

균주에 따른 청미래덩굴잎 발효차의 항산화 활성

이상일 · 이예경* · 김순동* · 강윤환* · 서주원*^{**,†}

계명문화대학교 식품영양조리학부, *명지대학교 농생명바이오식의약소재개발사업단,
[†]명지대학교 생명과학정보학부

Antioxidative Activity of *Smilax china* L. Leaf Teas Fermented by Different Strains

Sang-Il Lee, Ye-Kyung Lee*, Soon-Dong Kim*, Yun Hwan Kang* and †Joo Won Suh^{*,**}

Dept. of Food, Nutrition and Culinary Arts, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

*Center for Nutraceutical and Pharmaceutical Materials, Myongji University, Yongin 449-728, Korea

**Division of Bioscience and Bioinformatics, Myongji University, Yongin 449-728, Korea

Abstract

To evaluate the functional characteristic and availability for drinking of the fermented *Smilax china* leaf tea by using different microbial species, various fermented leaf tea was prepared by non-fermentation (C), or the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* (S), *Bacillus* sp. (B), *Bifidobacterium bifidus* (L), *Monascus pilosus* (M) and *Aspergillus oryzae* (A), and sensory and antioxidant parameter of each brewed tea was observed. The color of the A tea was red, but the other teas were yellow in color. Furthermore, the aesthetic quality of the A and M tea was 3.95 and 3.30 point, respectively, and other teas (2.55~2.28) were similar to that of the C tea. TP of fermented tea water extract was lower than that of the C, although TF was not significantly different between the fermented and non-fermented tea. Especially, TF of the A tea was significantly lower than those of the other teas. The range of EDA (1 mg/ml) of water and ethanol extracts of tea C and the fermented teas was 19.25~22.48%; however, tea A was only 8.04~12.49%. In addition, FRAP, FICA and LPOIA of teas were not significantly different between the fermented and non-fermented teas. On the other hand, XOIA and AOIA of tea ethanol extracts were slightly higher than those of water extracts. XOIA of water extract derived from the teas was 4.83~9.20%, while ethanol extract of these was 9.00~19.00%. However, XOIA of B and L teas water extract was not detected. Furthermore, AOIA of fermented tea water extract (30.17~48.52%) were lower than those of ethanol extract (44.09~66.93%). In this study, interestingly, antioxidant parameters, such as FRAP, FICA, LPOIA and AOIA, of the A tea water extract (0.1%) was higher than that of the other tea in spite of high decreasing rate in the contents of TP and TF. Therefore, above results imply the possibility of fermented *Smilax china* leaf tea as a functional food.

Key words: *Smilax china* L., fermentation, antioxidant activity, xanthine oxidase inhibitory activity, aldehyde oxidase inhibitory activity

서론

경제 개발로 인한 공업화와 더불어 식생활의 서구화로 공기, 수질을 포함한 환경오염 등 물리, 화학적 환경 변화와 운동 부족, 대사의 불균형, 각종 스트레스의 증가 등으로 다양한

생활습관병이 크게 증가하고 있다(Carr 2003). 이 같은 병리적 상태에서는 체내에 산화를 촉진하는 H₂O₂(hydrogen peroxide), O²⁻(superoxide anion radical), O₂(singlet oxygen), ·OH(hydroxyl radical) 등과 같은 반응성이 높은 ROS(reactive oxygen species)의 생성이 촉진된다(Halliwell 2006). 이들 ROS는 생체막의 불

[†] Corresponding author: Joo Won Suh, Division of Bioscience and Bioinformatics, Myongji University, Yongin 449-728, Korea. Tel: +82-31-330-6190; Fax: +82-31-336-0870; E-mail: jwsuh@mju.ac.kr

포화지방산을 산화시켜 조직 내에 과산화지질을 축적시키고 조직의 산화적 손상을 초래하며, 효소의 불활성화, 세포노화, 동맥경화, 당뇨병, 뇌졸중 및 암과 같은 질병을 일으킨다(Halliwell 2006). 생명체는 ROS의 공격을 방어하는 glutathione, selenium, tocopherol, riboflavin 등과 같은 항산화물질과 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase 등과 같은 항산화계 효소들이 존재하여 ROS로 인한 독성을 경감시키며, 각종 질병의 예방과 노화를 지연시키는 것으로 알려져 있으나(De Haan 등 1995; Jeon 등 2001; Moon 등 2001), 과잉의 산화적 스트레스에 의한 다양한 질병들로부터 생체를 보호하기 위하여 항산화 시스템을 강화시킬 수 있는 새로운 생리활성물질의 끊임없는 개발이 요구되고 있다.

청미래덩굴은 우리나라를 비롯한 중국, 일본 등의 산야에 널리 분포하는 백합과(Liliaceae)의 활엽덩굴성 관목으로 망개나무, 산귀래, 명감나무 등 다양한 별명이 있으며, 한의학에서 토복령으로 불리는 청미래덩굴의 뿌리는 위암, 식도암, 직장암, 식욕 부진, 구토증 등 소화기 질환에 민간요법으로 사용해 왔으며, 이노, 체력 증강, 통풍, 류머티즘에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Song 등 2006). 청미래덩굴의 어린잎은 나물로 이용되며, 노잎은 떡을 찌 때 포장한 망개떡 제조에 사용한다. 망개떡은 여름철에도 변질되지 않는 것으로 알려져 있어, 이와 관련하여 잎 추출물에 대한 항균력과 항산화력에 관한 연구들이 보고되고 있다(Choi 2004). 또, 잎 추출물에서 α -tocopherol 수준의 높은 항산화 활성을 지니는 kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside와 kaempferol-3,7-O- α -L-dirhamnopyranoside가 분리된 바 있다(Cha & Lee 2007).

청미래덩굴의 주요 기능성 성분으로는 stilbenes, flavonoids, steroidal saponins 등이 알려져 있으며(Ruan 등 2002; Xu 등 2008), 중국에서는 청미래덩굴을 “Jin Gang Ten”이라 하고, 뿌리(rhizome)는 류머티스성 관절염(rheumatoid arthritis) 치료제로 사용되고 있다(Shu 등 2006; Chen 등 2008; Wu 등 2010). 관절염의 원인의 하나인 통풍은 대사성질환의 일종으로 노산의 과잉 생성 혹은 배설 저하로 유발된 고노산혈증으로 인하여 노산의 결정체가 관절 부위에 축적되어 발생하는 염증으로 반복적으로 통증을 유발한다(Chena 등 2011). 노산은 purine의 최종 대사산물로 xanthine oxidoreductase(XOD)의 D type 효소(xanthine dehydrogenase: XDH)와 O type 효소(xanthine oxidase: XO)에 의하여 xanthine으로부터 생성된다. XOD는 체내에서 기질특이성이 넓은 비특이적 효소(Park 등 1997)로 정상적인 생리상태에서는 NAD^+ 를 전자수용체로 이용하는 dehydrogenase(D type)로 작용하나, 병리적인 상태에서는 분자상의 산소를 전자수용체로 이용하는 O type 효소로 작용하여 superoxide 및 hydrogen peroxide와 같은 ROS를 생성한다(Hashim 등 2005). 또한 molybdenum hydroxylase의 family이며, XO와

물리화학적 특성과 분자량이 유사하고, 기질특이성이 넓은 비특이적 xenobiotic-clearing enzyme으로 또는 활성산소 생성계 효소로 작용하는 AO(aldehyde oxidase)에 관한 연구는 매우 부족하다(Ueda 등 2005; Kitamura 등 2006; Ito 2009; Barr & Jones 2011). 청미래덩굴에 관한 기능성 연구는 뿌리를 소재로 하여 신경독성에 대한 보호작용(Bana 등 2006), 항염효과(Shu 등 2006; Shao 등 2007) 및 항암효과(Xu 등 2008; Wu 등 2010) 등 많은 연구가 진행되어 있으나, 잎에 대하여는 연구가 매우 저조하여 그 기능성과 이용에 관한 폭넓은 연구가 요망되고 있다.

본 연구에서는 청미래덩굴 잎 추출물에서 ROS 생성계 효소인 XO 또는 AO에 대한 저해활성이 있는지에 대하여 조사함과 동시에 활성산소 소거계와 관련된 전자공여능, ferric reducing antioxidant power, ferrous iron chelating activity 및 lipid peroxidation inhibitory activity를 조사하였다. 아울러 청미래덩굴 잎의 떫은맛과 산미를 완화한 발효차를 제조하기 위하여 식생활에 널리 이용되고 있는 *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus*, *Bifidobacterium bifidus*, *Monascus pilosus* 및 *Aspergillus oryzae* 등의 미생물들 중에서 발효차 제조에 적합한 균주를 선발코자 이들 기능성의 변화를 비교하였으며, 제조한 차의 관능적 품질특성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 균주

실험에 사용한 청미래덩굴(*Smilax china* L.) 잎은 2012년 7월 10일에 경상남도 의령군의 야산에서 채취한 후 40°C의 열풍건조기에서 충분히 건조시킨 후 Food Mixer(HNF-1710, Hanil Electric Co Ltd, Seoul, Korea)를 사용하여 40 mesh 입도로 분쇄하였으며, polyethylene film으로 밀봉하여 4°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

발효용 균주로 *Saccharomyces cerevisiae*는 시판 활성 건조 효모(Premier Cuvee, Red Star Co, France)를 구입하여 5% glucose 용액에 이식하여 25°C에서 24시간 동안 배양하였으며, *Bacillus*속 혼합균주(Lee 등 2007)는 전통청국장으로부터 분리한 *B. circulans*, *Brevibacillus brevis*, *B. licheniformis*, *B. arabitane*, *B. coagulans*, *B. sterothermophilus*, *B. subtilis*는 각각 Bacto™ Tryptic Soy Broth(Becton, Dickinson and Co, Sparks, MD, USA)에 각각에 이식하여 37°C에서 48시간 배양하여 동일량으로 혼합하였으며, *Bifidobacterium bifidus* ATCC 29521과 *Monascus pilosus* KCCM 60084 및 *Aspergillus oryzae* KFRI 995는 한국중균협회에서 분양받아 동일 배지를 사용하여 25°C에서 7일간 진탕배양하였다. *B. bifidus*균은 MRS broth(Difco™, Becton, Dickinson and Co, Sparks, MD, USA) 액체배지를 사용

하여 37°C에서 정치배양하였으며, *M. pilosus*와 *A. oryzae*는 soy broth에 이식하여 25°C에서 7일간 진탕 배양하였다. 각각의 균 배양액은 동일배지로 10^8 cells/ml로 희석하여 starter로 사용하였다.

2. 발효차 제조방법

청미래덩굴잎 발효차의 제조는 Fig. 1에서와 같이 제조하였다. 즉, 4°C에서 보존 중인 시료분말 1.5 kg에 3 ℓ의 증류수를 가하고, 골고루 혼합하여 수분을 평형화 시킨 후 3 ℓ들이 polypropylene bag에 0.75 kg 씩 담아 121°C에서 60분간 고압멸균을 행하였다(JAC-102, Cheil science, Seoul, Korea). 다음에 무균상으로 옮긴 후 미리 준비한 starter(10^8 cells/ml)를 5% 씩 부어 골고루 혼합하고 *B. bifidus*를 접종한 L차를 제외한 모든 경우는 공기 여과장치를 부착한 뚜껑을 부착하였다. 발효는 *S. cerevisiae*(S차), *M. pilosus*(M차), *A. oryzae*(A차)의 경우는 25°C에서, 혼합 *Bacillus* sp.(B차), *B. bifidus*(L차)의 경우는 37°C의 incubator에 두면서 10일간 발효시켰다. 대조구(C차)는 121°C에서 60분간 고압멸균한 후 40°C에서 건조시킨 것으로 하였다.

3. 관능검사

차 우리기는 Tea Extractor(Damian Tea Co, Anyang, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 90°C의 열수에 청미래덩굴잎 발효차를 1%(w/v) 농도로 하여 5분간 우려내어 50°C의 보온 통에 보관하면서 시료로 사용하였다. 관능요원은 차를 연구 교육하는 (사)우리차문화연합회의 40~60세의 여성 회원 25명으로 주 1회 4시간씩 4주간 관능항목에 대한 강도와 기호도에 대한 훈련을 행하였으며, 5주째에 6종의 시료에 대하여 향(aroma), 맛(taste), 밝기(brightness) 및 후미(mouth feel)에 대한 종합적인 기호도(overall acceptability)를 5점 척도법(Herbert & Jeol 1993)으로 아주 나쁘다(1점), 나쁘다(2점), 보통이다(3점), 좋다(4점), 아주 좋다(5점)로 평가하였다.

4. 우린 차의 색상

관능검사용 우린 차를 시료로 하여 Chromameter(CR-200, Minolta Co, Tokyo, Japan)를 이용하여 밝기를 나타내는 L*(lightness), 적색도를 나타내는 a*(redness) 및 황색도를 나타내는 b*(yellowness)와 Ho(hue angle) 값을 측정하였다. 이때 사용한 표준백판의 L*, a* 및 b*값은 각각 94.5, 0.3132, 0.3203이었다.

5. 항산화 측정용 시료의 조제

Total polyphenol 및 total flavonoid 함량과 항산화 활성 측

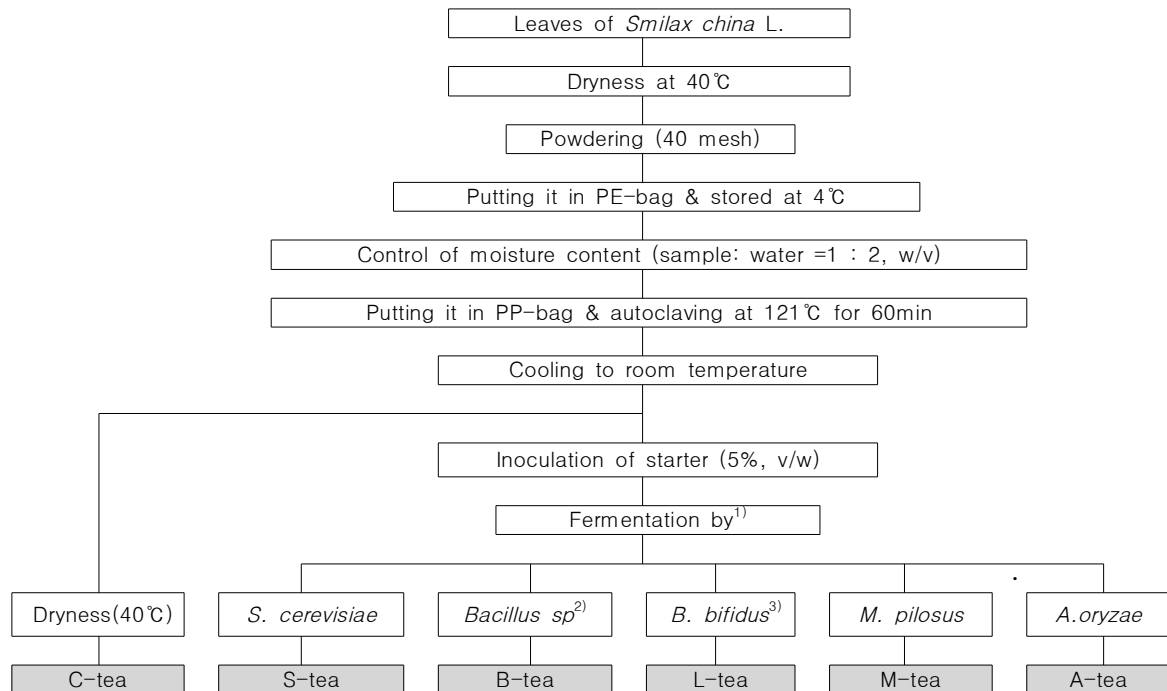


Fig. 1. Preparation and fermentation procedures of *Smilax china* L. leaf teas. ¹⁾ All starters (10^8 cells/ml) except *B. bifidus* cultured in soy broth at 25~30°C were inoculated 5% against total sample weight. ²⁾ The microorganisms were isolated from traditional *Chungkukjang* composed of *B. circulans*, *Brevibacillus brevis*, *B. licheniformis*, *B. arabitane*, *B. coagulans*, *B. sterothermophilus*, *B. subtilis*. ³⁾ *Bifidobacterium bifidus* ATCC 29521 was cultivated in MRS broth.

정용 청미래덩굴잎 및 그 발효차의 시료는 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물로 나누어 조제하였다. 즉, 차 분말시료 1%(w/v)를 함유하는 증류수 및 70% ethanol 용액을 냉각관을 부착하여 30분간 100°C에서 끓이고, 실온이 될 때까지 식힌 후 Whatman No. 2 filter paper(Whatman International Ltd, Maidstone, England)로 여과한 여액을 시료로 하였다.

6. Total polyphenol(TP) 및 total flavonoid(TF) 함량

TP 함량은 Minussi 등(2003)의 방법에 따라 시료추출액 100 μ l에 2% sodium carbonate 2 ml와 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μ l를 가한 후 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid(Sigma-Aldrich Co, USA)의 표준검량선에 의하여 함량을 산출하였다. TF 함량은 Meda 등(2005)의 방법에 따라 시료추출액 1 ml에 2% aluminum chloride 1 ml와 50% 에탄올 1 ml를 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준품 quercetin(Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO, USA)의 표준검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

7. Electron donating ability(EDA)

Electron donating ability(EDA)는 Blois(1958)의 방법에 따라 시료추출액 0.2 ml에 0.4 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액 0.8 ml를 가하여 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 계산식, 전자공여능(%)=[1-(시료흡광도/대조구 흡광도)] \times 100에 의하여 활성도를 산출하였다.

8. Ferric reducing antioxidant power(FRAP)

FRAP는 Benzie & Strain(1996)의 방법에 따라 시료추출액 0.05 ml에 증류수 0.05 ml를 가하여 혼합한 후 0.3M sodium acetate buffer(pH 3.60), 10 mM 2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine을 함유하는 40 mM HCl 용액 및 20 mM FeCl₃ 용액(10:1:1, v/v) 혼합용액 1.90 ml를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 추출액 대신에 추출 용매를 사용하였으며, 활성도는 건조시료 g당 Fe³⁺이 Fe²⁺로 환원된 양을 μ mole로 나타내었다.

9. Ferrous iron chelating activity(FICA)

FICA는 Dinis 등(1994)의 방법에 따라 시료추출액 1 ml에 3.7 ml의 증류수를 가한 후 2 mM의 ferrous chloride 0.1 ml와 5 mM의 ferrozine 0.2 ml를 가하여 실온에서 10분간 반응시켜 562 nm의 흡광도를 측정하였다. 활성도(%)는 [1-[시료 OD/대조구 OD] \times 100]으로 계산하였다.

10. Lipid peroxidation inhibitory activity(LPOIA)

LPOIA는 Banerjee 등(2005)의 방법을 일부 변형하여 신선한 계란 노른자 10%(w/v)를 함유하는 50 mM Na-phosphate buffer (pH 7.4)로 균질화한 액 0.25 ml에 시료 추출액과 증류수를 각각 0.20 ml 및 0.55 ml를 가하였다. 여기에 70 mM FeSO₄ 용액 0.05 ml를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 pH를 3.5로 조정하고 20% acetic acid 1.5 ml와 0.8% thiobabutaric acid를 함유하는 sodium dodecyl sulfate 1.5 ml 및 20% trichloroacetic acid 0.05 ml를 가하고, 95°C에서 1시간 동안 가열한 다음 냉각하였다. 여기에 n-butanol 5 ml를 가하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상층액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였으며, 저해율(%)=[1-(test blank의 OD/blank의 OD)] \times 100의 계산식에 의하여 지질과산화 억제활성을 측정하였다.

11. Xanthine 및 aldehyde oxidase inhibitory activity

Xanthine oxidase inhibitory activity(XOIA) 및 aldehyde oxidase inhibitory activity(AOIA)은 다음과 같이 측정하였다. 효소원은 Rajagopalan 등(1962) 및 Maia 등(2002)의 방법에 따라 토끼의 간 조직으로부터 추출, ammonium sulfate 분획, 투석 및 원심분리를 행하여 부분 정제한 후 -70°C에서 보관하면서 공시하였다. XOIA는 Stirpe와 Della Corte(1969)의 방법에 따라 기질 xanthine을 uric acid로의 전환을 억제하는 정도를 %로 나타내었다. AOIA는 Rajagopalan 등(1962)의 방법에 따라 기질 NMN(N¹-methylnicotinamide)으로부터 산화된 pyridone을 300 nm에서 측정하는 다음 대조구에 대한 억제 정도를 저해율(%)로 나타내었다.

12. 통계처리

분석은 3회 반복으로 실험하여 평균치와 표준편차로 나타내었고, 관능검사는 관능요원 25명의 평균값과 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 version 12의 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결과 및 고찰

1. 열수 추출물의 색상

발효차의 중요한 품질평가 요소의 하나인 색상을 알아보기 위하여 청미래덩굴잎 및 그 발효차 건조분말 1 g(1 tea bag 기준)에 90°C의 열수 100 ml를 가하여 5분간 우려내어 L*, a*, b* 및 H°를 측정하였다(Table 1). 밝기를 나타내는 L*값과 적색도를 나타내는 a*값 및 황색도를 나타내는 b*값은 S, B, L차에서는 C차의 경우와 유사한 값을 보였으며, 연한 황색을 띠었다. M차도 C차와 동일한 색상으로 다소 진한 황색을 나

Table 1. Hunter color values of 1% hot water extracts of *Smilax china* L. leaf teas fermented by various microorganisms

Teas ¹⁾	L*	a*	b*	H°
C	50.94±1.43 ^{a,2)}	9.64±0.45 ^c	17.23±0.89 ^a	69.97±1.83 ^a
S	50.50±1.55 ^a	9.31±0.62 ^c	17.66±0.86 ^a	69.03±1.57 ^a
B	51.55±1.75 ^a	9.07±0.75 ^c	17.63±0.84 ^a	69.53±1.95 ^a
L	52.39±1.67 ^a	9.62±0.81 ^c	18.18±0.77 ^a	70.57±1.06 ^a
M	46.62±0.78 ^b	11.77±0.56 ^b	15.17±0.74 ^b	66.67±1.29 ^b
A	33.70±0.21 ^c	17.71±0.37 ^a	10.71±0.69 ^c	38.53±1.05 ^c

¹⁾ Abbreviations: See Fig. 1.

C: non-fermented and steamed leaf. S: fermented by *S. cerevisiae*. B: fermented by mixed *Bacillus* isolated from Korean traditional Cheonggukjang.

L: fermented by *B. bifidus*. M: fermented by *M. pilosus*.

A: fermented by *A. oryzae*.

²⁾ Values are mean±standard deviation of triplicate determination, different superscripts at the same column (a, b) indicate significant differences ($p<0.05$).

타내었으나, A차에서는 여타 차에 비하여 a*값이 높고, b*값은 낮으며, H°값이 38.53으로 후발효차인 보이차와 유사한 색상을 나타내었다. 이러한 현상은 *S. cerevisiae*, *Bacillus* sp., *B. bifidus* 및 *M. pilosus* 등과 같은 미생물은 청미래덩굴잎에 대한 발효력이 낮은 반면 *A. oryzae*는 청미래덩굴잎에 존재하는 polyphenol을 산화시켜 적색계의 polyphenol 산화물을 생성하는 때문이라 생각된다. *M. pilosus*도 황색에서 적색의 rubropuntain 또는 monascin과 같은 색소를 생성하는 것으로 알려져 있으나(Ngure 등 2009), 우려내기 전과 우려낸 M차에서는 적색계의 색상은 나타나지 않았다.

2. 열수 추출물의 관능적 특성

청미래덩굴잎 발효차의 차로서의 특성을 알아보기 위하여 건조한 분말 차 1 g(1 tea bag 기준)에 90°C의 열수 100 mL를

가하여 5분간 우려내어 50°C로 냉각하여 향(aroma), 맛(taste), 밝기(brightness), 입맛(mouth feel)에 대한 종합적인 기호도(overall acceptability)를 조사하였다(Table 2). 향에 대한 기호도는 대조구(C차)를 비롯하여 모든 발효차에서 2.52~2.58점 범위로 보통 이하의 기호도를 나타내었다. 맛에 대한 기호도는 전반적으로 발효시킨 차에서 높아지는 경향을 보였으며, 발효차 중에서는 A차가 S, B, L 및 M차에 비하여 다소 높았다. 이러한 현상은 청미래덩굴잎에서 띠는 신맛과 떫은맛이 발효에 의하여 감소되는 현상과 관련이 있는 것으로 생각되며, 우려낸 차의 색상(Table 1)으로 보아 A차에서 발효가 가장 활발하게 진행된 것으로 보인다. 차의 밝기에 대한 기호도는 Hunter의 L*값(Table 1)과 유사한 경향으로 A차와 M차에서 다소 낮았으나, 여타 발효차의 경우는 C차와의 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 종합적인 기호도에서는 A차가 3.95점으로 가장 높았고, 다음으로 M차가 높았으며, S, B, L차는 C차와 비슷하였다.

Owuor 등(2006)과 Chen 등(2000)은 발효차의 품질에 대한 평가항목으로 향, 맛, 밝기 및 입맛이 가장 중요한 요소로 품질이 좋지 않은 발효차는 엽록소의 미분해 산물인 pheophytin과 pheophorbide가 남아 밝기의 정도가 낮아 어두운 색상을 띠게 된다고 하였으며, 발효가 원만하게 이루어지게 되면 녹색을 띠는 클로로필의 완전분해와 polyphenol 성물질이 산화 중합되어 밝은 적색계의 색상을 띠는 새로운 물질이 생성됨으로서 기호성이 높아진다고 하였다. 본 연구의 A차에서 여타 발효차에 비하여 높은 종합적인 기호도를 보이는 것은 청미래덩굴잎이 *A. oryzae*에 의하여 발효가 원만하기 진행됨으로서 아름다운 색상을 보임과 함께 청미래덩굴잎에서 나타나는 비교적 강한 신맛과 떫은맛이 감소되기 때문이라 사료된다.

3. Total polyphenol(TP) 및 total flavonoid(TF) 함량

청미래덩굴잎과 그 발효차의 TP 및 TF 함량을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 대조구로 사용한 증자 후 건조시킨 C차

Table 2. Sensory evaluation of 1% hot water extracts *Smilax china* L. leaf teas fermented by various microorganisms

Teas ¹⁾	Aroma	Taste	Brightness	Mouth feel	Overall acceptability
C	2.52±0.32 ^{NS,2)}	1.76±0.18 ^{c,3)}	3.45±0.23 ^a	2.23±0.19 ^c	2.34±0.26 ^c
S	2.55±0.30	2.14±0.20 ^b	3.31±0.22 ^a	2.85±0.20 ^{ab}	2.56±0.30 ^c
B	2.58±0.31	2.16±0.22 ^b	3.32±0.20 ^a	2.75±0.21 ^b	2.58±0.23 ^c
L	2.55±0.29	2.15±0.19 ^b	3.30±0.21 ^a	3.05±0.22 ^{ab}	2.55±0.32 ^c
M	2.57±0.27	2.16±0.19 ^b	2.90±0.20 ^b	3.15±0.22 ^{ab}	3.30±0.22 ^b
A	2.55±0.26	3.22±0.18 ^a	2.85±0.23 ^b	3.22±0.23 ^a	3.95±0.28 ^a

¹⁾ Abbreviations: See Fig. 1 and Table 1. ²⁾ NS: not significant.

³⁾ Values are mean±standard deviation of 25 panels evaluated from very poor(1 point) to very good(5 points). Different superscripts at the same column (a~c) indicate significant differences ($p<0.05$).

의 열수 추출물의 TP 함량은 28.94 mg/g, TF 함량은 18.39 mg/g, 에탄올 추출물에서의 TP 함량은 34.97 mg/g, TF 함량은 34.44 mg/g으로 TP, TF 모두 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비하여 각각 1.21 및 1.87배가 높았다. TF/TP(%)은 열수 추출물(63.55%)에 비하여 에탄올 추출물(98.48%)이 높아 에탄올 가용성 flavonoid의 함량이 높음을 나타내었다. 청미래덩굴잎 열수 추출물의 TP 함량은 5.43 mg/g, TF 함량은 1.60 mg/g, 에탄올 추출물에서의 TP 함량은 13.06 mg/g, TF 함량은 3.01 mg/g으로 보고(Ko & Yang 2011) 된 바 있으나, 본 연구의 대조구인 C차와 비교하여 그 함량이 낮았다.

청미래덩굴잎을 여러 가지 미생물로 발효시킨 발효차 열수 추출물의 TP 함량을 대조구인 C차와 비교해 본 결과, *S. cerevisiae*로 발효시킨 S차, *Bacillus*속의 혼합미생물로 발효시킨 B차 및 *B. bifidus*로 발효시킨 L차에서는 7.12~8.37%가 감소되었으며, *A. oryzae*로 발효시킨 A차는 12.82%로 가장 높은 감소율을 보였으나, *M. pilosus*로 발효시킨 M차는 유의적인 변화가 없었다. 에탄올 추출물의 TP 함량도 S 및 B차는 C차에 비하여 9.33~10.36%, M 및 L차는 C차에 비하여 17.56~18.16%가 각각 감소되었으나, A차는 53.57%가 감소되었다. TF/TP(%)는 C차가 98.48%로 S차 96.62%와 비슷한 값을 나타

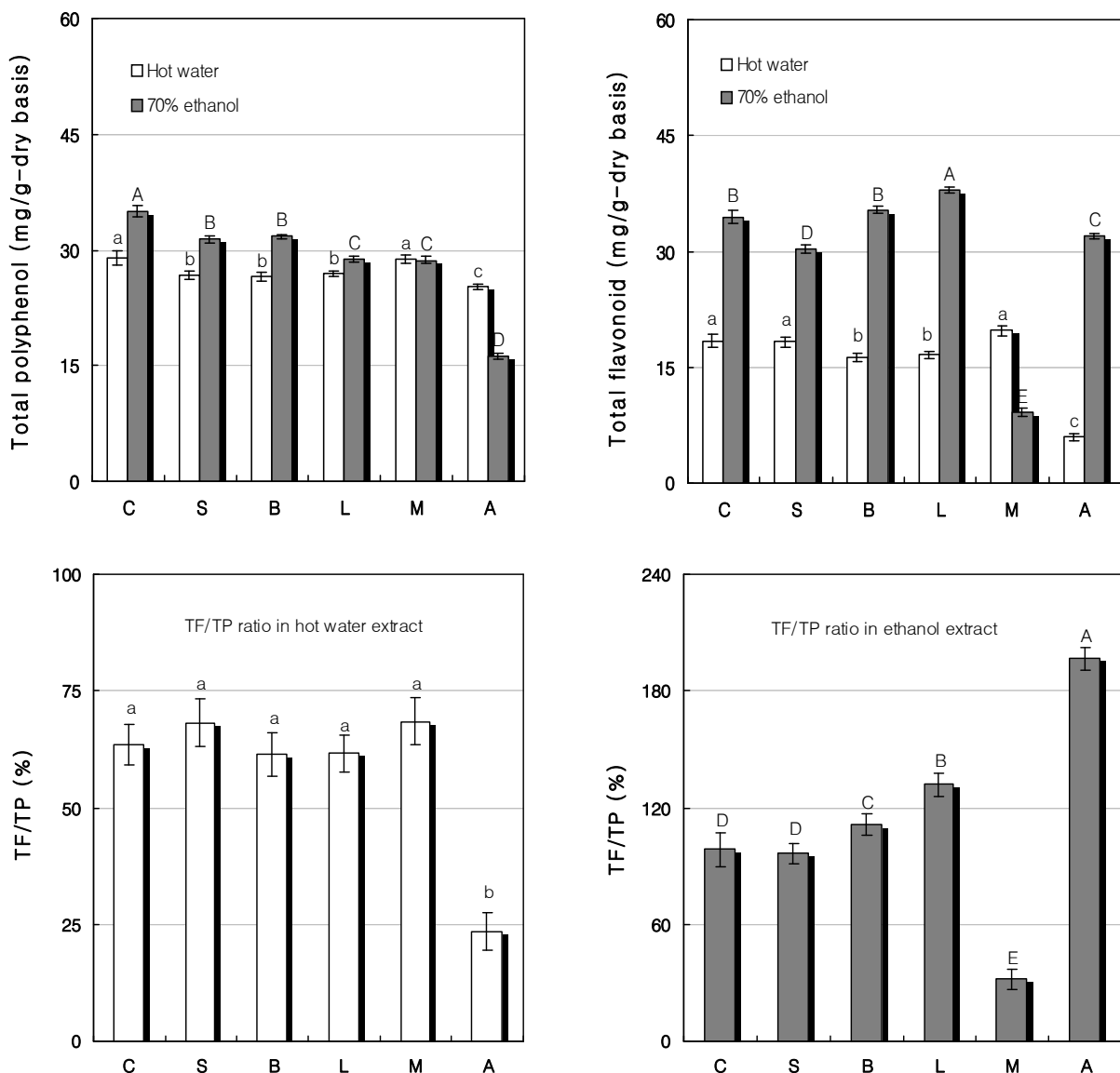
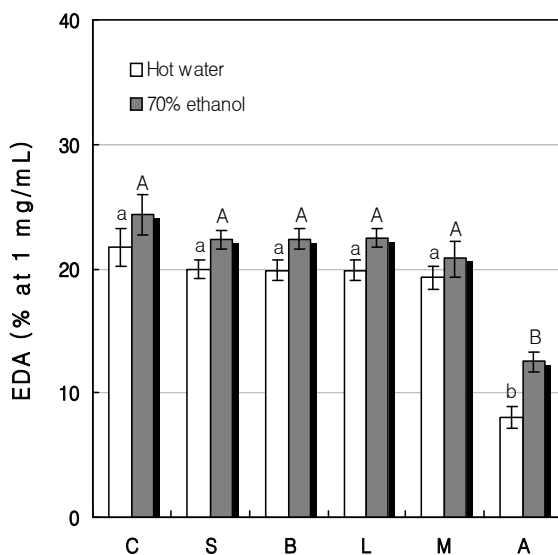


Fig. 2. Content of TP, TF and TF/TP (%) of *Smilax china* L. leaf tea extracts fermented by various microorganisms. Abbreviations: See Fig. 1 and Table 1. Values are mean±standard deviation of triplicate determination, different letters on the bars (a~c, A~E) indicate significant differences ($p < 0.05$).

내었으나, M차 31.87%로 TF의 비율이 크게 감소하였으며, B 및 L차는 각각 111.45 및 131.84%, A차는 196.55%로 A차에서 TF의 함유비율이 가장 높았다. *A. oryzae*로 발효시킨 A차에서 TP 함량의 감소율이 가장 높은 반면, TF/TP(%)가 가장 높게 나타난 현상(Fig. 2)은 열수로 우려낸 A차의 적색화 현상(Table 1)과 관련이 있는 것으로 생각되며, flavonoid 이외의 에탄올 가용성 polyphenol 성분이 발효에 의하여 산화되어 색상성분을 생성한 것으로 보인다.

식물체에 널리 분포하는 polyphenol 성분은 항산화 및 항균작용을 비롯한 다양한 생리활성을 나타내며(Osawa 1994), polyphenol성 물질의 함량이 높을수록 항산화력이 높아진다(Holasova 등 2002). 발효차의 polyphenol 성분의 함량은 발효도, 발효기간, 발효방법 등에 따라서 정도의 차이는 있으나, 일반적으로 감소하는 것으로 알려져 있다(Lee 등 2012). 이러한 현상은 catechin과 같은 polyphenol 성분이 발효에 의하여 flavonoid로 전환한다는 보고와 일치한다(Lee 등 2012). 발효에 의하여 이러한 기능성의 polyphenol 성분들이 감소함에도 불구하고, 세계적으로 발효차의 이용율이 높은 것은 polyphenol 성분이 떫은맛을 띠고 소화작용을 억제하며, polyphenol성분의 함량이 높을수록 과산화수소의 함량이 높다는 사실과도 관련이 있으나(Arakawa 등 2004), 새로운 기능성 성분들이 생성됨과 동시에 기호성이 높아진다는 많은 보고(Zuo 등 2002; Nguere 등 2009)와도 관련이 있을 것으로 생각된다.

4. Electron donating ability(EDA) 및 Ferric reducing antioxidant power(FRAP)



청미래덩굴잎 발효차 열수 및 에탄올 추출물의 EDA 및 FRAP를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 열수 및 에탄올 추출물 (1 mg/mL)의 EDA는 C차에서는 각각 21.74% 및 24.29%를 나타내었으나, S, B, L 및 M차의 열수 추출물은 19.25~19.90%, 에탄올 추출물은 20.77~22.48%로 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 C차와의 유의차를 보이지 않았다. 그러나 A차에서는 열수 추출물에서 8.04%, 에탄올 추출물에서 12.49%로 C차에 비하여 각각 63.02% 및 48.58%가 감소되었다. 열수 추출물의 FRAP(Fe^{2+} $\mu\text{mole/g}$ dry basis)는 대조구인 C차에서는 4.38로 높은 활성을 나타내었으며, S, B, L 및 M차와의 유의적인 차이를 보이지 않았으나, A차에서는 3.93으로 C 및 M차 보다는 다소 낮은 활성을 보였다. 에탄올 추출물의 FRAP는 C차에서는 5.84로 B, L 및 M차(5.47~5.81)와 비슷한 값을 나타내었으나, A차에서는 3.96으로 다소 낮은 활성을 나타내었다.

청미래덩굴잎 발효차 중에서 특히 A차에서 전자공여능과 환원력이 다소 낮게 나타난 현상은 A차에 polyphenol 함량이 발효에 의하여 감소되는 현상과 관련이 있는 것으로 사료된다. Torel 등(1986)은 phenolic acid, flavonoid 등 polyphenol 성분은 항산화력을 나타내는 지표성분으로 함량이 많을수록 높은 전자공여능을 나타낸다고 하였다. Ko & Yang(2011)은 청미래덩굴잎 열수 및 70% 에탄올 추출 농축물(1 mg/mL)의 전자공여능이 각각 33.6% 및 92.3%로 여타 식물체 추출물에 비하여 현저하게 높은 활성을 나타낸다고 하였다.

이상의 결과, 청미래덩굴잎 발효차의 EDA 및 FRAP는 비발효차에 비하여는 다소 낮으며, 특히 A에서 다소 높은 감소율을 보이나, 이러한 감소는 차의 농도가 0.1%이었을 때의

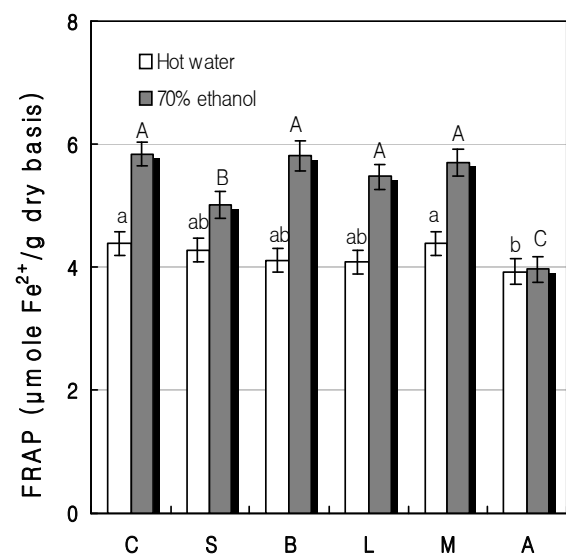


Fig. 3. EDA and FRAP of *Smilax china* L. leaves tea extracts (dried tea sample 1 mg/mL) fermented by various microorganisms. Abbreviations: See Fig. 1 and Table 1. Values are mean±standard deviation of triplicate determination, different letters on the bars (a~c, A~E) indicate significant differences ($p < 0.05$).

값으로 1%로 우린 차로 환산할 경우에는 매우 높은 활성을 가지고 있음을 나타낸다.

전자공여능은 체내에서 생성되는 ROS에 전자를 공여함으로써 산화를 막는 항노화 활성을 나타내는 지표이며(Choi 등 2003), 환원력은 산화물을 원래의 상태로 환원시키는 힘으로 항산화력을 나타내는 중요한 지표로 활용되고 있으며(Song 등 2006), 전자공여능이 클수록 환원력도 높아지는 것으로 알려져 있다(Kang 등 1995).

5. Ferrous iron chelating activity(FICA) 및 Lipid peroxidation inhibitory activity(LPOIA)

청미래덩굴잎 및 그 발효차의 열수 및 70% 에탄올 추출물의 FICA와 LPOIA를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. ICA(%), 1 mg/ml의 경우, C차에서는 열수 추출물(3.18%)보다 에탄올 추출물(26.82%)이 8.43배나 높았으며, 여타 발효차에서도 정도의 차이는 있으나 동일한 경향을 나타내었다. 발효차 열수 추출물의 ICA는 S, B, L, M에서는 2.18~4.28%로 C차와 유의적인 차이를 보이지 않았으나, A차에서는 10.13%로 가장 높았다. 에탄올 추출물은 모든 발효차가 C차에 비하여 낮은 활성을 나타내었으나, 그중에서 A차는 14.84%로 여타 발효차에 비하여 높았다. LPOIA는 200 µg/ml의 아주 낮은 농도에서 열수 추출물은 37.08~41.42%, 에탄올 추출물은 28.66~32.57%로 활성을 나타내었으며, 열수 추출물보다 에탄올 추출물이 다소 높았으며, 차의 종류에 따른 유의차는 보이지 않았다.

생체막이나 식품에 존재하는 불포화지방산은 철과 같은

금속이온에 의하여 산화가 촉진되어 지질과산화물을 생성되며, 이것은 쉽게 분해되어 aldehyde, ketone, lactone 등 다양한 독성물질을 생성하는 것으로 알려져 있다(Hur 등 2004). 이상의 결과, 청미래덩굴잎 또는 이를 발효시킨 차의 열수 및 에탄올 추출물은 1 mg/ml의 낮은 농도에서 iron chelating 활성을 나타내며, 이 농도의 1/5 농도인 200 µg/ml에서 상당히 높은 지질과산화 억제활성을 나타냄을 알 수 있다. 특히, *A. oryzae*로 발효시킨 A차는 아름다운 색상과 함께 종합적인 기호도 등에서 발효차로서의 품질특성을 나타내면서도 비교적 높은 LPOIA를 나타냄으로써 산화적 스트레스로 인한 세포조직의 손상을 경감시킬 수 있는 기능성 차로서의 활용성이 기대된다.

6. Xanthine oxidase inhibitory activity(XOIA) 및 aldehyde oxidase inhibitory activity(AOIA)

청미래덩굴잎 발효차 추출물이 토끼 간 조직으로부터 부분 정제한 xanthine oxidase(XO) 및 aldehyde oxidase(AO)에 대한 저해활성을 나타내는 XOIA 및 AOIA를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. C차 열수 추출물의 1 mg/ml 농도에서의 XOIA는 9.20%를 나타내었으며, 발효차인 S, M 및 A차는 각각 3.8%, 7.74% 및 4.83%를 나타내었다. 그러나 동일농도의 에탄올 추출물에서의 XOIA는 C 및 A차가 각각 19.00 및 17.00%를 나타내었고, M, S 및 B차는 각각 12.50, 11.00 및 10.50%를 나타내었다. 1 mg/ml 농도에서의 AOIA도 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비하여 전반적으로 높은 활성을 보였으며, 열수 추출물 중 A 및 L차는 각각 43.78 및 42.60%로 C차(48.52%)와 유의

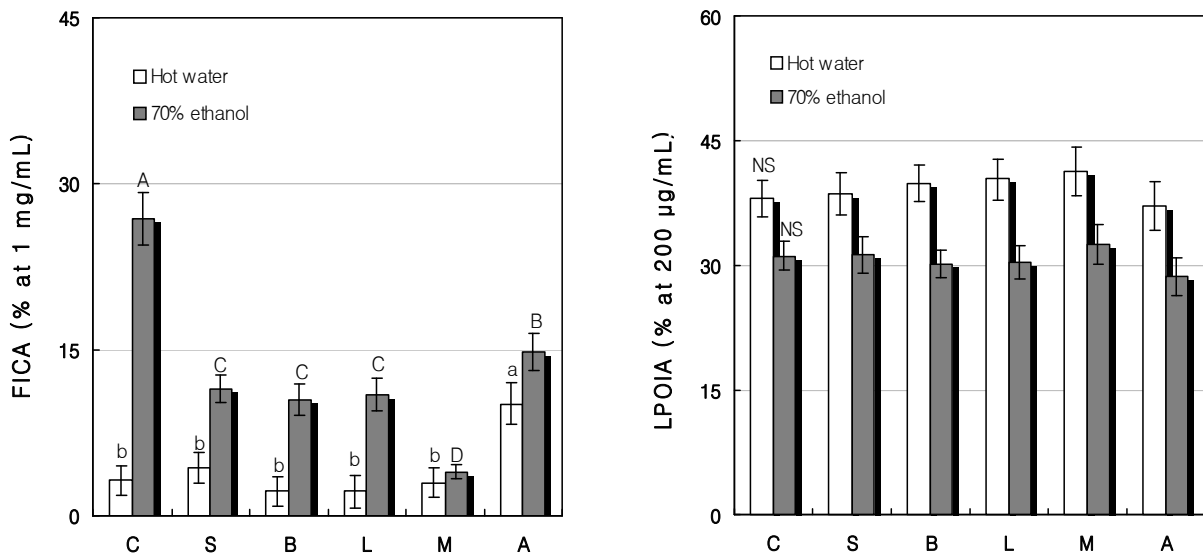


Fig. 4. FICA and LPOIA of *Smilax china* L. leaves tea extracts (dried tea sample 1 mg/ml and 200 µg/ml, respectively) fermented by various microorganisms. Abbreviations: See Fig. 1 and Table 1. NS: not significant. Values are mean±standard deviation of triplicate determination, different letters on the bars (a-c, A-D) indicate significant differences ($p < 0.05$).

차가 없었다. 그리고 B, M, S차는 각각 37.27, 30.17 및 21.89%를 나타내었다. 에탄올 추출물의 AOIA는 A차(61.41%)가 대조구인 C차(66.93%)와 대등한 활성을 나타내었으며, 다음으로 B, S 및 L차가 각각 58.26, 52.75 및 52.75%로 비슷하였으며, M차는 44.09%이었다. 이와 같이 청미래덩굴잎과 이를 발효시킨 차에서는 XO 저해활성에 비하여 AO 저해활성이 높으며 발효차에서도 비발효차와 대등한 수준으로 활성이 유지되었다.

청미래덩굴 뿌리 추출물은 *in vivo*에서 노산의 생성에 관여하는 XO의 활성을 저해함으로써 관절염 및 통풍치료에 효과가 인정되고 있으나(Chena 등 2011), *in vitro*에서의 연구가 보이지 않으며 특히 잎 추출물에 대한 관련 연구는 없다.

생체 내에서 AO와 XOD는 기질특이성에서는 약간의 차이를 보이지만, 생화학적으로 대단히 유사한 특성을 가지는 효소(Turner 등 1995; Yamaguchi 등 2007)로 N-heterocyclic compound인 pyrimidine, purine, pteridine 유도체(Maia & Mira 2002; Garattini 등 2009) 및 lipophilic aromatic compound(Krenitsky 1978)들을 산화시킬 뿐만 아니라 및 식품, 음료 및 화장품 속에 함유된 azo dye(Stoddart & Levine, 1992), 항암제(Fabre 등 1986; Yee & Pritsos 1997; Rashidi 등 2007; Itoh 2009)와 항고혈압제(Dambrova 등 1998)의 환원적 활성화에도 관여하고 있으며, AO는 XOD가 결핍된 경우에는 allopurinol과 pyrazinamide 등의 대사에도 관여한다(Reiter 등 1990; Moriwaki 등 1993). 또한 이들 효소들은 분자상 산소를 전자수용체로 이용하여 superoxide와 hydrogen peroxide 등과 같은 ROS를 생성함으로써, ROS 관련 질병(Sahinoglu 등 1996; Wright & Repine, 1997;

Wright 등 1999; Kundu 등 2007)과 에탄올(Kato 등 1990; Shaw & Jayatilke, 1990; Mira 등 1995) 및 thioacetamide와 chloroform 등과 같은 간독소에 의한 간손상(Ali 등 2008)의 발생에도 관여하는 것으로 알려져 있어 병태생리학적인 측면에서 관심의 대상이 되고 있다. 한편, AO는 adipocyte의 분화와 지질의 저장 및 adiponectin의 분비에 관여하는 것으로 보고되고 있다(Weigert 등 2008). 또, 항비만 adipokine인 adiponectin에 의해 AO의 활성이 저하되며(Neumeier 등 2006), 고지방식이 및 에탄올성 지방간의 생성에도 관여한다(Shaw & Jayatilke 1990).

Saiced 등(2006)은 flavonoids를 포함한 polyphenols은 항산화작용과 함께 특정효소의 활성을 저해함으로써 여러 가지 질환의 치료에 사용되며, flavonoid의 aglycone이 XO 및 AO의 활성을 저해한다는 보고가 있으며(Pirouzpanah 등 2006; Pirouzpanah 등 2009; Rashidi & Nazemiyeh 2010), 발효에 의하여 다양한 flavonoid의 aglycone화 가능성을 나타낸다.

따라서 이상의 결과는 Tayama 등(2010)이 녹차 1%를 함유하는 음료에서 AOIA가 73.9~90.0%라는 보고를 미루어 볼 때 청미래덩굴잎 및 그 발효차 열수 추출물은 비록 에탄올 추출물에 비하여는 다소 낮은 활성을 가지나 0.1%의 발효차에서도 EDA, FRAP, FICA, LPOIA, XOIA 및 AOIA를 가짐으로서 마시는 기능성 차로서의 활용이 기대된다.

요 약

본 연구에서는 청미래덩굴(*Smilax china* L.) 잎을 이용한 기호

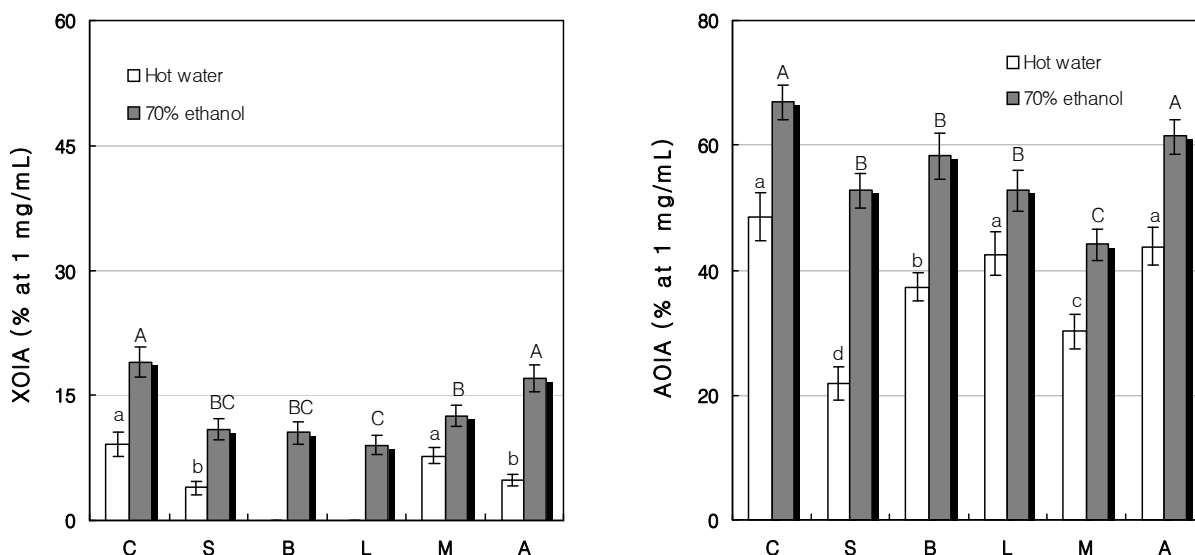


Fig. 5. XOIA and AOIA of *Smilax china* L. leaves tea extracts (dried tea sample 1 mg/mL) fermented by various microorganisms. Abbreviations: See Fig. 1 and Table 1. Values are mean±standard deviation of triplicate determination, different letters on the bars (a~c, A~E) indicate significant differences ($p < 0.05$).

성이 증진된 발효차 제조를 시도하였다. 균주로 *Saccharomyces cerevisiae*(S), 청국장으로부터 분리한 *Bacillus*속 혼합미생물(B), *Bifidobacterium bifidus*(L), *Monascus pilosus*(M) 및 *Aspergillus oryzae*(A)를 사용하여 발효차(S, B, L, M, A)를 제조하였으며, 발효시키지 않은 청미래덩굴잎(C)과의 품질특성과 항산화와 관련된 total polyphenol(TP) 및 total flavonoid(TF) 함량과 활성 산소 소거계 활성으로 electron donating ability(EDA), ferric reducing antioxidant power(FRAP), ferrous iron chelating ability(FICA) 및 lipid peroxidation inhibitory activity(LPOIA)와 활성 산소 생성계 효소인 xanthine oxidase의 inhibitory activity(XOIA) 및 aldehyde oxidase의 inhibitory activity(AOIA)의 변화를 조사하였다. 열수로 1% 농도로 우려낸 발효차의 색상은 A차는 적색을 띠었으나, 그 외의 모든 차는 황색을 띠었다. 차의 향, 맛, 밝기 및 종합적인 기호도는 A차 3.95점, M차 3.30점으로 평가되었으며, 그 외 S, B, L차는 2.55~2.28점으로 C차와 유사하였다. C차 열수 추출물의 TP 및 TF 함량은 각각 28.94 및 18.39 mg/g, 에탄올 추출물에서는 각각 34.97 및 34.44 mg/g 이었다. 발효차는 C차에 비하여 TP의 함량이 낮았으나, 에탄올 가용성 flavonoid 함량에는 큰 변화를 보이지 않았다. 특히 A차는 수용성 TF 함량과 에탄올 가용성 TP의 함량이 낮았다. 청미래덩굴잎 및 그 발효차 열수 및 에탄올 추출물의 EDA(1 mg/ml)는 19.25~22.48%이었으나, A차는 8.04~12.49%이었다. C차 열수 및 에탄올 추출물의 FRAP(Fe^{2+} $\mu\text{mole/g}$ dry basis)는 4.38~5.84이었으며, S, B, L, M 및 A차와 대등하였다. FICA는 발효차 중에서는 A차가 높았으며, 여타 차는 발효차와 비발효차 간의 유의차가 없었다. LPOIA는 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 아주 낮은 농도에서 열수 추출물은 37.08~41.42%, 에탄올 추출물은 28.66~32.57%를 나타내었고, 열수 추출물보다 에탄올 추출물이 다소 높았으며, 차의 종류에 따른 유의차는 보이지 않았다. 열수 및 에탄올 추출물(1 mg/ml)의 XOIA 및 AOIA는 모두 에탄올 추출물에서 높은 경향을 보였다. 열수 추출물에서의 XOIA는 C, S, M 및 A차에서는 4.83~9.20%이었으나, B 및 L차에서는 나타나지 않았으며, 에탄올 추출물에서는 9.00~19.00%이었다. AOIA는 열수 추출물은 30.17~48.52%, 에탄올 추출물은 44.09~66.93으로 정도의 차이는 있으나, 발효차에서도 비교적 높은 활성을 나타내었다.

이상의 결과, 청미래덩굴잎 발효차의 항산화 활성은 비발효차에 비하여 다소 감소하는 경향을 나타내며, 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비하여 높은 활성을 나타내었다. 특히, 발효에 의하여 TP와 TF의 감소율이 높으나, 관능적 품질이 비교적 양호한 것으로 나타난 A차 열수 추출물(0.1%)에서도 FRAP, FICA, LPOIA 및 AOIA와 같은 항산화 지표들의 활성이 나타나, 기능성 발효차로서의 이용가능성이 높은 것으로 평가되었다.

참고문헌

- Ali S, Pawa S, Naime M, Prasad R, Ahmad T, Farooqui H, Zafar H. 2008. Role of mammalian cytosolic molybdenum Fe-S flavin hydroxylases in hepatic injury. *Life Sci* 82:780-788
- Arakawa H, Maeda M, Okubo S, Shimamura T. 2004. Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biol Pharm Bull* 27:277-281
- Bana JY, Choa SO, Koh SB, Song KS, Bae KW, Seong YH. 2006. Protection of amyloid protein (25-35)-induced neurotoxicity by methanol extract of *Smilaxis chinae* rhizome in cultured rat cortical neurons. *J Ethnopharmacol* 106:230-237
- Banerjee A, Dasgupta N, De B. 2005. *In vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem* 90:727-733
- Barr JT, Jones JP. 2011. Inhibition of human liver aldehyde oxidase: Implications for potential drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos* 39:2381-2386
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Carr MC. 2003. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2404-2411
- Cha BC, Lee EH. 2007. Antioxidant activities of flavonoids from the leaves of *Smilax china* Linne. *Kor J Pharmacogn* 38:31-36
- Chen CH, Chan HC, Chang YN, Liu BL, Chen YS. 2000. Effects of bacterial strains on sensory quality of Pu-erh tea in an improved pile-fermentation process. *J Sens Stud* 24:534-553
- Chen Y, Wang Q, Li B, Li L, Pan LN, Huang Y. 2008. Study on identification and quality for *Smilax china* L. of compound gout granules. *Asia-Pacific Traditional Medicine* 4:237-239
- Chena L, Yina H, Lanb Z, Maa S, Zhanga C, Yanga Z, Li P, Linc B. 2011. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. *J Ethnopharmacol* 135:399-405
- Choi CH, Song ES, Kim SJ, Kang MH. 2003. Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. methanol extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35:1216-1220
- Choi HY. 2004. Antimicrobial effect of ethanol extract of *Smilax china* leaf. *Korean J Sanitation* 19:22-30

- Dambrova M, Uhle'n S, Welch CJ, Wikberg JES. 1998. Identification of an N-hydroxyguanine reducing activity of xanthine oxidase. *Eur J Biochem* 257:178-184
- De Haan JB, Cristiano F, Iannello RC, Kola I. 1995. Cu/Zn-superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 35:1281-1297
- Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-amino salicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch Biochem Biophys* 315: 161-169
- Fabre G, Seither R, Goldman D. 1986. Hydroxylation of 4-aminofolates by partially purified aldehyde oxidase from rabbit liver. *Biochem Pharmacol* 35:1325-1330
- Garattini E, Fratelli M, Terao M. 2009. The mammalian aldehyde oxidase gene family. *Human Genomics* 4:119-130
- Halliwell B. 2006. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 59:1609-1623
- Hashim MS, Lincy S, Remya V, Teena M, Anila L. 2005. Effect of polyphenolic compounds from *Coriandrum sativum* on H₂O₂-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Food Chem* 92:653-660
- Herbert A, Jeol LS. 1993. Sensory Evaluation Practices. 2nd ed. pp.68-94. Academic Press
- Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, Orsak M, Lachman J, Vavreinova S. 2002. Buckwheat the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Res Int* 35:207-211
- Hur SJ, Ye BW, Lee JL, Ha YL, Park GB, Joo ST. 2004. Effect of conjugated linoleic acid on color and lipid oxidation of beef patties during cold storage. *Meat Sci* 66:771-775
- Itoh K. 2009. Individual and strain differences of aldehyde oxidase in the rat. *Yakugaku Zasshi* 129:1487-1493
- Jeon SM, Bok SH, Jang MK, Lee MK, Nam KT, Park YB, Rhee SJ, Choi MS. 2001. Antioxidative activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci* 69:2855-2866
- Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J Food Sci Technol* 27:978-984
- Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N, Lieber C. 1990. Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Gastroenterology* 98:203-210
- Kitamura S, Sugihara K, Ohta S. 2006. Drug-metabolizing ability of molybdenum hydroxylases. *Drug Metab Pharmacokinet* 21:83-98
- Ko MS, Yang JB. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of *Smilax china* leaf extracts. *Korean J Food Preserv* 18: 764-772
- Krenitsky TA. 1978. Aldehyde oxidase and xanthine oxidase-functional and evolutionary relationships. *Biochem Pharmacol* 27:2763-2764
- Kundu TK, Hille R, Velayutham M, Zweier JL. 2007. Characterization of superoxide production from aldehyde oxidase: an important source of oxidants in biological tissues. *Arch Biochem Biophys* 460:113-121
- Lee MY, No HK, Kim SD, Prinyawiwatkul W. 2007. Quality of Chungkukjangs prepared with various *Bacillus* strains. *Int J Food Sci Technol* 42:587-592
- Lee YK, Lee SI, Kim JS, Yang SH, Lee IA, Kim SD, Suh JW. 2012. Antioxidant activity of green tea fermented with *Monascus pilosus*. *J Appl Biol Chem* 55:19-25
- Maia L, Mira L. 2002. Xanthine oxidase and aldehyde oxidase: A simple procedure for the simultaneous purification from rat liver. *Arch Biochem Biophys* 400:48-53
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem* 91:571-577
- Minussi RC, Rossi M, Bologna L, Cordi L, Rotilio D, Pastore GM, Duran N. 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chem* 82:409-416
- Mira L, Maia L, Barreira L, Manso CF. 1995. Evidence for free radical generation due to NADH oxidation by aldehyde oxidase during ethanol metabolism. *Arch Biochem Biophys* 318:53-58
- Moon SH, Lee MK, Chae KS. 2001. Inhibitory effects of the solvent fractions from persimmon leaves on xanthine oxidase activity. *Kor J Food Nutr* 14:120-125
- Moriwaki Y, Yamamoto T, Nasako Y, Takahashi S, Suda M, Hiroishi K, Hada T, Higashino K. 1993. *In vitro* oxidation of pyrazinamide and allopurinol by rat liver aldehyde oxidase. *Biochem Pharmacol* 46:975-981
- Neumeier M, Weigert J, Schäffler A, Weiss TS, Schmidl C, Büttner R, Bollheimer C, Aslanidis C, Schöolmerich J, Buechler C. 2006. Aldehyde oxidase 1 is highly abundant in hepatic steatosis and is downregulated by adiponectin and fenofibric acid in hepatocytes *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 350:731-735

- Ngre MF, Wanyokob JK, Mahungua SM, Shitandia AA. 2009. Catechins depletion patterns in relation to theaflavin and thearubigins formation. *Food Chem* 115:8-14
- Osawa T. 1994. Novel natural antioxidant for utilization in food and biological system. In *Postharvest Biochemistry of Plant Food Material in the Tropics*. pp.241-251. Japan Scientific Societies Press
- Owuor PO, Obanda M, Nyirenda HE, Mphangwe NIK, Wright LP, Apostolides Z. 2006. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. *Food Chem* 97:644-653
- Park GY, Lee SJ, Lim JG. 1997. Effects of green tea catechin on cytochrome p450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26:901-907
- Pirouzpanah S, Hanaee J, Razavieh SV, Rashidi MR. 2009. Inhibitory effects of flavonoids on aldehyde oxidase activity. *J Enzyme Inhib Med Chem* 24:14-21
- Pirouzpanah S, Rashidi MR, Delazar A, Razavieh SV, Hamidi A. 2006. Inhibitory effects of *Ruta graveolens* L. extract on guinea pig liver aldehyde oxidase. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 54:9-13
- Rajagopalan KV, Fridovich I, Handler P. 1962. Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J Biol Chem* 237: 922-928
- Rashidi MR, Beedham C, Smith JS, Davaran S. 2007. *In vitro* study of 6-mercaptopurine oxidation catalysed by aldehyde oxidase and xanthine oxidase. *Drug Metab Pharmacok* 22: 299-306
- Rashidi MR, Nazemiyeh H. 2010. Inhibitory effects of flavonoids on molybdenum hydroxylases activity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 6:133-152
- Reiter S, Simmonds HA, Zöllner N, Braun SL, Knedel M. 1990. Demonstration of a combined deficiency of xanthine oxidase and aldehyde oxidase in xanthinuric patients not forming oxipurinol. *Clin Chim Acta* 187:221-234
- Ruan HL, Zhang YH, Zhao W, Tan YF, Sun ZL, Wu JZ. 2002. Studies on the chemical constituents of *Smilax china* L. *Natural Product Research and Development* 14:35-36
- Sahinoglu T, Stevens CR, Bhatt B, Blake DR. 1996. The role of reactive oxygen species in inflammatory disease: Evaluation of methodology. *Methods* 9:628-634
- Saieed P, Reza RM, Abbas D, Seyyedvali R, Aliasghar H. 2006. Inhibitory effects of *Ruta graveolens* L. extract on guinea pig liver aldehyde oxidase. *Chem Pharm Bull* 54:9-13
- Shao B, Guo H, Cui Y, Ye M, Han J, Guo D. 2007. Steroidal saponins from *Smilax china* and their anti-inflammatory activities. *Phytochem* 68:623-630
- Shaw S, Jayatilke E. 1990. The role of aldehyde oxidase in ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in the rat. *Biochem J* 268:579-583
- Shu XS, Gao ZH, Yang XL. 2006. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Smilax china* L. aqueous extract. *J Ethnopharmacol* 103:327-32
- Song HS, Park YH, Jung SH, Kim DP, Jung YH, Lee MK, Moon KY. 2006. Antioxidant activity of extracts from *Smilax china* root. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35:1133-1138
- Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 244:3855-3863
- Stoddart AM, Levine WG. 1992. Azoreductase activity by purified rabbit liver aldehyde oxidase. *Biochem Pharmacol* 43:2227-2235
- Tayama Y, Sugihara K, Sanoh S, Miyake K, Morita S, Kitamura S, Ohta S. 2010. Effect of tea beverages on aldehyde oxidase activity. *Drug Metab Pharmacokin* 26:94-101
- Torel J, Gillard J, Gillard P. 1986. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochem* 25:383-385
- Turner NA, Doyle WA, Ventom AM, Bray RC. 1995. Properties of rabbit liver aldehyde oxidase and the relationship of the enzyme to xanthine oxidase and dehydrogenase. *Eur J Biochem* 232:646-657
- Ueda O, Sugihara K, Ohta S, Kitamura S. 2005. Involvement of molybdenum hydroxylases in reductive metabolism of nitro polycyclic aromatic hydrocarbons in mammalian skin. *Drug Metab Dispos* 33:1312-1318
- Weigert J, Neumeier M, Bauer S, Mages W, Schnitzbauer AA, Obed A, Gröschl B, Hartmann A, Schäffler A, Aslanidis C, Schöolmerich J, Buechler C. 2008. Small-interference RNA-mediated knock-down of aldehyde oxidase 1 in 3T3-L1 cells impairs adipogenesis and adiponectin release. *FEBS Lett* 582:2965-2972
- Wright RM, McManaman JL, Repine JE. 1999. Alcohol-induced breast cancer: a proposed mechanism. *Free Rad Biol Med* 26:348-354

- Wright RM, Repine JE. 1997. The human molybdenum hydroxylase gene family: co-conspirators in metabolic free-radical generation and disease. *Biochem Soc Trans* 25:799-804
- Wu LS, Wang XJ, Wang H, Yang HW, Jia AQ, Ding Q. 2010. Cytotoxic polyphenols against breast tumor cell in *Smilax china* L. *J Ethnopharmacol* 130:460-464
- Xu Y, Liang JY, Zou ZM. 2008. Studies on chemical constituents of rhizomes of *Smilax china* L. China. *J Chinese Materia Medica* 21:119-121
- Yamaguchi Y, Matsumura T, Ichida K, Okamoto K, Nishino T. 2007. Human xanthine oxidase changes its substrate specificity to aldehyde oxidase type upon mutation of amino acid residues in the active site: roles of active site residues in binding and activation of purine substrate. *J Biochem* 141:513-524
- Yee SB, Pritsos CA. 1997. Comparison of oxygen radical generation from the reductive activation of doxorubicin, streptonigrin, and menadione by xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys* 347:235-241
- Zuo YG, Chen H, Deng YW. 2002. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 57:307-313
-
- 접 수 : 2012년 10월 6일
최종수정 : 2012년 11월 5일
채 택 : 2012년 11월 8일