영양상태 개선<sup>21)</sup> 및 DNA 손상 감소 효과<sup>15)</sup>가 나타났음을 관찰하였다.

녹즙의 주재료로는 케일, 신선초 (명일엽), 샐러리, 당근 토마토, 오이, 돌미나리, 사과 등의 녹색채소 및 과일이 널리 사용되고 있으며 선행연구<sup>15,21)</sup>에서와 같이 신선초 생 녹즙에는 항산화 영양상태 개선 및 DNA 손상 감소효과 등의 항산화 생리활성이 있으나, 녹즙은 일반적으로 쓴맛을 가지고 있어서 기호성이 떨어질 뿐 아니라, 싱싱한 채소로부터 매일 신선하게 제조하여 섭취하여야 하므로 제조, 보관 및 유통에 어려움이 있다. 이 문제를 해결하기 위해 녹즙의 주성분을 이용하여 제조, 보관 및 유통에 편리한 녹즙 음료를 개발할 필요가 있다.

따라서 본 연구는 녹즙을 주요 성분으로 하여 개발된 음료인 녹즙혼합음료를 흡연자에게 투여하는 인체 intervention 연구를 수행한 후 녹즙혼합음료의 항산화 영양상태 개선 및 DNA 손상 억제 효과를 알아보려는 목적으로 시도되었다.

## 연구방법

### 1. 조사 대상 설문조사 및 신체계측조사

본 연구는 대전에 위치하고 있는 H 대학교 교직원 및 인근 대학구청 직원 중 25~60세의 비흡연 남성과 흡연 남성을 대상으로 실시되었으며, 2003년 4월부터 2003년 7월

까지 8주간에 걸쳐 수행되었다. 조사에 응했던 42명 중 설문조사 결과 보충제를 섭취하는 사람, 질병이 있는 사람과 중도 포기한 사람을 제외한 39명 (흡연자 19명, 비흡연자 20명)을 최종 대상으로 선정하였다. 설문지에 포함된 내용은 나이, 건강상태와 같은 일반사항, 운동습관, 흡연과 알코올 섭취 정도, 비타민 영양제 복용에 관한 것 등이었다. 비흡연자는 현재까지 전혀 흡연 경험이 없는 사람으로 하였으며, 흡연자는 최소 3년 이상 하루에 8개피 이상의 담배를 피워 온 사람을 대상으로 하였다. 운동습관은 규칙적으로 운동을 하고 있는 사람에 한하여 한 번 운동할 때의 운동시간은 얼마나 되는지 조사하여 1일 운동시간으로 환산하였다. 본 연구에서 사용한 음주량 단위는 현재 시판되고 있는 주종의 다양성을 고려하여 통일된 국제단위인 1 drink (100% alcohol 1/2 ounce, 약 14 g)/day를 사용하였으며, 이를 우리나라 술로 환산하면 소주 1컵 (55 cc), 맥주 2홉들이 1병 (350 cc), 막걸리 2홉에 해당되는 양이다. 신체계측 조사로는 신장, 체중, body mass index (BMI), waist hip ratio (WHR), 체지방량을 측정하거나 계산하였다.

## 2. 식이섭취 조사

식이섭취 조사는 녹즙혼합음료 섭취를 시작하기 전과 8주간의 섭취 후에 24시간 회상법을 이용하여 1대 1 면담법으로 실시하였다. 면담은 사전에 훈련받은 영양사에 의해 실시되었으며, 대상자들의 섭취 분량을 회상하는데 도움을 주기 위해 food model 및 사진으로 보는 음식의 눈 대증량을 제시하여 섭취한 모든 음식의 종류와 섭취량이 최대한 정확하게 조사하도록 하였다. 조사 결과는 한국영양학회 부설 영양정보센터에서 제작한 CAN program 2.0 version을 이용하여 1일 영양소 섭취량으로 환산하였다.

대상자의 최근 한 달 동안 flavonoids 섭취량을 알아보기 위해 식품섭취빈도 조사를 수행하였으며, 대상자 39명에게 반정량적 식품섭취빈도 조사지를 분배하여 자가 작성하도록 지도하였다. 대상자의 1일 평균 flavonoids 섭취량은 조사대상자별로 각 식품의 1회 섭취량과 섭취빈도 값을 곱하여 개인의 1일 평균 식품 섭취량을 계산한 다음, 식품별 flavonoids 함량 database를 이용하여 계산하였다. 반정량적 식품섭취빈도 조사지 및 식품의 flavonoids 함량 database는 선행연구<sup>22)</sup>에서 개발된 것을 사용하였다. 녹즙혼합음료 섭취 전과 8주간 섭취 후 두 번에 걸친 채혈 일에 24시간 회상법에 의한 식이섭취조사, 식품섭취빈도 조사 및 신체계측조사가 동일하게 수행되었다.

## 3. 녹즙혼합음료의 분석 및 공급

본 연구에 사용한 녹즙혼합음료는 풀무원 (주)에서 개발하

여 제공한 것으로 음료의 구성은 신선초 (*Angelica keiskei*) 30%, 케일 (*Kale*) 30%, 울금 (*Curcuma long L.*) 23%, 루이보스 (*Asparathus linearis*) 17%였으며 이 원료들을 80°C에서 6시간 가열하여 다린 후에 여과 멸균하여 진공 포장한 것이다. 대상자들에게 총 8주 동안 하루에 2팩 (총 240 mL)의 녹즙혼합음료를 매일 섭취하도록 하였으며, 실험기간 동안 일상적인 식습관이나 생활습관을 유지하도록 지도하였다.

대상자에게 제공된 녹즙혼합음료의 항산화 비타민 함량은 과학기술분석센터에 의뢰하여  $\alpha$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene은 HPLC 방법, vitamin C는 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNP) 방법으로 분석하였다. 녹즙혼합음료의 비타민 C는 0.35 mg/100 mL,  $\alpha$ -tocopherol,  $\gamma$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene은 검출되지 않았다. 또한 식물성 식품 중 차류, 과일, 채소 등에 다량으로 함유되어 다양한 생리적 기능을 나타내는 것으로 알려진 total soluble phenolics 함량을 Randhir 등<sup>23)</sup>의 방법으로 분석한 결과, 녹즙혼합음료에 1.72% 함유된 것으로 나타났다.

## 4. 채혈

혈액 분석을 위하여 녹즙혼합음료 섭취 전과 8주 섭취 후 아침 공복상태에서 2번에 걸쳐서 채혈하였다. 실험 대상자로부터 채혈한 혈액은 10 mL heparinated sterile tube (Vacutainer Becton Dickinson Co.)에 담아 실험실에 가져온 후, 1000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet-rich plasma)를 취한 뒤 다시 3000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 상층의 PDP (platelet-deficient plasma)를 모아 혈장과 혈구를 분리하였다. 적혈구는 iso-osmotic phosphate buffered saline (pH 7.4)을 첨가하여 3000 rpm에서 10분간 원심 분리를 세 번 반복한 뒤 buffer와 1 : 1로 희석하여 erythrocyte suspension으로 만들었다. vitamin C 분석용 혈장을 제외한 혈장과 적혈구는 분석 항목별로 분주한 후 분석 전까지 -80°C 냉동고에 보관하였다.

## 5. 임파구 DNA 손상 측정 (Comet assay)

임파구 DNA 손상정도를 보기 위하여 Comet assay를 수행하였다. 신선한 전혈 70  $\mu$ L를 1 mL의 PBS에 섞은 후 Histopaque 1077을 이용하여 임파구를 분리해 내었다. 임파구 20  $\mu$ L를 취하여 low melting agarose gel (LMA) 과 섞은 후 normal melting agarose (NMA)가 precoating된 fully frosted slide위로 고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장보관 후, gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75  $\mu$ L로 한 겹

더 덮은 후 cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris)에 slide를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지 시켜 DNA의 이중나선 구조를 풀어주었다. 용해가 끝난 slide를 전기영동 탱크에 배열하고 냉장보관 하였던 차가운 전기영동 buffer (300 mM NaOH, 10 mM Na<sub>2</sub>EDTA, pH > 13)를 채워 40분동안 unwinding 시켜 DNA의 알칼리에 취약한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300 ± 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 0.4M Tris 완충용액 (pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 slide를 건조시켰다. 20 μL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 염색하여 cover glass로 덮은 뒤 형광현미경 (Leica, Germany)상에서 관찰하고 CCD 카메라 (Nikon Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 이미지는 comet image analyzing system (kinetic image 4.0, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 및 녹죽에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편의 거리인 tail length (TL), % DNA in tail, 그리고 TL과 % DNA in tail을 곱한 값인 tail moment (TM) 등 3가지 분석 지표로 보았다.<sup>24,25)</sup>

**6. 혈장 항산화 비타민 수준 측정**

대상자들의 혈장 ascorbic acid는 2, 4-dinitrophenylhydrazine method<sup>26)</sup>에 의해 UV/VIS spectrometer로 분석하였다. 혈장을 metaphosphoric acid로 처리하여 단백질을 침전시키고 ascorbic acid를 안정화시켰다. Ascorbic acid는 copper-sulfate로 처리하면 dehydroascorbic acid로 산화된 뒤 diketogluconic acid로 가수분해 된다. 이를 2, 4-dinitrophenylhydrazine으로 처리하면 안정한 적갈색물의 osazone이 형성되는데 이것을 520 nm에서 측정하여 혈장 ascorbic acid의 농도를 분석하였다.

혈장 tocopherols (α-tocopherol, γ-tocopherol) 및 carotenoids는 HPLC 방법으로 측정하였으며, ethanol로 단백질을 제거하고 n-hexane으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase (metanol : dichloromethane = 85 : 15)에 녹인 후, wave length를 달리하여 tocopherols는 295 nm, carotenoids는 450 nm wave length에서 0.8 mL/min의 flow rate로 각각 측정하였다.<sup>27)</sup> Column은 Merck, LiChrospher 100 RP-18 (5 μm), pump는 Shimadzu LC-10AT, detector는 Shimadzu SPD-10A, integrator는 Shimadzu C-R6A Chromatopac을 사용하였으며 mobile phase로는 metanol : dichloromethane = 85 : 15 (v/v)를 사용하였다.

**7. 혈장 TRAP (Total radical-trapping antioxidant potential) 수준 분석**

혈장 중 TRAP은 Rice-Evans와 Miller의 inhibition assay<sup>28)</sup>에 따라 분석하였다. 이 방법은 ABTS [2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazole-6-sulfonyl)], 150 μM와 metmyoglobin (2.5 μM)을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (75 μM)로 활성화시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호 작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 흡광도를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 absorbance의 억제 정도는 sample (0.84 % plasma)에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. 시료를 6분 동안 30℃에서 배양한 후 UV/VIS spectrometer로 740 nm의 파장에서 absorbance를 측정하였다. 혈장의 TRAP 항산화 능력은 Trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, mM)로 표현하였다.

**8. 자료의 처리**

모든 자료는 SPSS-PC+ 통계 package (version 10.0)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 표준편차 (SE)를 구하였고 각 군별로 유의성 검증을 위해서 Student t-test와 paired t-test를 통해 유의성을 검증하였다. 모든 통계적 유의성은 α = 0.05 수준에서 평가하였다.

**결 과**

**1. 조사대상자의 일반 특성**

조사 대상자의 일반 특성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 본 연구 대상자는 모두 남자비흡연자와 흡연자로서 대상자의 나이는 23~60세 범주에 있었으며 평균 나이는 비흡연자는 33.2세, 흡연자는 36.3세이었다. 흡연자의 흡연습관을 살펴보면 흡연력은 15.9 ± 2.3년이고, 이를 하루에 한 갑피우는 것을 기준으로 한 흡연 pack years로 보면 16.2 ± 2.6년이었으며 하루 평균 20.1 ± 1.6개피의 담배를 피우는 것으로 나타났다. 대상자 중 비흡연자는 70%, 흡연자는 95%가 음주를 하고 있었으며, 대상자의 음주량은 비흡연자가 15.2 ± 4.7 drinks/day, 흡연자가 41.3 ± 9.0 drinks/day로써 흡연자의 음주량이 유의적으로 높았다. 대상자들의 운동습관을 시간에 따라 운동시간이 하루 평균 30분 미만인 저운동군과 하루 평균 30분 이상 운동을 하는 적정 운동군으로 나누어 살펴보면, 규칙적으로 운동을 하는 사람이 비흡연군은 55%, 흡연군이 58%로 나타났다. 평균 운동량은

**Table 1.** Anthropometric indices of the subjects

Variables	Nonsmoker (n = 20)	Smoker (n = 19)	Significance
Age (years)	33.2 ± 2.3 <sup>1)</sup>	36.3 ± 2.2	NS <sup>2)</sup>
Range of age (years)	(20 - 60)	(25 - 53)	
Height (cm)	170.6 ± 1.2	171.6 ± 1.3	NS
Weight (kg)	69.8 ± 1.5	70.5 ± 2.0	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.1 ± 0.4	24.1 ± 0.7	NS
WHR	0.84 ± 0.01	0.86 ± 0.01	NS
Body fat (%)	21.0 ± 0.9	20.4 ± 1.1	NS
Smoking habits			
Number of cigarettes smoked/day	-	20.1 ± 1.6	-
Years smoked	-	15.9 ± 2.3	-
Pack-years <sup>3)</sup>	-	16.2 ± 2.6	-
Drinking habits			
Drinker (n (%))	14 (70%)	18 (95%)	* <sup>3)</sup>
No. of Drinking <sup>4)</sup> /day	15.2 ± 4.7	41.3 ± 9.0	*
Exercise habits			
Regular exercisers (n (%))	11 (55%)	11 (58%)	NS
Exercise time, min/day	17.9 ± 2.2	28.8 ± 8.0	NS

1) Values are mean ± SE. 2) Not significant by independent Student t-test between nonsmokers and smokers. 3) \*:  $p < 0.05$  by  $\chi^2$ -test between nonsmokers and smokers. 3) Pack years = (Cigarettes smoked/day × Years smoked)/20. 4) One drinking is a dose of alcoholic beverage that delivers half ounce of pure alcohol (1 drink = 8 - 12 oz of beer or 1 oz of hard liquor)

비흡연군과 흡연군이 각각 17.9 ± 2.2 min/day, 28.8 ± 8.0 min/day로 두 군간에 차이가 없었다. 녹즙혼합음료 섭취 전과 비교하였을 때 8 주간의 녹즙혼합음료 섭취 후 조사 대상자의 체중, BMI, WHR, 체지방 등은 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Table 1).

## 2. 녹즙혼합음료 섭취 전후의 항산화 영양소 섭취량의 비교

본 연구에서는 녹즙혼합음료를 섭취하는 동안 식이 섭취에 변화가 있는지를 알아보기 위해 24시간 회상법으로 대상자들의 영양소 섭취 실태를 조사하였으며 그 중에서 항산화 영양소를 포함한 전체 영양소의 섭취실태를 Table 2에 나타내었다. 녹즙혼합음료 섭취 후에 비흡연자군에서 비타민 B<sub>1</sub>, niacin 및 엽산, 그리고 흡연자군에서 비타민 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> 및 niacin 등 수용성 비타민들의 섭취량이 유의적으로 증가하였다. 그 외 다른 영양소 섭취량, 특히 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E,  $\beta$ -carotene 및 flavonoids 등 항산화 영양소의 섭취량은 섭취 전에 비해 유의적인 변화를 보이지 않았다. 식품이나 항산화 비타민 정제를 공급하는 연구에서 관련 biomarker가 개선을 보일 지라도 보충 전과 후 항산화 영양소 섭취량에 차이가 있다면 결과 설명이 어려운 것을 감안할 때 바람직한 항산화 영양소 섭취를 나타내었다.

**Table 2.** Daily nutrient intakes of the subjects before and after the green vegetable drink supplementation<sup>1)</sup>

Nutrients	Nonsmoker (n = 20)			Smoker (n = 19)		
	0 week	8 weeks	Significance	0 week	8 weeks	Significance
Energy (kcal)	1687 ± 84.1	1794 ± 90.7	NS <sup>2)</sup>	1617 ± 81.3 <sup>NS3)</sup>	1743 ± 74.9	NS
Protein (g)	73.0 ± 4.6	79.9 ± 5.8	NS	77.4 ± 3.6 <sup>NS</sup>	84.8 ± 5.3	NS
Fat (g)	42.9 ± 5.0	52.4 ± 5.4	NS	43.9 ± 3.4 <sup>NS</sup>	52.3 ± 4.1	NS
Carbohydrate (g)	264 ± 12.0	280 ± 13.8	NS	260 ± 13.1 <sup>NS</sup>	251 ± 11.4	NS
Fiber (g)	5.67 ± 0.47	6.72 ± 0.48	NS	5.78 ± 0.86 <sup>NS</sup>	6.54 ± 0.53	NS
Calcium (mg)	521 ± 52	496 ± 50	NS	539 ± 32 <sup>NS</sup>	519 ± 40	NS
Iron (mg)	13.5 ± 0.9	14.2 ± 0.8	NS	14.1 ± 0.7 <sup>NS</sup>	15.1 ± 0.9	NS
Zinc (mg)	7.76 ± 0.48	8.59 ± 0.69	NS	8.13 ± 0.38 <sup>NS</sup>	8.83 ± 0.48	NS
Vitamin A ( $\mu$ g R.E)	691 ± 69 <sup>1)</sup>	666 ± 88	NS	561 ± 101 <sup>NS</sup>	692 ± 72	NS
Vitamin B1 (mg)	0.88 ± 0.08	1.18 ± 0.10	* <sup>4)</sup>	0.82 ± 0.08 <sup>NS</sup>	1.06 ± 0.10	*
Vitamin B2 (mg)	0.86 ± 0.07	0.93 ± 0.09	NS	0.70 ± 0.06 <sup>NS</sup>	0.99 ± 0.07	** <sup>5)</sup>
Vitamin B6 (mg)	1.66 ± 0.13	1.96 ± 0.11	NS	1.50 ± 0.13 <sup>NS</sup>	2.00 ± 0.15	**
Niacin (mg)	12.5 ± 0.9	16.4 ± 1.7	*	11.5 ± 1.1 <sup>NS</sup>	15.9 ± 1.1	**
Folate ( $\mu$ g)	163 ± 13	216 ± 20	*	183 ± 16 <sup>NS</sup>	197 ± 13	NS
Carotene ( $\mu$ g)	2911 ± 413	2859 ± 412	NS	2310 ± 463 <sup>NS</sup>	3228 ± 410	NS
Retinol ( $\mu$ g)	133 ± 14	118 ± 37	NS	109 ± 8 <sup>NS</sup>	106 ± 12	NS
Vitamin E (mg $\alpha$ -TE)	10.1 ± 1.2	13.1 ± 1.6	NS	9.4 ± 1.2 <sup>NS</sup>	12.1 ± 1.9	NS
Vitamin C (mg)	69.0 ± 3.72	89.3 ± 12.2	NS	80.6 ± 24.4 <sup>NS</sup>	66.9 ± 7.22	NS
Flavonoids (mg)	70.9 ± 15.4	71.3 ± 14.2	NS	53.6 ± 6.9 <sup>NS</sup>	49.6 ± 6.1	NS
Cholesterol (mg)	290 ± 22	280 ± 20	NS	235 ± 20 <sup>NS</sup>	268 ± 14	NS

1) All values are Mean ± SE. 2) Not significant at  $\alpha < 0.05$  by paired t-test between 0 week and 8 weeks. 3) Not Significant at  $\alpha < 0.05$  by independent t-test between nonsmokers and smokers at baseline (0 week). 4) \*:  $p < 0.05$ . 5) \*\*:  $p < 0.01$

### 3. 녹즙혼합음료의 DNA 손상 억제 효과

녹즙혼합음료를 보충하기 전 baseline 상태에서 흡연군과 비흡연자군의 DNA 손상정도에 대한 차이를 살펴본 결과, % DNA와 TM (tail moment)으로 본 DNA 손상정도는 차이를 보이지 않았으나, TL (tail length)로 본 DNA 손상도의 경우, 흡연군의 DNA 손상정도가 비흡연군에 비해 유의적으로 높았다 (Fig. 1).

8주 동안의 녹즙혼합음료 섭취 후의 임파구 DNA 손상 정도의 변화를 살펴본 결과, 녹즙혼합음료 섭취 전에 비해 섭취 후 비흡연군과 흡연군의 DNA 손상이 감소된 것으로 나타났다 (Figs. 1~3). 먼저 비흡연군의 TL은 녹즙혼합음료 섭취 전  $63.13 \pm 1.05 \mu\text{m}$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $37.86 \pm 0.83 \mu\text{m}$ 로 41% 감소하였으며, 흡연군의 TL은 녹즙혼합음료 섭취 전  $66.73 \pm 1.24 \mu\text{m}$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $36.51 \pm 1.13 \mu\text{m}$ 로 45% 감소하였다. 비흡연군의 TM은 녹즙혼합음료 섭취 전  $14.55 \pm 0.61$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $6.61 \pm 0.25$ 로 55% 감소하였으며, 흡연군의 TM은 녹즙혼합음료 섭취 전  $15.36 \pm 0.45$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $6.65 \pm 0.38$ 로 57% 감소하였다. 비흡연군의 % DNA in tail은 녹즙혼합음료 섭취 전  $19.7 \pm 0.41\%$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $16.6 \pm 0.37\%$ 로 16% 감소하였고, 흡연군의 % DNA in tail은 녹즙혼합음료 섭취 전  $20.6 \pm 0.31\%$ 에서 녹즙혼합음료 섭취 후  $17.1 \pm 0.50\%$ 로 17% 감소하였다. 따라서 흡연자에게 뿐만 아니라 비흡연자에게도 녹즙혼합음료를 섭취시키는 것이 comet assay로 본 DNA 손상을 16~57% 정도 억제시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

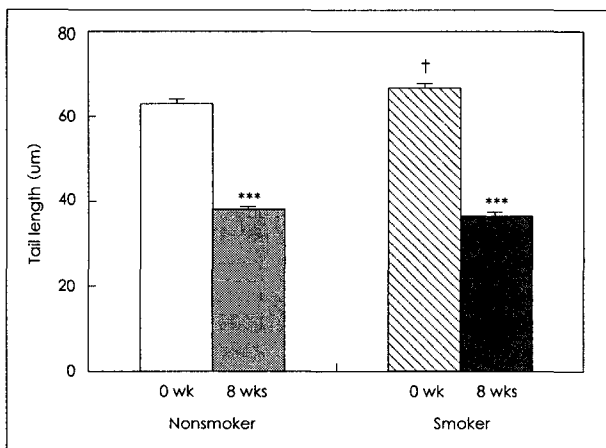


Fig. 1. Changes of tail length of the subjects by green vegetable drink supplementation. \*\*\*: Significantly different after the 8 weeks supplementation within groups,  $p < 0.001$  by paired t-test. †: Significantly different at baseline (0 week) between nonsmokers and smokers,  $p < 0.05$  by t-test.

### 4. 녹즙혼합음료 섭취 후 항산화 비타민 영양상태 및 총항산화능 (TRAP) 수준의 변화

본 연구에서는 비흡연군을 대조군으로 하여 흡연자들에게 녹즙혼합음료를 복용시킨 후 항산화 영양상태 변화를 살펴 보았다. 녹즙혼합음료 섭취 전 흡연군의 혈장 항산화 비타민 농도는 비흡연군과 차이가 없었다 (Table 3). 또 8주 동안의 녹즙혼합음료 섭취 전과 후의 혈장 항산화 비타민 수준도 비흡연군과 흡연군 모두 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 녹즙혼합음료 섭취 전 후로 비교하였을 때 비흡연군과 흡연군의 TRAP (total radical-trapping antioxidant potential)으로 본 총항산화능 수준도 차이가 없었다.

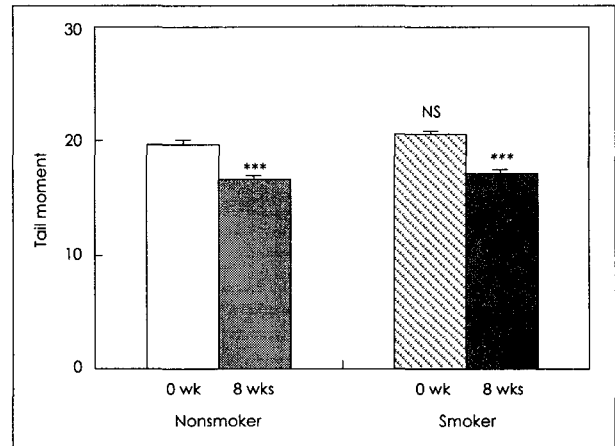


Fig. 2. Changes of tail moment of the subjects by green vegetable drink supplementation. \*\*\*: Significantly different after the 8 weeks supplementation within groups,  $p < 0.001$  by paired t-test. NS: Not Significant at baseline (0 week) between nonsmoker and smoker groups,  $p < 0.05$  by independent t-test.

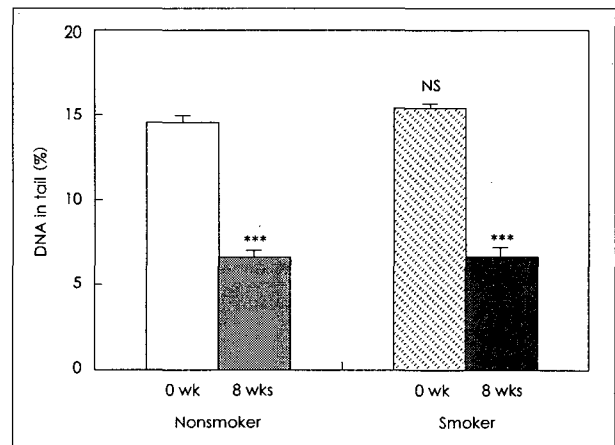


Fig. 3. Changes of % DNA in tail of the subjects by green vegetable drink supplementation. \*\*\*: Significantly different after the 8 weeks supplementation within groups,  $p < 0.001$  by paired t-test. NS: Not Significant at baseline (0 week) between nonsmoker and smoker groups,  $p < 0.05$  by independent t-test.

**Table 3.** Changes of plasma antioxidant vitamin levels of the subjects by green vegetable drink supplementation<sup>1)</sup>

Nutrients	Nonsmoker (n = 20)			Smoker (n = 19)		
	0 week	8 weeks	Significance	0 week	8 weeks	Significance
Vitamin C (mg/dL)	1.19 ± 0.1	1.13 ± 0.1	NS <sup>2)</sup>	1.13 ± 0.1 <sup>NS3)</sup>	1.21 ± 0.1	NS
Tocopherols (μg/dL)						
α-tocopherol	2006 ± 136	2071 ± 107	NS	2294 ± 231 <sup>NS</sup>	2374 ± 342	NS
γ-tocopherol	148 ± 15.7	167 ± 15.2	NS	138 ± 13.9 <sup>NS</sup>	120 ± 15.8	NS
Carotenoids (μg/dL)						
α-Carotene	6.8 ± 0.89	6.6 ± 0.78	NS	4.7 ± 0.87 <sup>NS</sup>	4.7 ± 0.81	NS
β-carotene	45.5 ± 6.47	45.1 ± 6.40	NS	32.2 ± 6.52 <sup>NS</sup>	32.1 ± 6.51	NS
Cryptoxanthin	55.2 ± 5.61	54.8 ± 5.68	NS	44.1 ± 5.18 <sup>NS</sup>	44.3 ± 4.92	NS
TRAP (mmol/L)	1.39 ± 0.01	1.39 ± 0.01	NS	1.37 ± 0.01 <sup>NS</sup>	1.37 ± 0.01	NS

1) Mean ± SE. 2) Not Significant at  $\alpha < 0.05$  by paired t-test between 0 week and 8 weeks.

3) Not Significant at  $\alpha < 0.05$  by independent t-test between nonsmokers and smokers at baseline (0 week).

## 고 찰

체내에서 자유유리기 (free radical)와 항산화 물질 (antioxidant) 간의 적절한 균형이 깨져 free radical이 antioxidant 수준보다 초과되면 신체는 산화 stress를 받게 되고, 그 결과 DNA와 같은 민감한 biomolecule이 손상되어 결국은 퇴행성 만성질환으로 발전될 가능성이 높아진다. Oxygen radical에 의한 임파구 DNA 손상은 comet assay를 이용하여 관찰할 수 있으며, 각종 유해물질을 포함한 담배로 인해 산화 스트레스에 노출되기 쉬운 흡연자의 DNA 손상정도가 비흡연자에 비해 유의하게 증가되어 있음이 보고되었다.<sup>29)</sup> 본 연구결과, 녹즙혼합음료를 보충하기 전 baseline 상태에서 흡연자와 비흡연자의 % DNA와 TM으로 본 DNA 손상정도는 차이를 보이지 않았으나, TL로 본 DNA 손상도의 경우, 흡연자의 DNA 손상정도가 비흡연자에 비해 유의적으로 높았다. 이와 같은 결과는 Mohankumar 등<sup>30)</sup>이 산화 스트레스에 노출되기 쉬운 흡연자의 TL로 본 DNA가 비흡연자보다 더 손상되어 있다고 보고된 것과 일치한다. 대부분의 연구에서는 흡연자의 DNA 손상정도가 비흡연자보다 더 크다고 보고되었지만, Sardas 등<sup>31)</sup>의 연구에서는 흡연자와 비흡연자 간에 TL로 본 DNA 손상에 차이가 나타나지 않았다.

8주 동안의 녹즙혼합음료 섭취 후의 임파구 DNA 손상정도는 섭취 전에 비해 비흡연군과 흡연군에게서 모두 TL, TM 및 % DNA in tail로 본 임파구 DNA 손상이 현저히 감소된 것으로 나타났다. Pool-Zobel<sup>12)</sup>은 흡연자에게 토마토 주스, 당근주스, 시금치 파우더를 8주간 공급하였을 때 8-OHdG로 본 DNA 손상이 25~45% 감소되었다고 보고하였고, Park 등<sup>32)</sup>의 연구에서는 흡연자에게 포도주스를

8주간 투여한 결과 comet assay로 본 DNA 손상이 유의하게 감소하였으며, 신선초 생녹즙을 흡연자에게 6주간 보충시켰을 때에도 comet assay로 본 DNA 손상이 15~30% 감소되었다고 보고하였다.<sup>15)</sup> 그 외 항산화 식품을 사용하여 인체를 대상으로 intervention 연구를 한 것으로는 정상인이나 환자에게 시금치,<sup>33)</sup> 토마토,<sup>33)</sup> 당근,<sup>12)</sup> 키위주스,<sup>34)</sup> 과일 혼합주스,<sup>35)</sup> 녹차 등<sup>36)</sup>을 섭취시킬 경우, 이들이 함유한 항산화 물질들로 인해 DNA 손상이 감소되고 자유유리기가 소거되는 등의 생리적 기능이 나타난다는 보고들이 있다.

흡연집단은 비흡연집단에 비하여 혈장 내 비타민 C 등 항산화 비타민의 농도가 낮고, 비흡연군에 상응하는 농도에 이르기 위하여 비흡연군보다 더 많은 섭취량이 요구된다. 즉 흡연으로 인해 니코틴이나 일산화탄소 같은 tobacco alkaloids의 체내 유입이 증가하면 혈액으로부터 제거된 후 호흡이나 소변으로 배설되는데, 이 때 항산화 비타민의 요구량의 증가와 그 대사속도 증가로 혈장 항산화 비타민의 수준이 저하되고, 담배연기로 인한 강한 산화적 스트레스로 인해 다양한 질병에 노출되기 쉬우며, 흡연자들의 혈장 항산화 비타민 농도는 비흡연자 보다 낮고 식이로부터의 비타민 섭취 또한 낮음을 보인다.<sup>37)</sup> 본 연구에서는 흡연군의 항산화 비타민 농도는 비흡연군에 비해 큰 차이를 보이지 않았으며 이는 흡연군과 비흡연군의 항산화 비타민의 섭취량도 차이를 보이지 않았던 것과 관련이 있는 것으로 보인다.

본 연구에서 8주 간의 녹즙혼합음료 섭취 후의 혈장 vitamin C 농도는 두 군에서 모두 섭취 전에 비해 유의적인 변화를 보이지 않았다. 흡연과 항산화 영양 상태와의 관계에 대한 선행연구로는 흡연이 혈장 vitamin C 농도에 영향을 주지 않는다는 연구<sup>38)</sup>가 있는 반면, 흡연군의 vitamin C 농도가 비흡연군보다 낮음도 보고되었다.<sup>39)</sup> 많은 연구에서 흡연과 혈장 항산화 영양소와의 관계가 조사되어 왔으나 연구

결과가 항상 일치하지는 않았으며, 이와 같은 차이는 분석 방법상의 차이나 계절에 따른 vitamin C 급원의 한계에서 유발될 수도 있다고 생각된다. 본 연구결과, 혈장 vitamin C 농도는 비흡연군과 흡연군 모두 녹즙혼합음료 섭취 전에 비해 녹즙혼합음료 섭취 후 유의적인 변화를 보이지 않았으며, 본 연구 대상자들의 혈장 vitamin C 농도는 모두 정상 범위 (23  $\mu\text{mol/L}$ ) 내에 속하였다. 본 연구에서 사용한 녹즙혼합음료에는 비타민 C 함유량이 0.35 mg/100 mL 정도 함유되어 있으므로 하루에 240 mL를 섭취하였을 경우 비타민 C를 0.84 mg 섭취하는 것이 되는데, 이는 대상자의 하루 비타민 C 섭취량의 1.1% 정도밖에 되지 않는 양이므로 음료에 있는 비타민 C에 의해 혈장수준에 변화를 보일 가능성은 거의 없을 것이다. 또한 녹즙혼합음료는 가공과정을 거친 것이므로 가열로 인해 식품 내의 vitamin C가 파괴된 것도 하나의 원인이 될 수 있을 것으로 생각해 볼 수 있으나 가열과정을 거치지 않은 신선초 생녹즙을 흡연자에게 보충한 연구<sup>15)</sup>에서도 혈장 vitamin C 농도 변화가 없었던 것으로 보아 본 실험에서 사용한 녹즙이나 녹즙혼합음료는 혈장 비타민 C 수준에 영향을 주지 않는 것으로 보인다.

8주 동안의 녹즙혼합음료 섭취 후에 흡연여부에 관계없이 혈장  $\alpha$ -tocopherol 수준도 변화를 보이지 않았는데, 이는 항산화 식품을 섭취시킨 후에 혈장  $\alpha$ -tocopherol 수준에 변화가 나타나지 않았다는 보고<sup>21)</sup>와 일치한다. 그러나 건강한 성인 남자에게  $\alpha$ -tocopherol과 포도주스를 섭취시켰을 때 포도주스를 섭취시킨 집단에서 혈장  $\alpha$ -tocopherol 수준이 증가하였다는 결과도 보고되고 있다.<sup>40)</sup> 산화적 손상의 영향을 받기 쉬운 심근경색과 당뇨 환자, 흡연자, 심혈관계 질환자의 혈청  $\beta$ -carotene 농도가 낮게 나타나며,<sup>41)</sup> 혈장 carotenoids 수준은 섭취한 식품에 함유되어 있는 carotenoids 함량을 반영한다.<sup>42)</sup> 본 연구에서 녹즙혼합음료 섭취 후의 흡연군과 비흡연군의 혈장  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, cryptoxanthin 농도는 섭취 전에 비해 유의적인 변화를 보이지 않았다. 녹즙혼합음료의 성분 분석에서 이미 carotenoids가 검출되지 않았고 식이 섭취량에서도 녹즙혼합음료 섭취 전후로 유의적인 변화가 없었으므로 혈장 농도의 변화가 없는 것은 당연할 것이다. 이에 비해  $\alpha$ ,  $\beta$ -carotene이 풍부한 당근과  $\beta$ -carotene이 풍부한 시금치를 섭취한 대상자들의 혈장 carotenoids는 두드러진 증가를 보였다.<sup>42)</sup>

혈장 총 유리기포집 항산화능 (Total Radical-trapping Antioxidant Potential, TRAP)은 수용성 azo화합물 ABTS [2, 2'-aznabis (3-ethyl-benzothiazoline 6-sulfonate)] radical이 열에 의해 분해되면 일정한 비율로 peroxy radical을 생성한다는 이점을 이용한 방법이다.<sup>21)</sup> 녹즙혼합음

료 섭취 후에 두 군에서 모두 혈장 TRAP 수준은 변화를 보이지 않았는데 이는 혈장 항산화 비타민의 증가가 나타나지 않았던 것과 관련이 있을 것이다. 총 항산화 능력을 보는 방법은 다양하지만 지금까지 이용하고 있는 거의 모든 방법이 수용성 분획만 나타낸다고 알려져 있으며 최근 혈장 내 지용성 항산화능을 측정하려는 시도가 활발히 연구되고 있다.<sup>43)</sup>

인체를 대상으로 항산화 식품이나 영양소를 섭취시키는 intervention 연구 후에 대상자의 항산화 영양 상태를 나타내는 생체지표 (biomarker)로는 여러 가지가 제시되고 있으나, 최근 박 등<sup>44)</sup>은 국내외의 문헌조사 및 전문가 의견조사를 통하여 항산화 생리활성을 평가하기 위한 biomarker 중에서 DNA 손상정도가 가장 민감한 지표인 것을 제시하였다. 본 연구결과, 녹즙혼합음료 섭취 후에 항산화 비타민 영양상태 개선 효과는 보이지 않았으나 흡연자 및 비흡연자의 임파구 DNA 손상의 감소가 유의적으로 나타난 것으로 보아 항산화 생리활성을 나타내는 biomarker로는 항산화 비타민 영양상태보다는 임파구 DNA 손상정도를 보는 것이 보다 더 민감한 biomarker인 것으로 보인다.

## 요약 및 결론

흡연자 19명과 그 대조군으로 비흡연자 20명을 대상으로 녹즙혼합 음료를 8주간 매일 240 mL씩 보충 섭취시킨 후 DNA 손상과 항산화 영양상태 개선효과를 본 결과, 항산화 비타민 영양상태, 즉 혈장 비타민 C, E,  $\beta$ -carotene 수준은 녹즙혼합음료 섭취 전후에 두 군 모두 차이가 없었으며 신체 내 총 항산화 영양 상태를 나타내주는 TRAP 수준도 녹즙음료 섭취 후에 변화를 보이지 않았다. 그러나 인체 내 항산화 생리활성을 평가하기 위해 민감한 biomarker로 사용되는 DNA 손상은 두 군 모두 녹즙혼합음료 섭취 후에 현저하게 감소하였다. 이로써 8주 동안의 녹즙혼합음료 섭취는 흡연자 뿐만 아니라 비흡연자의 산화적 손상과 관련된 질병을 예방하기 위한 좋은 방법 중 하나로 제시될 수 있을 것으로 사료된다. 앞으로 본 연구에서 측정하지 않은 다른 항산화 생체지표들을 다양하게 측정하여 DNA 손상 정도와의 상관성을 보는 연구도 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## Literature cited

- 1) Ministry of Health and Welfare. Report on 2001 National Health and Nutrition Survey, 2002
- 2) Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxyhydrate, and peroxyhydrate. *Ann NY Acad*



- Sci* 686: 12-18, 1993
- 3) Diplock AT. Antioxidants and disease prevention. *Mol Aspects Med* 15 (4): 293-376, 1994
  - 4) Gey KF, Brubacher GB, Stahelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 45: 1368-1377, 1987
  - 5) Loft S, Poulsen HE. Cancer risk and oxidative DNA damage in men. *J Mol Med* 74: 297-312, 1996
  - 6) Brown KM, Morrice PC, Duthie GG. Vitamin E supplementation suppresses indexes of lipid peroxidation concentration remain unchanged. *Am J Clin Nutr* 60(3): 383-387, 1994
  - 7) Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins AR. Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res* 56(6): 1291-1295, 1996
  - 8) Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng). *Cancer Lett* 132(1-2): 219-227, 1998
  - 9) Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL Jr., Valanis B, Williams JH Jr., Barnhart S, Cherniack MG, Brodtkin CA, Hammar S. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst* 88: 1550-1559, 1996
  - 10) The  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -Carotene Cancer Prevention Study Group: The effect of vitamin E and  $\beta$ -carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Eng J Med* 330: 1029-1035, 1994
  - 11) Hertog MG, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Janssen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekkarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch Intern Med* 155: 381-386, 1995
  - 12) Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: First results of a human intervention trial with carotenoid-rich Foods. *Carcinogenesis* 18(9): 1847-1850, 1997
  - 13) Collins BH, Horska A, Hotten PM, Riddoch C, Collins AR. Kiwifruit protects against oxidative DNA damage in human cells and *in vitro*. *Nutr Cancer* 39(1): 148-153, 2001
  - 14) Riso P, Pinder A, Santangelo A, Porrini M. Does tomato consumption effectively increase the resistance of lymphocyte DNA to oxidative damage? *Am J Clin Nutr* 69: 712-712, 1999
  - 15) Myung-Hee Kang, Jung-Shin Kim, Yoo Kyoung Park, Tae Seok Kim. The effect of green Juice supplementation on antioxidant defense system and lymphocytes DNA damage in middle-aged Korean smokers. *Genetics and Molecular Biology, Supplement (4th ICEMHP, Brazil)* 26(2): 71, 2003
  - 16) Park JC, Cho YS, Park SK, Park JR, Jeon SS, Ok KD, Choi JW. Isolation of flavone-7-O-glycosides from the aerial parts of *Angelica Keiskei* and anti-hyperlipidemic effect. *Korean J Pharmacogn* 26(4): 337-373, 1995
  - 17) Jeon SS, Park JC, Kim SH, Lee DY, Choi HM, Hwang EY. Changes in biologically active component of *Angelica keiskei* by cooking methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(1): 121-125, 1998
  - 18) Lee SM, Park KY, Lee SH. Antimutagenic effect and active compound analysis of kale juice in salmonella assay system. *Korean J Food Sci Technol* 26(5): 965-971, 1997
  - 19) Jeon EJ, Kim JS, Park YK, Kim TS, Kang M-H. Protective effect of yellow-green vegetables juices on DNA damage in chinese hamster lung cell using comet assay. *Korean J Nutr* 36(1): 24-31, 2003
  - 20) Okuyama T, Takata M, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishino H, Iwashima A. Anti-tumor-promotion by principles obtained from *Angelica keiskei*. *Planta Med* 57(3): 242-246, 1991
  - 21) Kim JS, Kim HY, Park YK, Kim TS, Kang MH. The effects of green vegetable juice (*Angelica Keiskei*) supplementation on plasma lipids and antioxidant status in smokers. *Korean J Nutr* 36(9): 933-941, 2003
  - 22) Park YK, Kim YA, Park EJ, Kim JS, Kang MH. Estimated flavonoids intake in Korean adults using semiquantitative food-frequency questionnaire. *Korean J Nutr* 35(10): 1081-1088, 2002
  - 23) Randhir, Shetty P, Sheety K, L-DOPA and total phenolic stimulation of dark germinated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochemistry* 37: 1247-1256, 2002
  - 24) Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. Single cell gel Comet assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 35: 206-221, 2000
  - 25) Rojas E, Lopez MC, Valverde M. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal of Chromatography* 722: 225-254, 1999
  - 26) Pesce AJ, Kaplan LA. *Methods in clinical chemistry*. The C.V. Mosby Company, 1987
  - 27) Genser D, Kang M-H, Vogelsang H, Elmadfa I. Status of lipid-soluble antioxidants and TRAP in patients with crohn's disease and healthy controls. *Eur J Clin Nutr* 53: 675-679, 1999
  - 28) Rice-Evans C, Miller N. Antioxidant status in plasma and body fluids. *Meth Enzymol* 234: 279-293, 1994
  - 29) Park EJ, Kang MH. Application of the alkaline comet assay for detecting oxidative DNA damage in human biomonitoring. *Korean J Nutrition* 35(2): 213-222, 2002
  - 30) Mary N, Mohankumar S, Janani B, Karthikeya Prabhu PR, Vivek Kumar RK, Jeevanram. DNA damage and integrity of UV-induced DNA repair in lymphocytes of smokers analysed by the comet assay. *Mutat Res* 520: 179-187, 2002
  - 31) Sardas S, Karabiyik L, Aygun N, Karakaya AE. DNA damage evaluated by the alkaline comet assay in lymphocytes of humans anaesthetized with isoflurane. *Mutat Res* 418: 1-6, 1998
  - 32) Park YK, Park E, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damages and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutation Research* 529(1-2): 77-86, 2003
  - 33) Porrini M, Riso P, Oriani G. Spinach and tomato consumption increases lymphocyte DNA resistance to oxidative stress but this is not related to cell carotenoid concentrations. *Eur J Nutr* 41: 95-100, 2002
  - 34) Collins AR, Harrington V, Drew J, Melvin R. Nutritional modu-

- lation of DNA repair in a human intervention study. *Carcinogenesis* 24 (3) : 511-515, 2003
- 35) Bub A, Watzl B, Blockhaus M, Briviba K, Liegibel U, Muller H, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J Nutr Biochem* 14: 90-98, 2003
- 36) Hakim IA, Harris RB, Brown S, Sherry Chow H-H, Wiseman S, Agarwal S, Talbot W. Effect of increased tea consumption on oxidative DNA damage among smokers: A randomized controlled study. *J Nutr* 133: 3303S-3309S, 2003
- 37) Dietrich M, Block G, Norkus EP, Hudes M, Traber MG, Cross CE, Packer L. Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol *in vivo* after adjustment for dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* 77 (1) : 160-166, 2003
- 38) Pamuk ER, Byer T, Coates RJ, Vann JW, Sowell AL, Gunter EW, Glass D. Effect of smoking on serum nutrient concentrations in African-American women. *Am J Clin Nutr* 59: 891-895, 1994
- 39) Park JA, Kang MH. Vitamin C intakes and serum levels in smoking college students. *Korean J Nutr* 29(1) : 122-133, 1996
- 40) O'Byrne DJ, Deraraj S, Grundy SM, Ialal I. Comparison of the antioxidant effect of concord grape juice flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 76: 1367-1374, 2002
- 41) Singh RB, Niaz MA, Bishnoi I, Sharma JP, Gupta S, Rastogi SS, Singh R, Begum R, Chibo H, Shoumin Z. Diet, antioxidant vitamins, oxidative stress and risk of coronary artery disease: The peerzada prospective study. *Acta Cardiologica XLIX*: 441-452, 1994
- 42) Muller H, Bub A, Watzl B, Rechkemmer G. Plasma concentrations of carotenoids in healthy volunteers after intervention with carotenoid-rich food. *Eur J Nutr* 38(1) : 35-44, 1999
- 43) Aldini G, Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI. A method to measure the oxidizability of both aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med* 31: 143-1050, 2001
- 44) Kang MH, Park YK. Selection of antioxidative biomarkers in human intervention trials through literature review and the expert survey. *Proceedings of 2005 The Korean Nutrition Society Annual Meeting & International Symposium*, P2-38: 232, Gyeongju, Korea, Nov. 3-5th, 2005