

단마와 장마 영여자의 항산화능 및 항돌연변이 활성 검정

박정섭, 이정호¹, 방극수^{2*}전라북도 농식품인력개발원, ¹송호대학교 동의건강복지과, ²전북대학교 한약자원학과Evaluation of Antioxidant Capacity and Antimutagen Activity of
Bulbil Extracts of the *Dioscorea japonica* Decaisne and
Dioscorea batatas DecaisneJeong Seob Park, Jung Ho Lee¹ and Keuk Soo Bang^{2*}

Agri-Food Human Resources Development Institute, Jeonbuk Provincial Government, Gimje 576-911, Korea

¹Department of Oriental Medicine & Health Welfare, Songho College, Hoengseong 225-704, Korea²Department of Oriental Medicine Resources, Chonbuk National University, Iksan 570-749, Korea

Abstract - The bulbil of the *Dioscorea* species is produced, the amount of which is 2,000 tons annually, but it has been discarded without specific use. In this study the antioxidant and antimutagenicity of bulbil of the *Dioscorea*, which compared to bulbil of Danma(*Dioscorea japonica* Decaisne) and Jangma(*Dioscorea batatas* Decaisne), a major domestic cultivation species. The study was done by extracting bulbil of the *Dioscorea* methanol and the methanol extracts was re-extracted with chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol and water. In methanol extract of Danma and Jangma, polyphenolic compounds contained 2.2 and 3.9 mg/g extract, respectively. The ethyl acetate fraction of Danma and Jangma had higher polyphenolic contents of 33.9 and 39.1 mg/g, whereas water fractions were much lower at 2.4 and 5.8 mg/g. Determination of antioxidant activity showed that the ethylacetate fraction strong DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity. The inhibitory effects of methanol extracts and chloroform, ethylacetate, *n*-butanol, water fraction from bulbil of Danma and Jangma on the mutagenicity in 1-NP, AFB₁, Trp-P-1 were investigated using *S. typhimurium* TA98. Danma and Jangma cultivars decreased the reverse mutation induced by 1-NP, AFB₁, Trp-P-1 in *S. typhimurium* TA98. The fraction of chloroform and ethylacetate showed strong inhibitory effects, in a dose dependant manner against the mutagenicities induced by 1-NP, AFB₁, Trp-P-1 in *S. typhimurium* TA98.

Key words - Bulbils of *Dioscorea*, Polyphenol, Antioxidant, Antimutagenicity

서 언

마는 마과(*Dioscoreaceae*)에 속하는 덩굴성 다년생 식물로 10속 650여종 이상이 있으며 식용으로 약 50종이 알려져 있다(Kim *et al.*, 2009; Kum *et al.*, 2006; Yang *et al.* 2009). 열대와 아열대 지역에 널리 분포하고 있는 마는 지하부에 형성된 덩이줄기를 생체나 익혀서 식용으로 하며, 한방에서는 마를 말린 것을 산약이라 하여 한약재로 사용하고 있다(Yang *et al.* 2009; Jang *et al.*, 1999). 또한 영여자는 마의 줄기에 열리는 주아로 양분을 저장하며

무성적으로 새로운 개체를 이룰 수 있으며 오래전부터 허리와 다리를 보하는 약재로 이용되어왔다. 이러한 마는 국내에서는 연간 5,000톤 정도가 생산되고 있으며, 영여자는 그 절반인 2,000~2,500톤이 생산(Kim *et al.*, 2008)되고 있으나 식품원료로 이용되지 못해 거의 버려지고 있는 실정이다.

마의 품종으로는 *D. pentaphylla*, *D. batatas*, *D. deltoidea*, *D. alata*, *D. villosa*, *D. japonica* Thunberg, *D. alata* L., *D. nipponica* Makino, *D. batatus* Decne, *D. bulbifera* L. 및 *D. tokoro* Makino 등이 있으며, 주로 단마(*D. japonica* Decaisne)와 장마(*D. batatas* Decaisne)

*교신저자(E-mail) : ksbang@chonbuk.ac.kr

가 재배되고 있다(Kim *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009). 마의 효능으로는 항암, 항염, 항진균 및 혈당 강하, 콜레스테롤 저하효과, 항당뇨, 혈당강화, 지질분해효소저해 활성 및 항돌연변이원성 등(Kim *et al.*, 2001; Kwon *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 1995; Han *et al.*, 1990; Hironaka *et al.*, 1990)의 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 한의학적으로 마와 유사한 기능을 나타내는 것으로 알려진 영여자에 대한 연구로는 Fu *et al.*(2006) 등에 의해 지방 0.44%, 조섬유 5.5%, 조단백 12.7%, 전분 71.9%, 회분 5.2%, allantoin과 allantoic acid가 0.197%와 0.297%가 함유되어 있다는 보고와 Kum *et al.*(2006) 등에 의해 장마(*D. batatas* Decaisne)에서 생산된 영여자로부터 3종의 phenanthrene와 2종의 phenanthraquinones 화합물이 분리되었으며 이 중 6,7-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene는 가장 높은 항진균 활성을 나타냄을 보고되었을 뿐 기능성에 대한 연구는 매우 미진한 실정이다.

한편 민간에서는 영여자를 이용해 조림 등의 식재료로 이용하거나, 발효 효소액 제조, 침출주 제조에 이용하기도 한다. 그러나 영여자는 식품원재료로 인정받지 못해 폭넓게 이용되지 못하고 있어 대부분 버려지고 있다. 특히 영여자는 마를 생산하는 과정에서 발생하는 부산물로서 종사로서도 가치를 인정받지 못해 산업적이용에 한계를 나타내고 있다. 따라서 본 연구에서는 영여자에 대해 생리활성평가의 기초적연구라 할 수 있는 항산화 및 항돌연변이원성을 평가하여 학문적 관심과 식품으로서의 이용률을 높이고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용된 단마와 장마 영여자는 경북 안동에서 재배된 것을 실험용 재료로 사용하였다. 흡광도는 흡광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)을 이용하여 측정하였으며, 항산화 평가를 위한 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox, 97%), Folin-Ciocalteu's phenol reagent, ferrozine, potassium ferricyanide, gallic acid, linoleic acid는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였으며, 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH)와 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic

acid) (ABTS)는 Wako Chemical(Richmond, VA, USA)의 제품을 사용하였다. 돌연변이원인 aflatoxin B1(AFB1), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b] indole(Trp-P-1) 등은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품을, 1-nitropyrene (1-NP)은 Wako Chemical(Richmond, VA, USA)제품을 사용하였으며, *Salmonella typhimurium* TA98 (*hisD3052*)은 한국생명공학연구원 유전자은행으로부터 분양 받아 사용하였다.

시료의 제조

단마와 장마품종에서 채취한 영여자를 3~4차례 증류수로 수세하여 이물질을 제거하고 동결건조를 하여 80mesh로 분쇄하였다. 분쇄한 영여자에 10배(w/v)의 80%메탄올을 이용하여 3반복 추출한 후 메탄올을 제거하고 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물층 순으로 분획을 하여 -20°C에 보관 하면서 실험용 시료로 사용하였다.

폴리페놀 함량 측정

단마와 장마 영여자의 폴리페놀 함량은 Seo *et al.*(2011)와 Slinkard *et al.*(1977)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 영여자 80% 메탄올 추출물과 분획물 200 µL과 증류수 1.8 mL, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 200 µL를 혼합하여 5분간 반응시킨다. 이 반응액에 7% Na₂CO₃ 2 mL과 증류수 0.8 mL를 혼합하고, 실온에서 90분 동안 반응시킨 다음 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 gallic acid를 증류수에 용해시켜 위와 같은 방법으로 측정하여 작성하였다.

DPPH 라디칼 소거활성

전자공여능(electron donating ability)은 Kim *et al.*(2001)와 Rhim *et al.*(2009)의 방법을 일부 변형하여 실시하였다. 즉, 0.15 mM 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 1 mL에 시료용액을 농도별로 0.1 mL을 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 517 nm에서 absorbance (ABS)를 측정하여 다음 식에 의하여 전자공여능을 평가하였다. 각 시료의 농도에 따른 DPPH 라디칼을 소거하여 잔존하는 DPPH라디칼을 50% 줄일 수 있는 농도(EC₅₀)로 계산하였다.

ABTS 라디칼 소거활성

단마와 장마 영여자의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정 (Re *et al.*, 1999; Woo *et al.*, 2008)하기 위하여, 0.15 M NaCl을 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 용해시킨 후 1 mM의 AAPH와 2.5 mM의 ABTS를 넣는다. AAPH와 ABTS가 섞인 시약을 water bath (68°C)에서 15 분 이상 반응시켜(녹색) 흡광도(ABS)를 734nm에서 0.650 이 되도록 0.15 M NaCl을 0.1 M potassium phosphate buffer (pH7.4)로 조정하였다. 이에 일정한 농도로 용해시킨 영여자 추출물 20 µL과 980 µL ABTS 용액을 혼합 한 후 이를 암실에서 37°C, 10분간 반응시켜 734nm에서 ABS 측정하였다.

자동산화 억제효과

단마와 장마 영여자의 자동산화 억제활성은 Igarashi *et al.*(1993)과 Hayase *et al.*(1984)의 방법을 일부 변경하여 측정하였다. 즉 에탄올을 이용하여 제조한 2.51% linoleic acid용액 1 mL과 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 2 mL, 증류수 1 mL를 혼합한다. 이에 일정 농도의 영여자 추출물을 혼합하여 지질과산화 반응용액을 제조한 다음, 반응용액을 40°C 항온수조에서 보관하면서 24시간마다 시료를 채취하여 과산화물가를 측정하였다.

항돌연변이원성 시험

항돌연변이원성 실험은 Ames test를 개량한 preincubation 방법(Ames *et al.*, 1983)을 변형하여 실시하였다. 즉, 미리 멸균시킨 시험관에 변이원 50 µL, 0.1 M sodium phosphate buffer 0.5 mL(0.5% S9 mix 0.5 mL), 고구마 추출물 50 µL와 Oxoid nutrient broth No.2에 하룻밤 배양시킨 균 배양액($1\sim 2 \times 10^9$ CFU/mL, OD 0.4) 100 mL를 혼합하고, 37°C에서 210 rpm으로 20분간 진탕 배양하였다. 배양액에 미리 준비해 둔 0.5 mM histidine과 biotin을 함유한 top agar 2 mL를 혼합한 후 minimal glucose agar plate[agar 15 g, 멸균수 930 mL, 50 × VB salt 20 mL, 40% glucose 50 mL] 상에 도포, 평판 고화시킨 다음, 37°C에서 48시간 배양하여 발생한 복귀 돌연변이주(his^+ revertant colony)의 수를 계수하여 항돌연변이원성을 평가하였다. 항돌연변이 효과(억제율)는 $[(M-S_1) / (M-S_0)] \times 100$ 으로 계산하였고, 돌연변이원 만을 첨가하였을 때 복귀 돌연변이주의 수를 M, 자연 복귀 돌연변이주의 수

를 S_0 , 돌연변이원과 시료를 첨가했을 때의 복귀 돌연변이주의 수를 S_1 으로 나타내었다. 각각의 실험은 2반복 2 plate 씩 실시하였다.

결과 및 고찰

단마와 장마 품종 영여자의 항산화성 평가

단마와 장마 영여자의 항산화성을 비교하기 위해 80%메탄올 추출물과 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물층에 대한 폴리페놀함량과 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였으며, 그 결과는 Table 1과 같다.

단마와 장마 영여자 80% 메탄올의 폴리페놀함량은 2.2와 3.9 mg/g로 장마에서 높은 함량을 나타내었다. 또한 영여자의 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물별 폴리페놀함량은 단마 영여자에서 11.5, 33.9, 3.9, 2.4 mg/g을 장마 영여자에서는 19.6, 39.1, 7.4, 5.8 mg/g을 나타내어 에틸아세테이트 분획물과 장마 영여자에서 높은 함량을 나타내었다. Ahn *et al.*(2009)은 *D. batatas* Decne 품종의 영여자에서 메탄올추출물과 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에서 각 60.6, 12.6, 27.5, 17.2, 4.0 mg/g의 폴리페놀함량을 나타내 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 본 연구에 있어서 에틸아세테이트 분획물에서 높은 함량을 나타내었으며, 단마보다는 장마에서 비교적 높은 폴리페놀함량을 나타내 유사한 결과를 나타냈다.

그리고 단마와 장마 영여자의 DPPH 라디칼 소거능에서 단마 영여자의 80% 메탄올 추출물 및 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물은 200.8, 38.8, 14.8, 75.4, 1297 µg에서 EC_{50} 을 나타내었으며, 장마 영여자에서 84.0, 23.6, 9.2, 27.6, 2400 µg에서 EC_{50} 을 나타내었다. Ahn *et al.*(2009)은 *D. batatas* Decne 품종의 영여자에서 메탄올추출물과 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에서 376.3, 180.9, 38.1, 161.4, 1,000 µg/mL에서 EC_{50} 을 나타내어 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 활성을 나타내었다. 본 연구에 있어서는 단마보다는 장마 영여자에서, 분획물 중에서는 에틸아세테이트 분획물에서 가장 강한 활성을 나타내었다.

또한 ABTS 라디칼 소거능에서 단마 영여자는 각 2.34, 0.52, 0.13, 0.93, 9.4 mg을 장마 영여자에서는 0.95, 0.32, 0.09, 0.42, 7.6 mg을 나타내어 단마보다는 장마

Table 1. Antioxidant activity of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne

	Cultivars	80% MeOH ex.	Fraction			
			CHCl ₃	EtOAc	BuOH	Water
Polyphenol contents (mg/g)	DJB ¹⁾	2.2(± 0.1) ³⁾	11.5(± 0.4)	33.9(± 1.8)	3.9(± 0.1)	2.4(± 0.1)
	DBD ²⁾	3.9(± 0.2)	19.6(± 0.8)	39.1(± 2.2)	7.4(± 0.4)	5.8(± 0.2)
DPPH radical scavenging activity(μg)	DJB	200.8(± 7.9)	38.8(± 3.6)	14.8(± 0.6)	75.4(± 1.6)	> 1000
	DBD	84.0(± 2.6)	23.6(± 2.0)	9.2(± 0.2)	27.6(± 0.8)	> 1000
	Vit. C			3.3 μg		
ABTS radical scavenging activity(mg)	DJB	2.3(± 0.2)	0.5(± 0.02)	0.13(± 0.02)	0.93(± 0.1)	9.4(± 0.5)
	DBD	0.9(± 0.04)	0.3(± 0.04)	0.09(± 0.04)	0.42(± 0.04)	7.6(± 0.4)
	Vit. C			1.2 μg		

¹⁾*D. japonica* Decaisne

²⁾*D. batatas* Decaisne

³⁾Mean±standard deviation of triplicate

* EC₅₀ is half-inhibition concentration.

영여자에서 강한 활성을 나타냈으며, 분획물 중에서는 에틸아세테이트 분획물에서 강한 활성을 나타내었다.

단마와 장마 영여자의 지질과산화 억제효과

단마와 장마 영여자의 지질과산화 억제효과를 비교하기 위해 80%메탄올 추출물과 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에 대한 지질과산화 억제효과를 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 1과 같다.

장마와 단마 영여자는 80%메탄올 추출물에서는 유사한 지질과산화 억제효과를 나타내었으며 부탄올과 물 분획물에서는 매우 낮은 지질과산화 억제효과를 나타냈다(data not shown). 그러나 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에서는 높은 지질과산화 억제효과를 나타내었다(Fig 1). 특히 장마 영여자의 에틸아세테이트 분획물은 강한 억제효과를 나타냈으며, 단마 영여자의 클로로포름 분획물이 가장 낮은 억제효과를 나타냈다. 폴리페놀함량과 지질과산화 억제효과와의 상관관계에 있어서 폴리페놀함량이 높은 장마 영여자에 높은 억제효과를 나타내었으며, 클로로포름 분획물 보다는 에틸아세테이트 분획물에서 높은 억제효과를 나타내어 폴리페놀함량이 높은 수록 강한 억제효과를 나타낸 것으로 판단된다.

한편 지질과산화는 자유라디칼에 의해 세포벽의 지질로부터 전자를 가져옴으로서 세포에 손상을 가져오며, 연쇄반응에 의해 연속적으로 진행된다. 지질과산화의 억제는

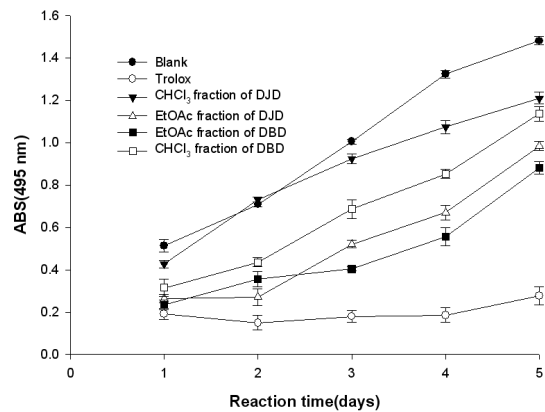


Fig. 1. Antioxidant activity of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne in linoleic acid emulsion system. Concentration of EtOAc and CHCl₃ fractions were 1 μL (50 μg/50 μL), Trolox was 50 μL (1 mM).

천연 항산화물질, SOD, catalase peroxidase 등에 의해 대부분 제거되지만, 그렇지 않을 경우 돌연변이, 발암, 세포괴사 등을 일으켜 암의 원인이 되기도 한다(Medvedev, 1990; Orr et al., 1994).

장마와 단마 품종 영여자의 항돌연변이원성 평가

단마와 장마 영여자의 항돌연변이원성을 비교하기 위해 영여자 80% 메탄올 추출물을 이용하여 1-NP, AFB₁, Trp-P-1를 돌연변이원으로 한 *S. typhimurium* TA98에 대한

Table 2. Inhibitory effect of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne on the mutagenicity of 1-NP and AFB₁, Trp-P-1

Fraction	Conc. (mg/plate)	Mutagens					
		1-nitropyrene		aflatoxin B1		Trp-P-1 ¹⁾	
		DJB ²⁾	DBD ³⁾	DJB	DBD	DJB	DBD
80%MeOH extract	0.5	18.6(± 2.4) ⁴⁾	18.6(± 1.0)	9.2(± 0.4)	28.4(± 2.6)	20.4(± 2.0)	21.5(± 1.6)
	1.0	37.5(± 4.0)	31.7(± 1.8)	24.5(± 1.2)	53.9(± 2.6)	37.9(± 3.6)	56.8(± 3.8)
CHCl ₃ fr.	0.5	73.4(± 3.2)	79.2(± 2.4)	86.0(± 1.8)	89.5(± 0.8)	84.8(± 2.8)	90.6(± 2.4)
EtOAc fr.	0.5	51.5(± 2.8)	36.4(± 1.8)	89.8(± 2.6)	78.6(± 1.4)	82.7(± 4.0)	78.4(± 1.6)
BuOH fr.	1.0	6.4(± 3.4)	12.5(± 2.4)	3.6(± 3.6)	3.4(± 3.6)	25.5(± 3.6)	4.2(± 2.2)
Water fr.	1.0	3.3(± 1.8)	7.2(± 3.6)	0.2(± 2.2)	2.0(± 2.4)	9.8(± 1.4)	3.8(± 3.6)

¹⁾3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole

²⁾*D. japonica* Decaisne

³⁾*D. batatas* Decaisne

⁴⁾Mean±standard deviation of triplicate

돌연변이 억제효과를 시험하였으며, 그 결과는 Table 2와 같다.

단마 영여자 80%메탄올 추출물의 1-NP, AFB₁, Trp-P-1의 돌연변이원에 대해 돌연변이 억제효과는 1 mg/plate 농도에서 37.5, 24.5, 37.9%이었으며, 장마 영여자는 31.7, 53.9, 56.85%의 돌연변이 억제효과를 나타내 장마 영여자 메탄올 추출물이 높았다. 또한 1-NP, AFB₁, Trp-P-1의 돌연변이원에 대한 단마와 장마 영여자의 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물의 돌연변이 억제효과를 관찰하였으며, 그 결과는 Table 2와 같다. 단마 영여자 분획물은 1-NP를 돌연변이원으로 하였을 경우 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물의 농도가 0.5 mg/plate 일때 73.4, 51.5%의 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 부탄올과 물 분획물에서는 1.0 mg/plate에서 6.4와 3.3%의 돌연변이 억제효과를 나타내 클로로포름과 에틸아세이트 분획물에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 또한 장마 영여자 분획물에서는 79.3, 36.4, 12.5, 7.2%의 돌연변이 억제효과를 나타내어 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 그리고 단마와 장마 영여자 분획물의 AFB₁에 대해 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물은 86.0, 89.8%와 89.5, 78.6%로 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며 부탄올과 물 분획물에서는 낮은 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 또한 Trp-P-1에 대한 돌연변이 억제효과는 클로로포름 분획물과 에틸아세테이트 분획물에서 84.8, 82.7%와 90.6, 78.4%로 높

은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 부탄올과 물 분획물에서는 낮은 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 이러한 결과로부터 1-NP, AFB₁, Trp-P-1에 대한 단마와 장마 영여자 분획물은 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타내는 것으로 판단되었다. 각 돌연변이원에 대한 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물의 농도변화에 따른 돌연변이 억제효과를 평가하였다.

1-NP(1-nitropyrene)에 대한 돌연변이 억제효과

1-NP를 돌연변이원으로 한 *S. typhimurium* TA98에 대해 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물과 에틸아세테이트 분획물의 농도에 따른 돌연변이 억제효과를 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

단마 영여자 클로로포름 분획물의 농도가 100, 250, 500, 750, 1000 μg/plate일 때 1-NP에 대한 돌연변이 억제효과는 4, 47, 73, 79, 82%의 돌연변이 억제효과를, 에틸아세테이트 분획물에서는 1, 24, 51, 53, 57%의 돌연변이 억제효과를 나타내 농도 의존적으로 증가하였다. 또한 장마 영여자 클로로포름 분획물은 24, 48, 79, 86, 89%의 돌연변이 억제효과를, 에틸아세테이트 분획물은 3, 12, 36, 48, 56%의 돌연변이 억제효과를 나타내 용량 의존적으로 증가하였다. 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물은 에틸아세테이트 분획물 보다 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 단마와 장마 영여자 간에는 큰 차이를 나타내지 않았다.

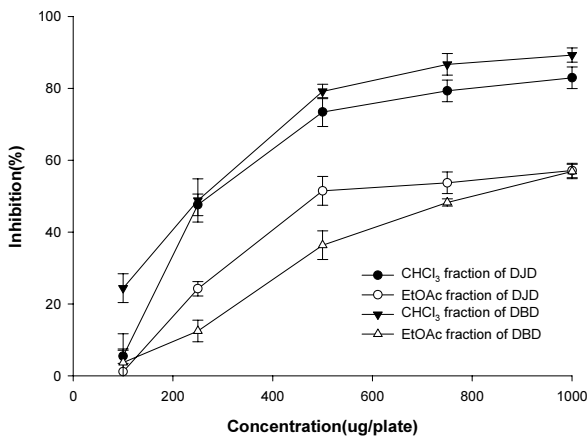


Fig. 2. Dose-dependently antimutagenic effect of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne on the mutagenicity of 1-NP in *S. typhimurium* TA98.

1-nitropyrene(1-NP)는 디젤엔진이나 화석연료의 불완전 산화에 의해 많이 발생되는 니트로화합물로 대도시의 대기 57 pg/m³ 존재하는 것으로 알려져 있으며, 호흡을 통해서만 인체에 흡입되며 산소와 결합하여 고리를 형성한 다음 DNA와 결합되어 돌연변이를 일으키는 물질이다(Mary *et al.*, 1989).

AFB₁(Aflatoxin B₁)에 대한 돌연변이 억제효과

AFB₁을 돌연변이원으로 한 *S. typhimurium* TA98에서 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물과 에틸아세테이트 분획물의 농도에 따른 돌연변이 억제효과를 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다.

단마 영여자 클로로포름 분획물의 농도가 100, 250, 500, 750, 1000 μg/plate일 때 16, 53, 85, 85, 94, 95%의 돌연변이 억제효과를, 에틸아세테이트 분획물에서는 7, 19, 75, 89, 90, 91%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 또한 장마 영여자 클로로포름 분획물은 33, 68, 83, 89, 93, 95%의 돌연변이 억제효과를, 에틸아세테이트 분획물에서는 9, 20, 54, 78, 83, 83%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 즉 단마와 장마 영여자는 분획물 종류에 따라 유사한 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 에틸아세테이트 분획물 보다는 클로로포름 분획물에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다.

AFB₁에 의한 암 유발 원인은 생체내 간의 microsomal enzyme system 가운데 mixed function oxidase에 의해 대사활성되어 친전자성인 핵산이나 단백질과 함께 첨가 생

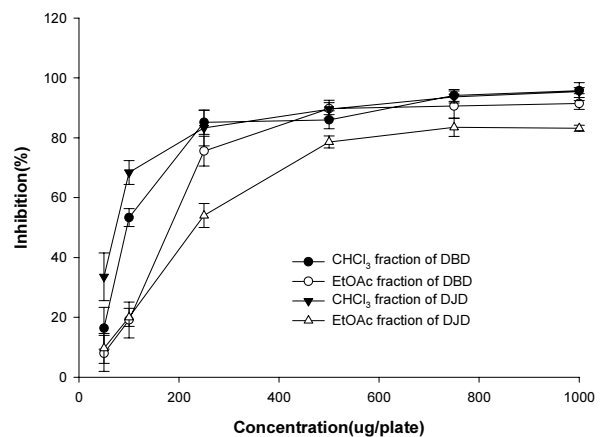


Fig. 3. Dose-dependently antimutagenic effect of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne on the mutagenicity of aflatoxin B₁ in *S. typhimurium* TA98.

성물들은 형성함으로써 불활성 또는 돌연변이를 일으키며, 인체에 노출될 경우 강한 발암원으로 간암 발생율을 60배나 증가시킨다(Eaton *et al.*, 1989).

Trp-P-1에 대한 돌연변이 억제효과

Trp-P-1을 돌연변이원으로 한 *S. typhimurium* TA98에서 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물과 에틸아세테이트 분획물의 농도에 따른 돌연변이 억제효과를 관찰하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다.

단마 영여자 클로로포름 분획물의 농도가 100, 250, 500, 750, 1000 μg/plate일 때 16, 55, 81, 84, 89, 91%의 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 에틸아세테이트 분획물에서는 9, 22, 57, 82, 87, 89%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 또한 장마 영여자 클로로포름 분획물은 30, 65, 83, 90, 93, 93%의 돌연변이 억제효과를 에틸아세테이트 분획물에서는 9, 24, 78, 90, 92%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물은 에틸아세테이트 분획물보다 비교적 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 품종간에는 유사한 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)은 심장의 모세관이나 관상동맥과 결합하고, 신장에서는 사구체의 모세혈관 및 소동맥과 결합하며, 이는 P450A1의 BNF-inducible enzyme에 의해 활성화됨과 동시에 헤테로 고리형 아민으로 변형되어 돌연변이원으로 작용한다(Cartwright *et al.*, 1983). 특히 이러한 Trp-P-1은 단백질과 지방을 다량 함유하고 있는 생선이나

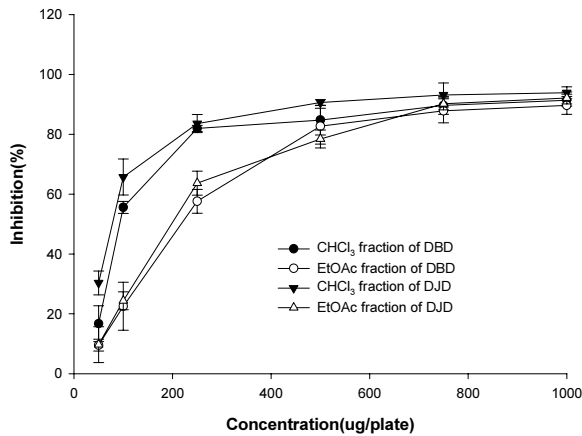


Fig. 4. Dose-dependently antimutagenic effect of bulbils of *D. japonica* Decaisne and *D. batatas* Decaisne on the mutagenicity of Trp-P-1 in *S. typhimurium* TA98.

패스푸드에서 발견되는 돌연변이원으로서 섭취할 수밖에 없는 물질 중에 하나로 여겨지고 있다.

영여자는 오래전부터 한약재나 음식의 재료로 사용되어 왔으며, 효능과 성분에 있어서도 마와 유사하다. 그러나 식품원재료로 인정받지 못해 식품개발에 한계를 가지고 있을 뿐만 아니라 생리활성 등 학문적 연구도 매우 미진한 실정이다. 따라서 본 연구자는 영여자의 연구소재로서의 가치와 기능성식품소재로서의 국내에서 주로 재배되고 있는 단마와 장마 영여자에 대한 항산화 및 항돌연변이원성을 평가하였다. 그 결과 단마와 장마 영여자는 생리활성과 밀접한 관계를 갖고 있는 총폴리페놀함량에 있어서 비교적 높은 함량을 나타내었으며, 분획물 중에는 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 함량을 나타냈다. 총폴리페놀함량이 높은 에틸아세테이트 분획물은 DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거능에서 가장 강한 활성을 나타내었다. 또한 지질과산화 억제효과에서 단마와 장마 영여자 80% 메탄올 추출물과 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에서 지질과산화 억제효과를 나타냈으며, 부탄올과 물 분획물에서는 매우 낮은 억제효과를 나타냈다. 단마와 장마 영여자의 비교에 있어서는 장마 영여자 추출물이 비교적 높은 항산화활성을 나타냈다.

그리고 단마와 장마 영여자의 항돌연변이원 평가에 있어서 돌연변이원을 1-NP, AFB₁, Trp-P-1로 하였을 때 *S. typhimurium* TA98에 대해서 80% 메탄올 추출물과 클로로포름, 에틸아세테이트 분획물에서 항돌연변이원성을 나타냈다. 단마와 장마 영여자 분획물의 항돌연변이원성 비교

· 평가에 있어서 1-NP를 돌연변이원으로 하였을 경우 항산화평가와 달리 유사한 항돌연변이원성을 나타냈으며, 클로로포름 분획물이 다소 높은 항돌연변이원성을 나타냈다. 또한 AFB₁을 돌연변이원으로 하였을 경우 단마보다는 장마 영여자에서, 에틸아세테이트 보다는 클로로포름 분획물에서 높은 항돌연변이원성을 나타냈다. 그리고 Trp-P-1에 대한 단마와 장마 영여자 클로로포름 분획물은 에틸아세테이트 분획물보다 비교적 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 단마보다는 장마 영여자에서 다소 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 현재 영여자에 대한 세균시험계를 이용한 항돌연변이원성은 보고된 사례가 없으며, 영여자와 유사할 것으로 판단되는 마(*D. batatas* Decene)에 관해서 Lee *et al.*(1995)은 benzo(a)pyrene, sodium azide에 대해서는 높은 돌연변이 억제효과를 2-AF에 대해 낮은 돌연변이 억제효과를 보고하였다. 이와 같이 영여자는 암발생의 주요원인인 활성산소 소거능과 1-NP, AFB₁과 같은 돌연변이원에 대한 항돌연변이원성을 갖고 있어 기능성 식품 소재로서 충분한 가치를 갖고 있다. 특히 본 연구에 있어서 높은 항산화 활성 및 항돌연변이원성을 나타낸 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에 대한 유효성분이 규명되어야 할 것으로 판단된다. 아울러 영여자를 이용한 제품개발을 추진함으로써 소비를 확대 시켜야 할 것으로 사료된다.

적 요

단마와 장마 영여자에 대한 항산화 및 항돌연변이원성을 비교·평가하였다. 단마와 장마 영여자 80% 메탄올의 폴리페놀함량은 2.2와 3.9 mg/g로 장마에서 높았다. 또한 분획물에 있어서는 장마 영여자 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 함량을 나타냈다. 그리고 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 및 지질과산화 억제효과에 있어서는 총폴리페놀이 높은 장마와 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 활성을 나타냈다. 한편 단마와 장마 영여자 80%메탄올 추출물 1 mg/plate의 1-NP, AFB₁, Trp-P-1에 대한 항돌연변이원성은 *S. typhimurium* TA98(*hisD3052*)에서 37.5, 24.5, 37.9% 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 장마 영여자는 31.7, 53.9, 56.85%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 또한 분획물 중에는 단마와 장마 영여자 클로로포름과 에틸아세테이트 분획물에서만 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 농도 의존적으로 증가하였다.

사 사

본 연구는 사단법인 서동마 향토산업 사업단의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ahn, S.M., H.S. Jang, I.S. Kwun and H.Y. Sohn. 2009. Evaluations of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial bulbils of *Dioscorea batatas*. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 37:266-272.
- Ames, B.N. and D.M. Maron. 1983. Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test. Mut. Res. 113:173-215.
- Cartwright, R.A. 1983. Historical and modern epidemiological studies on populations exposed to *N*-substituted aryl compounds. Environ. Health Perspect. 49:13-19.
- Eaton, D.L. and E.P. Gallagher. 1994. Mechanism of aflatoxin carcinogenesis. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 34:135-1372.
- Fu, Y.C., L.H. Ferng and P.Y. Huang. 2006. Quantitative analysis of allantoin and allantoic acid in yam tuber, mucilage, skin and bulbil of the *Dioscorea* species. Food Chem. 94:541-549.
- Han, Y.N., S.H. Hahn and I.R. Lee. 1990. Purification of mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. japonica* and their content analysis. Korean J. Pharmacogn. 21:274-283.
- Hayase, F. and H. Kato. 1984. Antioxidative components of sweet potatoes. J. Nutr. Sci. Vit. 30:37-46.
- Hironaka, K., K. Takada and K. Ishibashi. 1990. Chemical composition of mucilage of chinese yam. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 37:48-51.
- Igarashi, K., T. Yoshida and E. Suzuki. 1993. Antioxidative activity of nasunin in Chouja-nasu (little eggplant, *Solanum melongena* L.'Chouja'). J. Japanese Soc. Food Sci. Technol. 40:138-143.
- Jang, S.M., S.H. Noh and S.D. Park. 1999. Botany of herbal medicine resources. Hakmun Publishing Ltd. Seoul. Korea. pp. 299-300.
- Kang, T.H., S.G. Choi, T.H. Lee, M.W. Son, J.H. Park and S.Y. Kim. 2008. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea rhizoma* (2) - prevention of diabetic neuropathy by NGF induction. Korean J. Food Nutr. 21:430-435.
- Kim, J.I., H.S. Jang, J.S. Kim and H.Y. Sohn. 2009. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 37:133-139.
- Kim, J.O., M.J. Jung, H.J. Choi, J.T. Lee, A.K. Lim, J.H. Hong and D.I. Kim. 2008. Antioxidant and biological activity of hot water and ethanol extracts from *Phellinus linteus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37:684-690.
- Kim, M.W. 2001. Effects of H₂O-fraction of *Dioscorea japonica* Thunb and selenium on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 17:344-352.
- Kim, S.M., Y.S. Cho and S.K. Sung. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 33:626-632.
- Kim, S.K., J.H. Won, S.M. Kang and I.J. Lee. 2009. Starch Properties of Chinese Yam, *Dioscorea opposita* Thunb. Korean J. Crop Sci. 54:198-202.
- Kum, E.J., S.J. Park, B.H. Lee, J.S. Kim, K.H. Son and H.Y. Sohn. 2006. Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. J. Life Sci. 16:647-652.
- Kwon, C.S., I.S. Son, H.Y. Shim, I.S. Kwun, and K.M. Chung. 1999. Effects of yam on lowering cholesterol level and its mechanism. Korean J. Food Nutr. 32:637-643.
- Kwon, E.G., E.M. Choe and S.J. Gu. 2001. Effects of mucilage from yam (*Dioscorea batatas* DECNE) on blood glucose and lipid composition in alloxan-induced diabetic mice. Korean J. Food Sci. Technol. 33:795-801.
- Lee, I.S., S.Y. Chung, C.S. Shim and S.J. Koo. 1995. Inhibitory effects of yam (*Dioscorea batatas* DECNE) extracts on the mutagenicity. Korean J. Soc. Food Sci. 11:351-355.
- Mary, C.C., A. Monika and C.H. Paul. 1989. Mutagenicity of the phenolic microsomal metabolites of 3-nitrofluoranthene and 1-nitropyrene in strains of *Salmonella typhimurium*. Mutat. Res. 210:263-269.
- Medvedev, Z.A. 1990. An attempt at a rational classification of theories of aging. Biol. Rev. 65:75-398.
- Orr, W.C. and R.S. Sohal. 1994. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. Science 263:1128-1130.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C.A. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26:1231-1237.
- Rhim, T.J. and M.Y. Choi. 2009. The antioxidative effects

- of Oregano(*Origanum majorana* L.) extracts. Korean J. Plant Res. 22:425-430.
- Seo, K.S. and K.W. Yun. 2011. Antimicrobial activity and total polyphenol content of extracts from *Artemisia capillaris* Thunb. and *Artemisia iwayomogi* Kitam. used as Injin. Korean J. Plant Res. 24:10-16.
- Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American J. Enol. Vitic. 28:49-55.
- Woo, J.H. and C.H. Lee. 2008. Effect of harvest date on antioxidant of *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum* (Maxim.) Kitam and *D. zawadskii* var. *yezoense*(Maek.). J. Plant Res. 21:128-133.
- Yang, M.H., K.D. Yoon, Y.W. Chin and J.W. Kim. 2009. Phytochemical and pharmacological profiles of *Dioscorea* species in Korea, China and Japan. Korean J. Pharmacogn. 40:257-279.
- (접수일 2011.11.8; 수정일 2012.1.17; 채택일 2012.2.28)