Korean J. Food & Nutr. Vol. 24. No. 4, 713～719 (2011)

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

우엉 에탄올 추출물의 항산화활성과 항돌연변이 효과

†이 미 숙
한남대학교 식품영양학과

Antioxidative and Antimutagenic Effects of *Arctium lappa* Ethanol Extract

†Mee Sook Lee
Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

Abstract

The antioxidant activities of the ethanol extract of Arctium lappa were assessed by measuring the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) radical scavenging effect, inhibition of Fe^{2+}-induced lipid peroxidation, inhibition of malondialdehyde(MDA)-bovine serum albumin(BSA) conjugation reaction and antimutagenic capacities using the Ames test. The DPPH radical scavenging activity and inhibition of Fe^{2+}-induced lipid peroxidation of the *Arctium lappa* ethanol extract significantly increased in a dose-dependent manner. In the radical scavenging assay using DPPH, the IC_{50} of the *Arctium lappa* extract was 296 ㎍/assay(1.29 ㎎ of dry sample). In addition, the IC_{50} in the inhibition of Fe^{2+}-induced lipid peroxidation was 1,759 ㎍/assay(7.65 ㎎ of dry sample). This extract also significantly inhibited the MDA-BSA conjugation reaction with an IC_{50} of 57.58 ㎎/assay(250 ㎎ of dry sample). However, no inhibitory effects against the direct and indirect mutagenicities in *Salmonella* Typhimurium TA98 and TA100 were observed. Based on these results, the ethanol extract of *Arctium lappa* was shown to display considerable antioxidative activities.

Key words: *Arctium lappa* L., DPPH radical scavenging effect, lipid peroxidation, MDA-BSA conjugation reaction

서 론

국화과에 속하는 우엉(*Arctium lappa* L.)은 우리나라뿐만 아니라 일본과 중국 등 동북아시아에서 식용 및 약용으로 널리 사용되고 있는 식물이다. 오래 전부터 한방에서 우엉의 잎, 종자, 뿌리를 약재로 사용하였고, 식용으로는 특히 뿌리를 널리 사용하였다. 우엉의 뿌리는 당질과 섬유소가 풍부하고, 당질의 대부분이 이눌린의 형태이기 때문에 예로부터 당뇨병이나 신장병 환자에게 도움이 되는 식품으로 알려져 있다. 이 외에도 우엉은 고혈압, 통풍, 동맥경화증뿐만 아니라 간염 등 염증성 질환에도 유익한 식품이라고 한다(Ferracane 등 2010). 이는 우엉에 항돌연변이능(Park 등 1992; Ohara & Matsuhisa 2002), 항염증능(Lin 등 2002), 항균능(Chow 등 1997), 항산화능(Duh PD 1998), 간 보호능(Lin 등 1996) 등의 효능을 가진 물질들이 존재하고 있으며, 이러한 효능은 우엉 성분의 free radical scavenging activity와 관계가 있다고 한다(Chen 등 2004).

우엉의 radical scavenging activity는 Yamaguchi 등(2001)이 DPPH-HPLC법으로 실험한 18가지 채소 중에서 가장 높았고, 가열에 의해서 그 활성이 더욱 증가하였다. 우엉의 이러한 활성은 LC/MS/MS로 분석해 보았을 때, caffeic acid 유도체(caffeic acid, chlorogenic acid, cynarin)와 quercetin 등 phenolic compounds에 의한다고 한다(Chen 등 2004; Ferracane 등 2010). 또한 우엉의 메탄올 추출물, chlorogenic acid와 caffeic acid는 liposome, deoxyribose, protein에 대한 산화적 손상을 억제하며, 우엉의 메탄올 추출물은 LDL의 산화억제뿐만 아니라 항산화 효소들의 활성 증가와 NO 생성의 저하효과를 통해 항염증 효과와 심혈관질환 예방효과를 나타낼 수 있을 것이라고

† Corresponding author: Mee Sook Lee, Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea. Tel: +82-42-629-8794, Fax: +82-42-629-8789, E-mail: meesook@hnu.kr

한다(Wang 등 2006).

이와 같이 우엉은 오래 전부터 중국, 대만, 일본 등에서 약재, 식품 및 건강음료 등으로 사용되어 왔고, 이들의 효능에 대한 연구도 꾸준히 진행되고 있다. 그러나 우리나라에서는 우엉에 대한 연구보고가 매우 적어 재래종 우엉의 생리특성(Lee 등 2003)에 관한 연구도 최근에야 이루어지고 있는 실정이다. 우엉의 기능성 연구는 Ryu 등(1986)의 돌연변이원성 억제효과와 Park 등(1992)이 돌연변이 유발 억제 및 위암세포의 성장 저해효과를 발표한 이후 거의 보고되지 않았고, 우엉 새싹채소의 기능성(Lee 등 2009) 등이 최근 발표되고 있다. 따라서 본 연구에서는 한국에서 재배된 우엉(뿌리)의 항산화활성을 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) 라디칼 소거효과, 지질과산화 억제효과 및 malondialdehyde(MDA)-bovine serum albumin(BSA) conjugation 억제효과를 통해 살펴보고, Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제효과를 검토하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시료제조

우엉뿌리는 대전시 중앙시장에서 구입하여 수세하고 동결건조한 후, 분쇄하여 냉동보관(−20℃)하였다. 실험에 사용한 시료는 건조 시료(5 g)에 20배의 에탄올(100 ㎖)을 가하여 24시간 동안 실온에서 추출한 후 여과하는 과정을 2회 실시하였다. 여과액은 회전식 진공농축기(EYELA, rotary vacuum evaporator N-N series, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축시킨 후, dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 지질과산화 억제활성, DPPH 라디칼 소거활성, Ames test를 위한 시료로 사용하였고, 0.1 M sodium phosphate buffer(PBS, pH 7.4)에 녹여 MDA-BSA conjugation 억제효과를 측정하는 시료로 사용하였다.

2. 시약

시료의 용매로 사용한 DMSO, 항산화활성 실험에 사용한 DPPH, linoleic acid, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, thiobarbituric acid(TBA) 및 BSA, 항돌연변이능 실험에 사용한 anthramine(2-AA), sodium azide phosphate, histidine 및 biotin은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. MDA 제조에 사용한 Dowex 50WX8-200 resin은 Supelco(USA)에서, 항돌연변이능 실험에 사용한 2-nitrofluorene(2-NF)은 Aldrich Co.(Milwaukee, WI, USA), nutrient broth와 agar는 Difco Co.(Detroit, MI, USA)에서, S9 mix.는 Moltox(11-01L Rat Liver LS-9, Japan)에서 구입하였다. 그 외에 본 실험에서 사용한 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

3. DPPH 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거능은 Chen 등(1998)의 방법에 따라 측정하였다. DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 ㎕에 200 ㎛M DPPH/ethanol 190 ㎕를 가한 후, 37℃에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc). 대조구(DMSO 10 ㎕)의 흡광도에 대해 시료를 넣었을 때의 흡광도의 감소 정도를 측정하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도(IC_{50})를 구하고, 저해율(inhibition rate, %)을 계산하였다.

4. 지질과산화 억제효과 측정

Fe^{2+}에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성은 Saija 등(1995)과 Haase & Dunkley(1969)의 방법에 따라 측정하였다. 10 ㎖의 10 mM linoleic acid 용액에 시료 20 ㎕를 가하고 37℃ shaking incubator에서 1시간 동안 반응시킨 후, 0.05 M iron sulfate($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 20 ㎕를 첨가한 다음 다시 37℃에서 2시간 동안 반응시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleic acid 용액 800 ㎕를 4℃에서 10분 동안 tempering시키고, 400 ㎕의 TBA를 첨가하여 잘 혼합한 후 boiling water bath에서 15분 동안 처리한 후 흐르는 물에 냉각시켰다. 냉각된 용액에 n-butanol 1,120 ㎕를 가하고 잘 섞은 다음 250×g로 20분 동안 원심분리하여(Hanil, Union 5KR) butanol 층을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc)하였다. Fe^{2+}에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화물을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 우엉 에탄올 추출물을 첨가하여 과산화물을 50%로 감소시킬 수 있는 농도(IC_{50})를 구하고, 저해율(%)을 산출하였다.

5. MDA-BSA Conjugation 반응 억제효과 측정

MDA에 대한 단백질 보호효과는 Park YH(2000)의 방법에 따라 BSA(2 ㎎/ ㎖), MDA(20 mM), 우엉 추출물, 0.1 M PBS를 혼합하여 37℃에서 24시간 반응시켰다. 반응이 끝난 시료 500 ㎕를 centricon(Amicon, Centricon YM-10)에 넣고 1,400×g에서 2시간 동안 원심분리하여(Beckman, Model J2-21 centrifuge) MDA와 BSA의 결합물을 분리한 후, 여분의 염 등을 세척하기 위하여 증류수 700 ㎕를 넣고 다시 1,400×g에서 2시간 동안 원심분리하였다. 세척은 3회 실시하였다. 세척한 시료는 12% polyacryl-amide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 120V에서 3시간 동안 실시한 후 발색시켜 densitometer(Vilber Lourmat, BIO-1D Image Analysis)로 정량한 다음, 저해율(%)을 산출하였다.

BSA 단백질 정량은 Bradford법(Bradford M 1970)을 사용하였고, MDA는 Gomez-Sanchez 등(1990)의 방법에 따라 제조하였다.

6. 항돌연변이능 측정

항돌연변이능은 *Salmonella* Typhimurium TA98와 TA100 균주를 이용하여 측정하였다. 정기적으로 이들 균주의 histidine 요구성, deep rough(*rfa*)돌연변이, *uvrB* 돌연변이와 R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 이들 균주는 nutrient broth에 접종, 배양한 후, 현탁액 1 ㎖당 DMSO 90 ㎕를 가하여 액체질소 탱크(Thermolyne, Bio Cane™ 20)에 보관하면서 사용하였다. Master plate에 배양한 균주를 nutrient broth에 접종하여 37℃에서 14~16시간 동안 진탕배양(Vison Scientific CO., KMC-8480S)한 후 1~2×10^9 cells/㎖의 밀도가 되도록 하여 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발물질 중 간접돌연변이 물질로는 2-AA를 사용하였고, 직접돌연변이 물질로는 2-NF와 sodium azide phosphate를 사용하였다. 2-AA와 2-NF는 DMSO에 녹여 사용하였고, sodium azide phosphate는 증류수에 녹여 사용하였다. 각 돌연변이 유발물질은 2-AA의 경우 TA98과 TA100에서 2.5 ㎍/plate, 2-NF는 TA98에서 4 ㎍/plate, sodium azide phosphate는 TA100에서 2 ㎍/plate의 농도로 사용하였다.

Ames의 방법에 의한 항돌연변이 유발실험을 위한 배지 및 시약의 조제는 Maron & Ames(1983)의 방법에 따라 행하였으며 Matsushima 등의 방법(Norphth & Garner 1980)에 따라 실험을 행하였다. 모든 실험은 ice bath상에서 행하였고 중복 실험하였다. 대사활성 물질이 필요한 간접돌연변이 물질을 사용할 때는 S9 mix.를 첨가하였다. DMSO에 녹인 시료 90 ㎕와 배양한 실험균주 0.1 ㎖, 돌연변이 유발물질 10 ㎕, 직접돌연변이원에는 0.5 ㎖의 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)를, 간접돌연변이원에는 0.5 ㎖의 S9 mix를 멸균된 시험관에 첨가한 후 가볍게 vortex하여 37℃ shaking water bath(Vision scientific CO., KMC-1205SW1)에서 30분 동안 예비 배양하였다. 0.5 mM histidine/biotin 용액을 100 ㎖당 10 ㎖ 첨가한 45℃ 정도의 top agar를 2 ㎖씩 각 시험관에 붓고 3초간 vortex한 후 minimal glucose agar plate에 부어 고루 퍼지게 한 후 굳게 하였다. 그 다음 37℃ incubator(Vision scientific CO., VS-1203P3)에서 48시간 배양한 후 각각의 복귀돌연변이 균총(revertant colonies)을 계수하였고, 돌연변이 억제율(inhibition rate, %)을 구하였다.

7. 통계처리

통계처리는 IBM SPSS Statistics 19(SPSS Inc., an IBM Company) package를 이용하였다. 실험결과들은 3번 또는 5번 반복 측정하여 평균±표준오차로 나타내었고, 시료의 농도별 평균치 간의 유의성 검정은 분산분석 후, $p<0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

1. DPPH 라디칼 소거활성

우엉의 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 Table 1과 같다. 우엉 추출물의 DPPH 라디칼 소거율은 시료농도 5 ㎍/처리 시 6.45%, 50 ㎍/처리 시 29.14%, 500 ㎍/처리 시 70.46%로 농도가 증가할수록 소거활성이 증가하였다. DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도인 IC_{50}값은 296 ㎍이었고, 이를 건조시료로 환산하면 1.29 ㎎이었다.

우엉의 라디칼 소거능에 관한 연구들을 살펴보면, Duh PD(1998)의 연구에서 우엉의 물 추출물은 DPPH 라디칼 소거능이 높았고, 용량의존적으로 소거능이 증가하였다고 한다. Yamaguchi 등(2001)이 18가지 채소를 대상으로 물 추출하여 DPPH-HPLC법으로 라디칼 소거활성을 측정한 결과에서도 우엉이 가장 높았고, 가열에 의해서 활성이 증가하였다. 추출방법이 달랐기 때문에 정량적 비교는 어렵지만 Chen 등(2004)의 연구에서도 우엉(즙)은 시료의 용량이 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하였고, 껍질을 벗긴 것보다 껍질을 벗기지 않은 우엉의 라디칼 소거능이 높았다. 이러한 연구들에서 우엉은 DPPH 라디칼 소거능이 매우 높다라는 결과는 일치하지만, 라디칼 소거활성이 가열에 의해서 증가하는 지에 대한 결과는 일치하지 않는다. Duh PD(1998)의 연구에서는 라디칼 소거활성이 가열한 시료와 생 시료 간에 차이가 거의 나타나지 않았지만, Chen 등(2004)의 연구에서는 생 우엉보다 가열에 의해 소거활성이 약간 감소하는 것으로 나타났고, Yamaguchi 등(2001)의 연구에서는 가열에 의해 라디칼 소거활성이 오히려 증가했는데, 이는 가열에 의해 polyphenol oxidase가 불활성화되어 총페놀과 chlorogenic acid의 함량이 감소되지 않았기 때문(Yamaguchi 등 2003)이라고 한다.

본 연구는 한국산 우엉을 사용하였고, 생 우엉을 동결건조한 후 에탄올로 추출한 시료이므로 위의 연구들과 정량적으

Table 1. DPPH radical scavenging activity of *Arctium lappa* extract

Conc.(㎍/assay)	Inhibition rate(%)
5	6.45±1.82[1),a2)]
20	13.38±1.17[b]
50	29.14±2.50[c]
200	46.66±0.70[d]
500	70.46±1.12[e]
IC_{50}[3)]	296 ㎍

[1)] Values are mean±SE,

[2)] Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$,

[3)] Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

로 비교할 수는 없지만 한국산 우엉 역시 DPPH 라디칼 소거 활성이 높고 농도의존적으로 그 활성이 증가하였다.

2. 지질과산화 억제효과

Fe^{2+}에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성은 Table 2와 같다. 우엉 추출물의 지질과산화 억제율은 시료농도 10 ㎍/처리 시 5.38%, 100 ㎍/처리 시 15.42%, 1,000 ㎍/처리 시 30.67%로 우엉 추출물의 농도가 증가할수록 소거활성이 증가하였다. 우엉 추출물의 농도에 따른 지질과산화 억제율로 구한 IC_{50}값은 1,759 ㎍이었고, 이를 건조시료로 환산하면 7.65 ㎎이었다.

우엉의 항산화활성을 다양한 실험법으로 측정한 Duh PD (1998)의 연구에서도 우엉의 물 추출물에서 $FeCl_2$-H_2O_2-stimulated linoleic acid peroxidation의 저해효과가 1.63 ㎎(건조시료 2.5 ㎎, 억제율 50% 내외)까지는 급격히 증가하다가 그 이후는 증가율이 둔화되어 3.26 ㎎(건조시료 5 ㎎) 이후에서 억제율이 약 70% 정도를 유지하고 있었다. 본 연구는 Duh PD(1998)의 연구에서와 달리 에탄올로 추출한 시료를 사용하였기 때문에 정확히 비교하기는 어렵지만 그 경향은 비슷하다고 생각된다. 즉, Duh PD(1998)의 연구에서 우엉을 물로 추출했을 때 에탄올로 추출한 것보다 수율이 2.36배였고, 항산화활성을 thiocyanate법으로 측정했을 때 물 추출물이 에탄올 추출물보다 약간 높은(약 4%) 활성을 나타내었다고 한다. 이로 미루어 Duh PD(1998)의 연구 결과를 에탄올 추출물로 바꾸어 보면 억제율 50% 내외를 나타내는 건조시료의 양이 약 6 ㎎이었고, 본 연구에서는 7.65 ㎎으로 큰 차이가 없었다.

3. 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

우엉 추출물이 지질과산화물인 MDA와 단백질(BSA)이 결합하는 반응을 억제하는 효과를 살펴 본 결과는 Table 3과 Fig. 1과 같다. 우엉 추출물의 농도가 2.5 ㎎/처리였을 때의 억제율이 12.9%였고, 5 ㎎/처리부터 20 ㎎/처리에서는 약 25% 정도의 억제율을 보였다가 시료농도 40 ㎎/처리에서 44.9%, 80 ㎎/처리에서 59.98%, 100 ㎎/처리에서 68.03%의 억제율을 나타내 우엉 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과가 증가하는 것으로 나타났다. 이는

Table 2. Antioxidative effects of ethanol extracts of *Arctium lappa* on Fe^{+}-induced linoleate peroxidation

Conc.(㎍/assay)	Inhibition rate(%)
10	5.38±0.23[1),a2)]
30	7.89±0.79[a]
100	15.42±1.48[b]
300	22.64±1.77[c]
1,000	30.67±1.13[d]
IC_{50}[3)]	1,759 ㎍

1) Values are mean±SE,
2) Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$,
3) Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of five times determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

Table 3. Inhibition rate of ethanol extracts of *Arctium lappa* on the conjugated MDA with BSA

Conc.(㎎/assay)	Inhibition rate(%)
2.5	12.94±3.02[1),a2)]
5	22.48±4.69[b]
10	27.98±2.37[b]
20	26.25±1.54[b]
40	44.92±1.70[c]
80	59.98±1.49[d]
100	68.03±0.18[e]
IC_{50}[3)]	57.58 ㎎

1) Values are mean±SE,
2) Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$,
3) Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

Fig. 1. Inhibitory effects of ethanol extracts of *Arctium lappa* on conjugation of malondialdehyde with protein. SDA-PAGE of extracts with MDA and BSA on 12% acrylamide gel, a: BSA(100 ㎕)+PBS(900 ㎕), b: BSA(100 ㎕)+MDA (100 ㎕)+PBS(800 ㎕), c: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (2.5 ㎕)+PBS(797.5 ㎕), d: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (5 ㎕)+PBS(795 ㎕), e: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (10 ㎕)+PBS(790 ㎕), f: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (20 ㎕)+PBS(780 ㎕), g: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (40 ㎕)+PBS(760 ㎕), h: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (80 ㎕)+PBS(720 ㎕), I: BSA(100 ㎕)+MDA(100 ㎕)+extract (100 ㎕)+PBS(700 ㎕).

Fig. 1에서 우엉 추출물의 농도가 증가할수록 MDA와 BSA의 결합 band가 점점 사라지는 것으로 확인할 수가 있었다. 지질과산화물이 단백질과 결합하는 것을 50% 억제하는 IC_{50}은 57.58 ㎎이었으며, 이를 건조시료 무게로 환산하면 250 ㎎이었다.

지질과산화물인 MDA는 활성이 매우 강해서 DNA와 단백질을 cross-linking시키므로 세포를 손상시킨다. 따라서 이를 억제하는 식품을 섭취하는 것은 만성질환, 암 및 노화를 예방하는데 중요하다(Miquel 등 1990). 우엉의 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과를 측정하기 위해 본 연구는 MDA와 BSA를 직접 반응시키고 시료가 이를 억제하는 효과를 측정한 방법을 사용하였는데, 우엉 추출물을 이와 동일한 방법으로 측정한 연구는 없었다. 동일한 방법은 아니지만 rat liver homogenate에서 $FeCl_2$-ascorbic acid-stimulated lipid peroxidation을 측정한 Duh PD(1998)의 연구 결과를 살펴보면, 우엉의 물 추출물은 농도의존적으로 MDA의 형성을 억제하였고, 35 ㎎ 이상에서는 tocopherol보다 유의하게 높은 억제효과를 나타냈다. 이는 본 연구에서 우엉 추출물의 농도가 증가할수록 MDA와 BSA의 결합 band가 감소하는 것과 비슷한 결과라고 생각된다.

4. 항돌연변이능 측정

Ames 법으로 측정한 우엉 추출물의 항돌연변이능은 Table 4와 같다. 직접작용 돌연변이물질인 2-NF(4 ㎍/plate)를 틀변경 변이주인 *Salmonella* Typhimurium TA98에, sodium azide(2 ㎍/plate)를 염기쌍 치환 변이주인 *Salmonella* Typhimurium TA100에 처리한 후, 우엉 에탄올 추출물을 농도별로 처리하여 직접작용 항돌연변이능을 측정하였으나, 효과가 나타나지 않았다. 또한 간접작용 돌연변이 물질인 2-AA(2.5 ㎍/plate)를 사용하여 항돌연변이능을 측정하였으나, *Salmonella* Typhimurium TA98과 *Salmonella* Typhimurium TA100 모두에서 항돌연변이능이 나타나지 않았다.

우리나라에서 우엉의 항돌연변이능을 측정한 연구들을 살펴보면, 우엉의 사포닌(1.0~2.0 ㎎/plate)이 *Salmonella* Typhimurium TA98에서 2-amino-3,4-dimethylimidazo(4,5-f)quinoline(MeIQ)과 aflatoxin B_1에 대한 항돌연변이능이 높았다는 Ryu 등(1986)의 보고와 Park 등(1992)이 예비실험을 통해 시료의 양을 결정하여 실험한 결과, *Salmonella* Typhimurium TA100에서 N-methyl-N'-nitrosoguanidine(MNNG)와 N-nitrosdimethyamine(NDMA)에 의한 돌연변이 유발성을 각각 80%, 67% 저해했다는 보고가 있다. 또한 간을 비롯한 여러 장기에서 발암작용을 촉진하는 물질로 알려진 okadaic acid의 저해작용을 측정한 Ohara & Matsuhisa(2002)의 연구에서도 우엉의 물 추출물은 86%의 높은 저해율을 나타냈다고 한다. 그러나 본 연구에서는 항돌연변이능이 나타나지 않았는데, 이는 물 추출물이 아닌 에탄올 추출물이었고 사포닌 등의 활성물질을 추출한 시료가 아니었기 때문으로 사료된다. 즉, Ohara & Matsuhisa(2002)의 연구에서 anti-okadaic acid 활성이 물 추출물과 핵산 추출물에서는 강한 활성을 나타낸 반면 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 추출물에서는 활성을 나타내지 않은 것으로 미루어 볼 때, 에탄올 추출물에서도 항돌연변이능이 나타나지 않을 수 있음을 시사한다고 할 수 있다.

요약 및 결론

한국산 우엉(뿌리)의 항산화활성을 DPPH radical 소거효

Table 4. Effects of ethanol extracts from *Arctium lappa* on direct and indirect mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA98 and *Salmonella typhimurium* TA100

Extracts Conc.(㎎/plate)	Revertants/plate			
	Salmonella typhimurium TA98		*Salmonella typhimurium* TA100	
	−S9[1)]	+S9[2)]	−S9[1)]	+S9[2)]
Positive control[3)]	724± 29[4)]	2,280±137	2,028± 23	2,882±267
1.0	926±106	2,983±284	2,408± 50	4,222± 48
3.0	939±118	2,932±188	2,371± 26	4,124± 62
5.0	873± 86	3,062± 33	2,503±181	3,744±285
7.0	769± 53	2,990± 41	2,241± 18	3,653±290
9.0	774± 20	3,070± 67	2,330± 12	3,566±335

[1)] Direct mutagenicity mediated by 2-nitrofluorene in *Salmonella typhimurium* TA98 and sodium azide in *Salmonella typhimurium* TA100,

[2)] Indirect mutagenicity mediated by 2-anthramine in *Salmonella typhimurium* TA98 and *Salmonella typhimurium* TA100 with S9mix.,

[3)] Positive controls are 4 ㎍ of 2-nitrofluorene in *Salmonella typhimurium* TA98(-S9), 2 ㎍ of sodium azide in *Salmonella typhimurium* TA100(-S9), 2.5 ㎍ of 2-anthramine in *Salmonella typhimurium* TA98(+S9) and *Salmonella typhimurium* TA100(+S9),

[4)] Values are mean±SE.

과, 지질과산화 억제효과 및 MDA-BSA conjugation 억제효과를 통해 살펴보고, Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제효과를 검토한 결과는 다음과 같다. 우엉의 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거율은 농도가 증가할수록 소거활성이 증가하였다. DPPH 라디칼 소거능의 IC_{50}값은 296 ㎍이었고, 이는 건조시료 1.29 ㎎에 해당하였다. Fe^{2+}에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 우엉 에탄올 추출물의 억제활성은 농도가 증가할수록 증가하였다. 우엉 추출물의 지질과산화 억제능의 IC_{50}값은 1,759 ㎍이었고, 이는 건조시료 7.65 ㎎이었다. 또한 우엉 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화물(MDA)과 단백질(BSA)의 결합 억제효과도 증가하였다. 지질과산화물이 단백질과 결합하는 것을 50% 억제하는 IC_{50}은 57.58 ㎎이었으며, 이는 건조시료 250 ㎎에 해당되었다. 그러나 우엉의 에탄올 추출물은 *Salmonella* Typhimurium TA98과 *Salmonella* Typhimurium TA100 모두에서 항돌연변이능이 나타나지 않았다. 따라서 본 연구 결과, 우엉의 에탄올 추출물은 직접적으로 항돌연변이능을 나타내지는 않았지만 라디칼 소거와 지질과산화 억제를 효과적으로 할 수 있는 높은 항산화활성을 가지고 있으므로 간접적으로 항노화나 항돌연변이에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다고 본다. 또한 한국산 우엉의 항산화활성과 항돌연변이능을 정확히 파악하기 위해서는 다양한 추출법과 이에 따른 기능성 물질의 분석이 뒷받침되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 한남대학교 교비학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었으며(2011A201) 이에 감사드립니다.

참고문헌

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

Chen FA, Wu AB, Chen CY. 2004. The influence of different treatments on the free radical scavenging activity of burdock and variations of its active components. *Food Chem* 86: 479-484

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 Agri Food Chem* 46:49-53

Chow LW, Wang SJ, Duh PD. 1997. Antibacterial activity of burdock. *Food Science* 24:195-202

Duh PD. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): Its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *J Am Oil Chem Soc* 75:455-461

Ferracane R, Graziani G, Gallo M, Fogliano V, Ritieni A. 2010. Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves. *J Pharm and Biomed Anal* 51:399-404

Gomez-Sanchez A, Hermonsin I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28:4077-4080

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 Res* 10:555-560

Lee JH, Lim JH, Cheung JD, Suh DW. 2003. Major characteristics of burdock (*Arctium lappa* L.) native to Yeong-Nam region. *Korean J Plant Res* 16:8-14

Lee MY, Shin SL, Park SH, Kim NR, Chang YD, Lee CH. 2009. Development of optimal cultivation conditions and analysis of antioxidant activities of *Arctium lappa* sprout vegetables. *Korean J Plant Res* 22:304-311

Lin CC, Lin JM, Yang JJ, Chuang SC, Ujiie T. 1996. Anti-inflammatory and radical scavenging effect of *Arctium lappa*. *Am J Chinese Medicine* 24:127-137

Lin SC, Lin CH, Lin CC, Lin YH, Chen CF, Chen IC, Wang LY. 2002. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* Linne on liver injuries induced by chronic ethanol consumption and potentiated by carbon tetrachloride. *J Biomed Sci* 9: 401-409

Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113:73-215

Miquel J, Quintaniha AT, Weber H. 1990. Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine. pp.177-185. CRC Press.

Norphth KH, Garner RC. 1980. Short-term Test, Systems for Detecting Carcinogens. pp.273-275. Springer-Verlag Press.

Ohara A, Matsuhisa T. 2002. Anti-tumor promoting activities of edible plants against okadaic acid. *Food Sci Technol Res* 8:158-161

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 YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomodics

by aldehyde. Ph.D. in Medicine Thesis. Seoul National University. Seoul

Ryu BH, Lee BH, Ha MS, Kim DS, Sin DB, Nam KD. 1986. Desmutagenic effect of legumes and plants crude saponins in *Salmonella typhimurium* TA 98. *Korean J Food Sci Technol* 18:345-350

Saija A, Scalese M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radic Bio Med* 19:481-486

Wang BS, Yen GC, Chang LW, Yen WJ, Duh PD. 2006. Protective effects of burdock (*Arctium lappa* Linne) on oxidation of low-density lipoprotein and oxidative stress in RAW 264.7. *Food Chem* 101:729-738

Yamaguchi T, Katsuda M, Oda Y, Terao J, Kanazawa K, Oshima S, Inakuma T, Ishiguro Y, Takamura H, Matoba T. 2003. Influence of polyphenol and ascorbate oxidase during cooking process on the radical-scavenging activity of vegetables. *Food Sci Technol Res* 9:79-83

Yamaguchi T, Mizobuchi T, Kajikawa R, Kawashima H, Miyabe F, Terao J, Takamura H, Matoba T. 2001. Radical-scavenging sctivity of vegetables and the effect of cooking on their activity. *Food Sci Technol Res* 7:250-257

접 수 : 2011년 11월 13일
최종수정 : 2011년 12월 9일
채 택 : 2011년 12월 11일