감마선 조사한 총목피(Aralia elata Cortex) 추출물의 생리활성

박혜진 $^{1} \cdot$ 이은호 $^{2} \cdot$ 김명욱 $^{3} \cdot$ 이선호 $^{4} \cdot$ 안동현 $^{5} \cdot$ 안봉전 $^{6} \cdot$ 권중호 $^{2} \cdot$ 조영제 2

¹내추럴에프앤피 연구개발부, ²경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소 ³경북해양바이오산업연구원, ⁴안동대학교 해양바이오산업연구소 ⁵부경대학교 식품공학과, ⁶대구한의대학교 화장품약리학과

Biological Activities of Extracts from Gamma-irradiated Aralia elata Cortex

Hye-Jin Park 1 , Eun-Ho Lee^2 , Myung-Uk Kim^3 , Seon-Ho Lee^4 , Dong-Hyun An^5 , Bong-Jeun An^6 , Joong-Ho $Kwon^2$, and Young-Je Cho^2

ABSTRACT Gamma irradiated-treatment of natural medicinal plants can be used to improve extraction transference number and for qualitative improvement of color when applied to functional material exploration. This study investigated the biological activities of Aralia elata cortex extracts upon gamma irradiation. In addition, different physical techniques [photostimulated luminescence (PSL) and thermoluminescence (TL)] were used for irradiation identification of Aralia elata cortex. In PSL analysis, non-irradiated (0 kGy) sample showed a negative result of 400 photon counts (PCs), whereas irradiated (5, 10, and 30 kGy) samples showed positive results of 90,100.00, 312,614.33, and 321,661.67 PCs, respectively. In the TL method, growth curve showed very unusual behaviors around 200°C upon natural-irradiation of the non-irradiated (0 kGy) sample and around 150~250°C for the irradiated (5, 10, and 30 kGy) samples. The TL ratio was 0.1 in non-irradiated samples at 0.011, whereas the values of irradiated samples (5, 10, and 30 kGy) were 0.1 at 1.105, 1.009, and 2.206, respectively. For phenolics of gamma-irradiated Aralia elata cortex, water and 50% ethanol extracts had the highest amounts, 17.30±0.40 mg/g and 18.87±0.46 mg/g at 10 kGy irradiation, respectively. The inhibitory activities of angiotensin-converting enzyme and xanthin oxidase were higher in both irradiated water and 50% ethanol extracts than in non-irradiated ones. For pancreatin α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities, water and 50% ethanol extracts containing 200 µg/mL of phenolics showed high inhibitory activities of 60~100% at all irradiation doses ($0 \sim 30$ kGy). This result confirmed that Aralia elata cortex extracts have greater anti-diabetic effects than acabose as a diabetic remedy. Gamma-irradiated Aralia elata cortex extracts are useful as a functional material with anti-diabetic effects. Thus, Aralia elata cortex extracts can be used as a functional material with various biological activities, and gamma-irradiation can be used to amplify biological activities in plants.

Key words: biological activities, Aralia elata cortex, extracts, gamma irradiation

서 론

최근 경제성장과 생활수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 고조되고 식품을 이용한 천연 항산화 소재 개발에 대한 관심이 높아지면서 식품을 이용한 생체방어, 노화억제, 질병

예방 등 생리활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 특히 천연 약용식물은 일부 성분들이 체내에서 유해 활성산 소를 감소시키는 생리활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있어, 이로부터 인체에 안전하고 질병을 예방할 수 있는 생 리활성을 가진 물질을 탐색하려는 연구가 활발히 이루어지 고 있다(2).

두릅나무(*Aralia elata* Seemann)는 Araliaceae(두릅나무과)에 속하는 낙엽관목으로 국내 전국 각지에 분포하며 봄철에 채취한 새순은 나물로 식용하고, 한의학에서는 두릅 나무의 뿌리나 줄기 껍질을 말린 것을 총목피(*Aralia elata*

Received 28 April 2014; Accepted 30 May 2014 Corresponding author: Young-Je Cho, School of Food Science & Biotechnology/ Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea E-mail: yjcho@knu.ac.kr, Phone: +82-53-950-7755 cortex)라 하여 혈당 저하 효과(3), 항균 효과(3), 간독성 완화 효과(4), 지질 저하 효과(5), 항산화 효과(6) 등 다양하 고 우수한 기능성 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있다. 또한 동물을 이용한 단회독성 실험을 통해서도 독성이 없는 것으로 확인되어 기능성 식품 및 소재로의 활용에 문제가 없는 것으로 밝혀지고 있다(7).

한편 방사선 조사는 식품 및 소재의 부패방지, 제품의 안 전성 및 보존성 향상의 효과가 보고되어 식품뿐만 아니라 제약, 의료 및 화장품 소재 등에 널리 사용되고 있는 친환경 적 기술이다(8-10). 방사선 조사 식품의 안전성은 국제 관 련 기구(FAO/IAEA/WHO)에서는 "평균 10 kGy 이하로 조 사된 모든 식품은 어떠한 독성학적 위해나 영양학적, 미생물 학적 문제를 일으키지 않는다"라고 결론을 내림에 따라 방 사선 조사 식품의 안전성이 국제적으로 인정되었다(11). 감 마선 조사 처리는 천연약용식물의 기능성 물질의 탐색에 적 용되어 추출수율을 증진시키고 첨가제 등으로의 사용에 적 합하도록 색상을 개선하면서도 본래 가지고 있던 생리활성 을 유지하여 산업적 응용을 용이하게 하는 방법으로도 알려 져 있다(12.13). 국내에서는 천연 약용식물에 대해 방사선 조사 처리가 허용되지 않고 있지만(14), 방사선 조사 처리를 통한 식품 및 기능성 소재로서의 활용도가 높아지리라 기대 되고 있다(15).

따라서 본 연구에서는 천연 약용식물인 총목피에 감마선을 조사 처리한 후 발광분석법(PSL, TL)에 의해 조사 여부를 판별하였으며 감마선 조사가 총목피 추출물의 추출수율과 생리활성에 미치는 영향을 검토하여 방사선 조사 처리를 통한 총목피의 기능성 소재로서의 활용도 향상을 시도하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 총목피(Aralia elata cortex)는 대구 소재의 시중 한약방에서 유통되는 국내산 한약규격품을 구입하였다. 시료의 방사선 조사 처리 확인시험을 위한 시료는 건조 포장된 시료를 세절하여 시료로 사용하였고, 시료의 생리활성 평가시험을 위한 시료는 40 mesh로 분쇄하여 4°C에서 저온 저장하면서 시료로 사용하였다.

시료의 감마선 조사 처리(irradiation)

시료의 감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구 소의 Co-60 감마선 조사시설(100 kCi point source, AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, Canada)을 이용하여 실온에서 시간당 일정한 선량 률로 0, 5, 10, 30 kGy의 총 흡수선량을 얻도록 하였으며 이때 흡수선량은 ceric/cerous dosimeter를 사용하여 확인 되었다. 열 발광 분석에서 재조사(re-irradiation)는 동일한 조사시설을 이용하여 1 kGy의 흡수선량을 얻도록 하였다.

시료의 감마선 조사 여부 확인을 위한 광자극 발광(pho-tostimulated luminescence, PSL) 분석

PSL 분석은 일반적으로 silicate나 bioinorganic material을 함유하는 식품에 대해 방사선 조사 여부를 screening 하는 방법으로 연구되었으며(16), 식품의약품안전처에서는 건조향신료(단, 육두구, 후추, 정향 제외), 고춧가루, 마늘, 양파에 대해서만 PSL 분석 적용을 고시(17)하고 있으나 허 브류에 속하는 약용식물에 대한 PSL 분석 적용은 아직 고시 되지 않고 있다. 따라서 약용식물 중 하나인 총목피에 대한 PSL 분석 적용 가능성을 검토하고자 실험을 진행하였다. 시료의 PSL 분석은 식품공전(17) 및 CEN 방법(16)에 준하 여 실시하였다. 실험은 차광된 조건에서 교차오염을 피하면 서 지름 50 mm 직경의 PSL 측정용 petridish에 시료를 세 절하여 동일한 양을 바닥이 보이지 않게 골고루 펼쳐 담아 준비하였으며, 전 처리한 시료를 PSL screening system (Serial 0021, Scottish Universities Research And Reactor Center, Glasgow, UK)을 이용하여 각 시료당 2회 반복 측정하였다. 이때 시험조작은 차광조건에서 실시하였 고 PSL 측정조건은 cycle 60 sec, dark count 21, light count 23이었다. 조사 여부 판단을 위한 threshold value는 T₁(700 count/60 sec) 미만이면 음성시료(negative, 비조 사 시료)로 판단하고 T₂(5,000 count/60 sec) 초과이면 양 성시료(positive, 조사 시료)로 판단하며, T₁과 T₂ 사이의 값은 중간시료(intermediate, 조사 여부를 판단할 수 없는 시료)로 판정하였다(16,18).

시료의 감마선 조사 여부 확인을 위한 열 발광(thermo-luminescence, TL) 분석

TL 분석은 식품이나 식품의 원료에 함유되거나 혼입된 이물질 형태로 존재하는 미네랄(silicate, feldspar, quartz 등)의 발광 특성을 응용하는 방법으로 미네랄의 방사선 흡수량에 따라 일정 온도 범위에서 독특한 TL glow curve를 나타내게 되어 방사선의 조사 여부는 일정한 온도의 범위에서 나타내는 glow curve와 이것을 적분하여 면적 값을 구해분석할 수 있다(19,20).

TL 분석은 식품공전(19) 및 CEN 방법(20)에 준하여 식품에 포함된 미네랄을 추출하여 분석하였다. 시료 50 g에 일정량의 증류수를 가하여 ultrasonic agitator(Power sonic 420, Whasin Tech, Daegu, Korea)에서 10분간 처리한후 nylon sieve를 이용해 수회 여과 및 세척후 검체로부터미네랄을 분리하였다. 분리한 미네랄을 2.0 g/mL sodium polytungstate 2.5 mL를 가해 유기물을 제거하고 증류수로세착한 다음 1 N HCl 2 mL를 처리하여 carbonate를 제거한후 1 N NH4OH 2 mL를 가해 중화시켰다. 중화된 미네랄을 증류수를 이용해 충분히 세척한후 acetone을 가하여몇차례 세척 및 건조한 다음 TL disc에 담아 50°C dry oven에서 하루 예열한후 측정하였다.

TL 측정은 외부 noise에 의한 영향을 받으므로 차광조건

Table 1. Analyzing condition for thermoluminescence

| Specification | Condition |
|----------------------|--------------------------|
| Flow gas | N ₂ (99.999%) |
| Final temperature | 400°C |
| Pre-heat temperature | 50°C |
| Heating rate | 5.00/sec |

에서 측정하며 TLD system(Harshaw 4500, Waltham, MA, USA)을 이용하여 50°C에서부터 400°C까지 5°C/sec 의 속도로 온도를 상승시키면서 측정하였다(Table 1). 측정 기기 자체의 noise 및 외부로부터의 noise를 제거하기 위하 여 고순도 질소가스(high pure 99.999% N₂ gas) 환경에서 측정하였다. 일반적으로 방사선이 조사된 시료는 150~250 °C 부근에서 최대강도를 보이는 glow curve를 나타내지만, 비조사구는 특징적인 glow curve를 나타내지 않거나 300°C 이상에서 자연방사선에 의한 곡선을 나타낸다(19). 따라서 TL 측정을 통해 얻은 glow curve의 면적값(150~ 250°C)을 TL₁으로 설정하고 재조사(1 kGy) 후 측정해 얻은 glow curve의 면적값을 TL2로 설정하여 방사선 조사 식품 이 나타내는 TL glow curve의 TL ratio(TL₁/TL₂)를 산출 하였다(20). 이러한 일련의 과정을 normalization이라 하며 이를 통해 산출된 TL ratio 값이 0.1 이하이면 비조사구로, 0.1 이상이면 조사구로 판단하였다(19,20).

감마선 조사된 총목피 추출물의 제조

생리활성 측정을 위한 시료 추출은 열수 추출의 경우 감마선을 선량별로 조사한 총목피 분말 1 g을 증류수 200 mL에 침지하여 추출물이 100 mL가 될 때까지 가열한 후 냉각하여 24시간 동안 교반 추출하였으며, ethanol 추출은 예비실험에서 추출률이 가장 높았던 50% ethanol을 사용하여 총목피 분말 1 g에 50% ethanol 100 mL를 첨가하여 24시간동안 shaking incubator에서 교반 추출하였다. 각 추출물은 Whatman No. 1 filter paper(Advantec, Tokyo, Japan)로여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Total phenolic 정량

추출물 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-Ciocalteu reagent 0.5 mL를 잘 섞어 5분간 방치한 후 Na_2CO_3 1 mL를 가하여 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다(21).

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해효과 측정

ACE 저해효과 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(22)에 의해 측정하였다. 반응구는 0.3 M NaCl을 함유한 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 녹인 기질액 2.5 mM hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma-

Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 0.15 mL와 시료 0.1 mL를 넣고, 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 종료시약 1 N HCl 0.25 mL를 가하고 ethyl acetate 3 mL를 첨가하였다. Ethyl acetate에 의해 분리된 이중층 중 상층액만 분취한 후 증류건조시켜 hippuric acid를 추출하고 추출된 hippuric acid를 2 mL의 증류수를 사용하여 재용해하여 흡광도 280 nm에서 측정하였다. ACE 저해효과는 다음 식으로 저해율을 측정하였다

Inhibition rate (%) =
$$\left(1 - \frac{\text{Hippuric acid content of sample}}{\text{Hippuric acid content of control}}\right) \times 100$$

Xanthin oxidase 저해효과 측정

Xanthine oxidase 저해효과 측정은 Stirpe와 Della Corte의 방법(23)에 준하여 측정하였다. 즉 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 녹인 기질액 2 mM xanthine 3 mL에 효소액(0.05 U/0.1 mL) 0.1 mL와 시료 0.3 mL를 넣고, 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.3 mL 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시키며, 종료시약 20% TCA 1 mL를 가한 후 반응액을 원심분리 하여 단백질을 제거하고 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

Inhibition rate (%) =
$$\left(1 - \frac{\text{Uric acid content of sample}}{\text{Uric acid content of control}}\right) \times 100$$

Pancreatin α-amylase 저해효과 측정

Pancreatin a-amylase 저해효과 측정은 agar diffusion 방법(24)에 준하여 측정하였다. Plate는 5 g의 agar와 5 g의 soluble starch를 증류수에 녹여 끓인 후 121°C로 15분간 멸균하고 15 mL씩 petridish에 붓고 굳혀 제작하여 사용하였다. 제작한 plate에 지름 10 mm disc paper를 올린 후시료액 0.8 mL와 효소액 0.2 mL(1,000 U/mL)를 혼합해 disc paper에 각각 분주하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 넣어 37°C에서 3일간 배양한 후 I₂/KI(5 mM I₂ in 3% KI) 3 mL를 가하여 15분간 발색시킨 후 다음의 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\frac{\text{Inhibition}}{\text{rate (\%)}} = \left(1 - \frac{\text{Area of sample}}{\text{Area of control}}\right) \times 100$$

α-Glucosidase 저해효과 측정

α-Glucosidase 저해효과 측정은 Tibbot과 Skadsen의 방법(25)에 준하여 측정하였다. 50 mM sodium succinate buffer(pH 4.2)에 ρ-nitrophenol-α-D-glucopyranoside (PNPG)를 용해시켜 1 mg/mL 농도로 기질을 만들고 기질 1 mL와 효소액 0.1 mL를 혼합하여 반응구에는 시료 0.1 mL를, 대조구에는 증류수 0.1 mL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시킨 후 발색시약 1 N NaOH 0.1 mL를 첨가하였다. 이때 생성된 ρ-nitrophenol을 표준곡선에 대입하여 양을 환

산하고 다음의 식으로 저해율을 구하였다.

$$\frac{Inhibition}{rate~(\%)} = \left(1 - \frac{\rho - Nitrophenol~content~of~sample}{\rho - Nitrophenol~content~of~control}\right) \times 100$$

Tyrosinase 저해효과 측정

Tyrosinase 저해효과 측정은 Hearing의 방법(26)에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 2.3 mL와 기질액 1.5 mM L-tyrosine 용액 0.4 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase(250 U/mL) 0.1 mL와 시료 0.2 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.2 mL를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시켜 흡광도 475 nm에서 측정하여 다음의 식에 의해 저해율을 계산하였다.

$$\frac{Inhibition}{rate (\%)} = \left(1 - \frac{Absorbance of sample}{Absorbance of control}\right) \times 100$$

Elastase 저해효과 측정

Elastase 저해효과 측정은 Kraunsoe 등의 방법(27)에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.2~M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 1~mL에 기질액 0.8~mM N-succinyl-(Ala) $_3$ -p-nitroanilide 용액 0.1~mL의 혼합액에 1.0~U/mL porcine pancreatic elastase(PPE) 효소용액 0.1~mL와 시료 0.1~mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1~mL를 첨가하여 25~C~M서 20분간 반응시켜 p-nitroaniline 생성량을 흡광도 410~mM에서 측정하여 다음 식에 의해 저해율을 계산하였다.

$$\frac{\text{Inhibition}}{\text{rate (\%)}} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

Hyaluronidase(HAase) 저해효과 측정

HAase 저해 활성 측정은 Reissig 등의 방법(28)에 준하여 sodium-hyaluronic acid(HA)로부터 형성된 N-acetyl-glucosamine을 glucoxazoline 유도체로 변형시킨 후 DMAB로 발색시켜 흡광도를 측정하였다. 즉 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 HAase(7,900 U/mL) 0.05 mL와 시료 0.1 mL를 혼합하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 12.5 mM CaCl₂ 0.1 mL를 가하고 혼합 후 다시 20분간 배양하였다. 기질로서 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 HA(12 mg/mL)를 첨가하여 다시 40분간 배양하고 0.4 N potassium tetraborate 0.1 mL와 0.4 N NaOH 용액 0.1 mL를

첨가하여 3분 동안 water bath에서 반응 후 완전히 냉각시켰다. 냉각시킨 반응액에 발색시약 DMAB 시약 3 mL를 가하여 37℃에서 20분간 반응시킨 후 600 nm에서 투과율(%)을 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

$$\frac{Inhibition}{rate (\%)} = \left(1 - \frac{Absorbance of sample}{Absorbance of control}\right) \times 100$$

통계처리

본 실험의 결과는 3회 반복하여 측정한 평균값을 나타내었으며 평균±표준편차로 나타내었다. 통계처리는 SPSS 7.5 for windows(Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 통계처리 하였고 분산분석(analysis of variance) 및 Duncan의 다중범위검 정법(Duncan's multiple range test)으로 95% 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

시료의 감마선 조사 여부 확인을 위한 광자극 발광(PSL) 및 열 발광(TL) 특성 판별

PSL은 감마선 조사 여부 확인을 위한 screening 목적으 로 사용되는 물리적 판별 방법 중 하나이다(29). 식품에 존 재하는 광물질은 감마선 조사에 의해 에너지를 저장하고 일 정한 온도의 적외선으로 자극하면 저장된 에너지를 방출하 는데, 이때 방출되는 빛에너지를 photon counts(PCs)로 계 산하여 감마선 조사 여부를 확인할 수 있다(29,30). 총목피 의 조사선량에 따른 PSL 측정 결과는 Table 2에서와 같이 비조사구에서 400.00 PCs로 700 PCs 이하의 수치를 나타내 음성(negative) 시료로 판단되었으며, 5 kGy에서 90,100.00 PCs, 10 kGv에서 312,614.33 PCs, 30 kGv에서 321,661.67 PCs로 5,000 PCs 이상의 수치를 나타내어 양성(positive) 시료로 확인할 수 있었다. 이는 허브류나 향신료 등 토양 유래의 무기성분이 충분히 포함된 식품군에 대한 screening 목적에 적합하다는 Kwon 등(29)의 보고와 유사한 결과 를 나타내었다. 또한 Kim 등(30)의 보고에 따르면 알로에 베라에 대해 PSL을 적용한 결과 조사선량이 증가함에 따라 유의적인 photon counts의 차이를 확인할 수 있으며 이러한 선량 의존적인 photon counts의 변화는 시료에 혼입된 미네

Table 2. Photostimulated luminescence determinations of gamma-irradiated Aralia elata cortex (Unit: photon count/60 sec)

| Comple | | Irradiati | ion dose (kGy) | |
|---------------------|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Sample | 0 | 5 | 10 | 30 |
| Aralia elata cortex | 400.00±77.87 ^a (-) | 90,100.00±13,699.14 ^b (+) | 312,614.33±49,804.36° (+) | 321,661.67±14,597.37° (+) |

Mean±standard deviation (n=3).

Threshold value: $T_1=700$, $T_2=5,000$, $(-) < T_1$, $T_1 < M < T_2$, $(+) > T_2$.

+: positive (irradiated), -: negative (non-irradiated), M: intermediated.

Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-c) are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

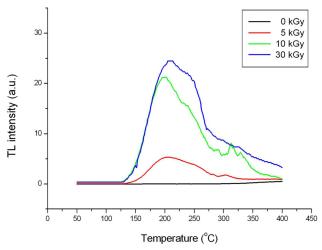


Fig. 1. Typical TL glow curves of minerals separated from *Aralia elata* cortex.

랄 종류 및 양에 기인하는 것으로 보고되고 있다(31). 본 연구에 사용된 총목피도 조사선량이 증가할수록 photon counts가 증가하는 유사한 패턴을 나타내었으며 이상의 결 과 총목피는 PSL을 이용한 감마선 조사가 확인되었다.

감마선이 조사된 시료의 경우 PSL뿐만 아니라 TL을 통해서도 비조사구와 조사구 간의 low curve 형태와 최고 peak intensity의 온도 범위에서 명확한 차이를 나타내어 감마선 조사 여부를 확인할 수 있으며, TL ratio(TL_1/TL_2)의 threshold value에 의해 명확히 판별할 수 있다(29). 총목피의 조사선량에 따른 TL 측정 결과는 Fig. 1에서와 같이 비조사구 0~kGy의 경우 자연방사선에 의한 200° C 부근에서 최고 peak intensity를 가지는 glow curve를 나타냈으나 조사구 5,~10,~30~kGy는 $150\sim250^{\circ}$ C의 부근에서 특유의 glow curve를 나타냈다. TL intensity는 조사선량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

또한 normalization 방법을 이용하여 구한 TL ratio의 경우 TL_1 측정을 통해 감마선 조사 특성이 완전히 사라진 시료 (미네랄)에 1 kGy를 재조사하여 감마선 조사 온도대에서 발생하는 특유의 glow curve인 TL_2 를 관찰할 수 있게 되는데, 이러한 TL_1 과 TL_2 의 특정한 온도대역의 TL_1/TL_2 비율을 비교하여 조사 판별 여부를 확인한다(29). TL ratio는 Table 3에서와 같이 비조사구 0 kGy에서 0.011로 나타나 0.1 이하의 비조사구로 확인되었으며, 조사구 5, 10, 30 kGy는 각각 1.105, 1.009, 2.206으로 0.1 이상의 값을 나타내었다. 이상의 결과를 통해 TL을 이용해 총목피의 비조사구와 조사구 간의 감마선 조사 여부를 확인할 수 있었다.

감마선 조사 처리된 시료 추출물의 total phenolics 함량 측정

식물의 2차 대사산물인 phenolic compounds는 식물계에 다량 분포되어 있으며, 구조 내에 phenolic hydroxyl기를 가지고 있어 단백질과 같은 고분자 화합물과 결합하는 특성으로 인해 항산화를 비롯하여 항균 활성, 항염증 활성, 항관절염 활성 등 건강에 유익한 생리활성 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(32,33).

따라서 본 연구에서는 다양한 선량(0, 5, 10, 30 kGy)으로 방사선 조사 처리를 한 총목피로부터 추출물의 total phenolics 함량을 측정하여 비교하였다. 총목피는 Table 4 에서와 같이 열수 및 50% ethanol 추출물 중 10 kGy를 조사한 시료에서 가장 높은 용출량을 나타내었고, 비조사구에 비하여 조사선량이 높아질수록 용출율은 높아지는 경향을 나타내었으나, 30 kGy의 고선량 조사에서는 오히려 total phenolics의 용출량이 줄어드는 경향을 나타내었다. 10 kGy를 조사한 총목피 추출물의 total phenolics 함량은 열수 및 50% ethanol 추출물에서 각각 17.30±0.40 mg/g, 18.87±0.46 mg/g으로 최대치를 나타내었다.

Table 3. TL ratios (TL₁/TL₂) of minerals separated from irradiated Aralia elata cortex

| TI glove | Irradiation dose (kGy) | | | |
|------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| TL glow — | 0 | 5 | 10 | 30 |
| $TL_1 (nC)^{1}$ | 24.390±2.843 ^a | 2,033.000±203.647 ^b | 4,212.000±2,250.014° | $9,468.000\pm1.414^{d}$ |
| $TL_2 (nC)^{2}$ | 2,331.500±232.638 ^{ab} | $1,880.500\pm310.420^{a}$ | $4,020.500\pm1,238.144^{b}$ | $4,298.000\pm239.002^{b}$ |
| TL ratio ³⁾ | 0.011 ± 0.002^{a} | 1.105±0.291 ^b | 1.009±0.249 ^b | 2.206 ± 0.123^{c} |

¹⁾Integrated TL₁ intensity at $150 \sim 250$ °C. ²⁾Integrated TL₂ intensity at $150 \sim 250$ °C. ³⁾TL₁/TL₂. Mean±standard deviation (n=6).

Means with different superscripts (a-c) in the same row are significantly different at $P \le 0.05$ by Duncan's multiple range tests.

Table 4. Total phenolic content of extracts from gamma-irradiated Aralia elata cortex

| | | Total phenolic con | itent (mg/sample g) | |
|-------------------|---|--|--|--|
| Extracts | | Irradiation dose (kGy) | | |
| | 0 | 5 | 10 | 30 |
| Water 50% ethanol | 14.51±0.31 ^{ab} 13.99±0.31 ^a | 13.64±0.53 ^a 14.07±0.42 ^a | 17.30±0.40 ^b 18.87±0.46 ^b | 16.57±0.76 ^b 17.88±0.61 ^b |

Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a,b) in the same row are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

ACE 저해효과

생체 내에서 중요한 혈압 상승 조절계 중 하나인 renin angiotensin system에 의해 신장에서 분비된 renin이 작용하여 angiotensin I을 생성하고, 폐혈관 내피세포에 존재하는 ACE에 의해 강력한 혈관수축작용을 가진 angiotensin Ⅱ로 전환된다. Angiotensin Ⅱ는 체내에서 말초혈관을 직접 수축시켜 혈관수축작용에 직접적으로 관여할 뿐만 아니라 aldosterone의 분비를 촉진시켜 물과 Na⁺ 배설을 억제시켜 수분 정체를 증가시키고 혈압과 혈액량을 증가시키며, 혈관 이완작용을 가진 bradykinin을 불활성화시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 역할을 한다(34).

본 연구에서는 총목피의 열수 추출물과 50% ethanol 추출물의 ACE 저해효과를 측정하였고 그 결과는 Fig. 2(A)에 나타내었다. 감마선을 조사하지 않은 총목피의 열수 추출물의 경우 200 μg/mL phenolics 농도 처리 시 30.63%의 억제효과를 나타내었으며, 50% ethanol 추출물의 경우 200 μg/mL phenolics 농도 처리 시 38.01% 억제효과가 확인되었다. 감마선 조사가 총목피 추출물의 ACE 저해 양상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 5~30 kGy까지 조사선량을 변화시키며 감마선을 조사한 결과 Fig. 2(B-D)에서와 같이 10 kGy와 30 kGy로 조사 처리한 열수 추출물과 5 kGy와 30 kGy로 조사 처리한 열수 추출물의 경우 positive control인 Captopril 200 μg/mL 처리 시의 50.32%와 유사한 수준까지 ACE에 대한 저해효과가 상승하는 것으로

확인되었다. 따라서 총목피에 대한 감마선의 조사는 고혈압에 관여하는 ACE 억제효과를 증대시켜주는 elicitor의 역할을 수행하여 항고혈압 활성을 높이기 위한 새로운 방법으로 적용이 가능할 것으로 판단되었다.

Xanthine oxidase 저해효과

통풍은 혈장 내 요산(uric acid)이 몸 밖으로 빠져나가지 못하고 관절에 축적되어 염증을 발생시키는 질환으로 심한 통증을 유발하는데 xanthine oxidase는 purine 대사과정에 서 xanthine을 기질로 하여 purine을 요산으로 전환시키는 역할을 한다(35).

본 연구에서는 Fig. 3(A)에서 나타낸 바와 같이 총목피의 열수 추출물 200 μg/mL phenolics 농도 처리 시 xanthine oxidase에 대한 저해효과가 54.86%로 나타났으며, 이는 positive control인 allopurinol을 200 μg/mL 농도로 처리 했을 때의 66.68% 저해율과 유사하게 나타나 새로운 통풍 억제 치료제로서의 사용 가능성을 확인할 수 있었다. 반면 50% ethanol 추출물의 경우 5% 이하의 저해율을 나타내어 통풍 억제효과는 미미한 것으로 확인되었다. 총목피에 감마선을 조사한 경우 Fig. 3(B-D)에서와 같이 감마선 조사 선령별로 xanthine oxidase 저해효과를 비교하였을 때 비조사구에 비해 조사구에서 저해효과가 높아지는 것을 확인할 수 있어 통풍 억제효과를 높이는 가공기술로의 활용도 기대되는 바이다. 감마선에 의한 통풍 억제효과의 증대는 선량

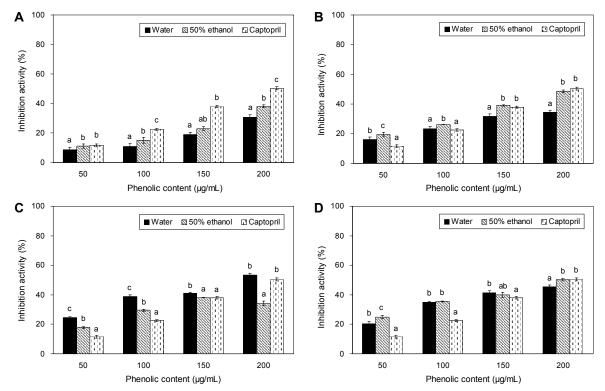


Fig. 2. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on angiotensin converting enzyme. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

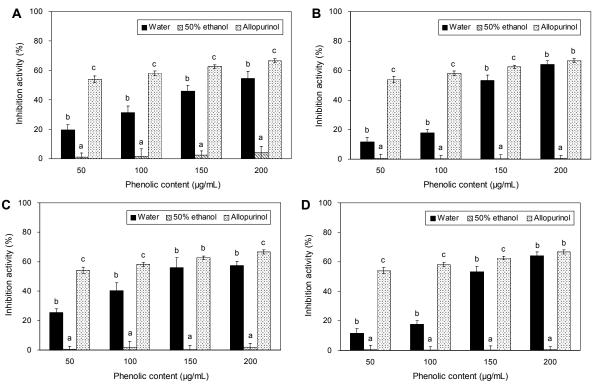


Fig. 3. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on xanthine oxidase. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

의존적인 양상을 나타내지는 않은 것으로 판단되었다.

Pancreatin α-amylase 저해효과 확인

α-Amylase 저해제는 소장에서 전분을 가수분해하여 glucose를 생성하는 액화효소 α-amylase를 저해하여 전분의 분해효과를 감소시키고 glucose의 흡수를 지연시켜 당뇨병 환자들의 혈당을 조절하는 목적으로 이용된다(36). 이러한 원리를 이용하여 agar diffusion 방법에 의한 pancreatin α-amylase 저해효과를 확인한 결과 Table 5에 나

타난 것과 같이 비조사 총목피의 열수 및 50% ethanol 추출물을 200 μg/mL phenolics 농도 처리 시 70% 이상의 높은 저해율을 나타내었으며, 이는 positive control로 사용한 acarbose 200 μg/mL 농도 처리 시 53.88%인 것과 비교하였을 때 매우 높은 수준임을 확인할 수 있었다. 또한 α-amylase 저해 증대 효과를 감마선 조사선량별로 비교하였을 때 열수 및 50% ethanol 추출물 모두 10 kGy와 30 kGy를 조사하였을 때 저해효과가 높아지는 것이 확인되었고 감마선을 10 kGy 이상 조사하였을 때 효소억제의 증대 효과를

Table 5. Inhibitory activity of extracts from irradiated Aralia elata cortex on α -amylase

| Irradiation Dose (kGy) | | Inhibitory activity (%) | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--|
| | Extracts type | Phenolics content (µg/mL) | | | | |
| | | 50 | 100 | 150 | 200 | |
| 0 | Water | 27.83±1.51 ^a | 39.13±1.51 ^{ab} | 45.22±2.61 ^b | 71.30±2.61° | |
| | 50% ethanol | 27.83 ± 1.51^{a} | 40.87 ± 1.51^{ab} | 48.70 ± 1.51^{b} | 74.78 ± 1.51^{c} | |
| 5 | Water | 20.87±1.51 ^a | 25.22±1.51 ^a | 36.52±1.51 ^b | 60.00±1.51° | |
| | 50% ethanol | 4.35 ± 1.51^{a} | 35.65 ± 1.51^{b} | 40.87 ± 1.51^{bc} | 67.83 ± 1.51^{c} | |
| 10 | Water | 31.30±1.51 ^a | 35.65±1.51 ^a | 57.39±1.51 ^b | 74.78±1.51° | |
| | 50% ethanol | 37.39 ± 2.61^{a} | 40.87 ± 1.51^{a} | 74.83 ± 2.61^{b} | 100.00 ± 0.0^{c} | |
| 30 | Water | 31.30±1.51 ^a | 46.96±1.51 ^b | 61.74±1.51° | 73.91±2.61 ^d | |
| | 50% ethanol | 36.51 ± 1.51^{a} | 56.52±1.51 ^{ab} | 62.61 ± 1.51^{b} | 100.00 ± 0.0^{c} | |
| Acarbose (p | positive control) | 23.28±1.49 ^a | 37.50±0.75 ^b | 44.40±1.29 ^{bc} | 53.88±1.98° | |

Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different superscripts (a-d) in the same row are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

기대할 수 있는 것으로 확인되었다.

Lim 등(37)은 오갈피나무속 식물의 α-amylase 활성 저해효과를 측정한 결과 섬오갈피나무, 오가나무, 오갈피나무 추출물에서 각각 19.97%, 6.97%, 4.79% 저해율을 나타내었다고 보고한 것과 비교하면 총목피의 열수 및 50% ethanol 추출물은 α-amylase 저해활성이 매우 우수하며 감마선조사에 α-amylase 활성 저해효과를 극대화할 수 있을 것으로 판단되었다.

α-Glucosidase 저해효과 확인

α-Glucosidase는 소장점막의 미세 융모막에 존재하는 효소로 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하여 탄수화물이 소화와 흡수에 필수적인 효소이며 경구혈당강하제로 사용되고 있다(38). 이러한 α-glucosidase 효소의 활성을 저해하면 소장에서 glucose의 소화 및 분해를 방해하여 glucose의 흡수를 지연시켜 식후 혈당의 급격한 상승을 막아주기 때문에 당뇨병 환자들의 혈당 조절 목적으로 이용될 수있을 것으로 기대된다(39).

감마선 조사 처리한 총목피 추출물의 α-glucosidase 저해효과는 Fig. 4(A)에서와 같이 감마선을 조사하지 않은 총목피의 열수 및 50% ethanol 추출물을 200 μg/mL phenolics 농도 처리 시 100%에 가까운 높은 저해율을 나타내었으며, 이는 positive control인 acarbose를 200 μg/mL 농도 처리 시 42.24%와 비교하였을 때 매우 높은 수준임을

확인할 수 있었다. 감마선을 선량별로 조사한 시료의 α-glucosidase 저해효과를 비교한 결과 Fig. 4(B-D)에서와 같이 열수 및 50% ethanol 추출물에서 감마선 조사 처리시 비조사구에 비해 저해효과가 증가하며 감마선 조사선량에 비례해서 활성이 높아지는 경향을 나타낸다. 특히 10 kGy와 30 kGy를 조사한 총목피 추출물에서는 50 µg/mL의 phenolic 농도에서도 100%에 가까운 저해활성을 나타내어 α-glucosidase 저해효과를 증대시키기 위한 우수한 방법으로 활용될 수 있을 것으로 판단되었다. Park 등(40)에 따르면 현재 α-glucosidase 저해제로 이용되고 있는 acarbose, voglibose 등은 복부팽만, 설사 등과 같이 위장 관련 부작용이 발생하여 이를 대체할 새로운 소재 탐색의 필요성이 대두되고 있으며, 이상의 결과를 통해 감마선 조사 처리한 총목피 추출물의 경우 천연소재 추출물로써 항당뇨 관련 기능성소재로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

감마선 조사 총목피 추출물의 tyrosinase 저해효과

Tyrosinase는 피부 기저층에 있는 melanocyte의 melanosome에서 tyrosine이나 DOPA를 기질로 하여 피부의 색소성분인 melanin 생합성에 관여하는 효소로 자외선에 의해 melanocyte가 활성화되고 이로 인해 tyrosinase 합성이촉진되어 melanin이 생성된다(41). 피부에 melanin이 과다생성될 경우 피부노화가 촉진되며 색소침착 및 피부 흑화현상의 원인이 되기 때문에 tyrosinase 활성저해제는 의약품,

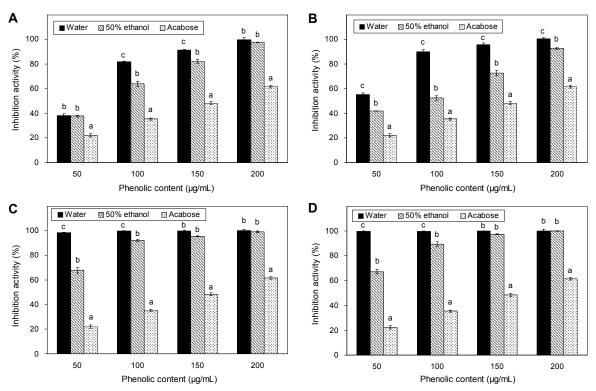


Fig. 4. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on α-glucosidase. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean±standard deviation (n=6). Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

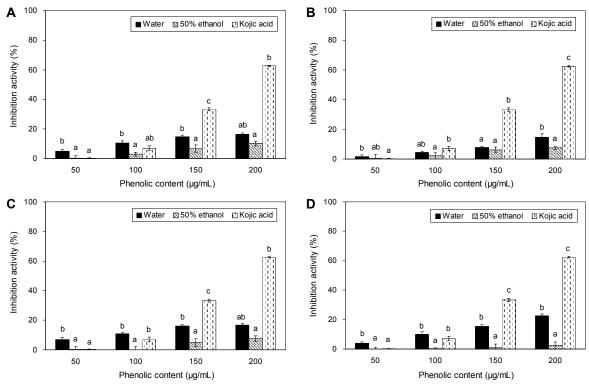


Fig. 5. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on tyrosinase. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different letters (a,b) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

화장품 소재 연구에 적용되고 있다(42).

총목피 추출물의 tyrosinase 저해효과를 측정한 결과는 Fig. 5에서와 같이 총목피의 열수 및 50% ethanol 추출물의 tyrosinase 저해효과는 20% 이하의 저해율을 나타내었으며, 이는 positive control인 kojic acid를 200 μg/mL 농도로 처리 시의 62.56%와 비교하였을 때 매우 낮은 수준임을확인할 수 있었다. 또한 tyrosinase 저해효과를 감마선 조사선량별로 비교하였을 때에도 감마선 조사 처리에 따른 뚜렷한 변화가 없었으며, 이상의 결과를 통해 총목피의 열수 및 50% ethanol 추출물의 tyrosinase 저해효과는 매우 낮으며 감마선 조사에 의해서도 별다른 영향을 나타내지 않는 것으로 확인되었다.

감마선 조사 총목피 추출물의 elastase 저해효과

피부를 이루는 주요 성분으로는 collagen, gelatin, elastin 등이 있으며, 피부의 탄력 및 주름 생성에 있어서 이들은 매우 중요한 역할을 한다. Elastase는 동물결합조직의 불용성 탄성섬유 단백질인 elastin을 분해하며, 중요한 기질 단백질인 collagen도 분해하는 비특이적 가수분해 효소로, 피부의 세포 기저층의 그물망 구조를 끊어주어 주름을 생성하고 탄력성 손실을 유발하는 주된 원인으로 알려져 있다(43).

총목피 열수 및 50% ethanol 추출물의 elastase 저해효 과를 측정한 결과는 Fig. 6에서와 같이 10% 정도의 매우 낮은 elastase 저해율을 나타내었으며, 감마선을 조사한 경 우 약간의 elastase 저해효과의 상승을 나타내긴 하였으나 뚜렷한 상승효과를 기대하기는 어려웠다. 이는 positive control인 ursolic acid 200 μg/mL 농도 처리 시 51.16%와 비교하였을 때 매우 낮은 수준임을 확인할 수 있었다.

감마선 조사 총목피 추출물의 HAase 저해효과

Hyaluronic acid(HA)는 glucuronic acid와 N-acetly glucosamine이 반복해서 연결된 점액성 고분자 다당류로 진피층의 섬유아세포에서 생성되어 표피 및 진피의 주요 구성세포의 매트릭스 역할을 한다. HAase는 고분자 HA의 glucuronic acid와 N-acetly glucosamine의 $\beta(1\rightarrow 4)$ 결합을 가수분해하는 효소로 HAase의 저해에 의해 HA는 고분자 형태를 유지하게 되며, 고분자 HA는 염증형성에 있어서 중요한 macrophage의 phagocytic ability를 저해하기 때문에 항염증 효과를 기대할 수 있다(44).

감마선 조사 처리한 총목피 추출물의 HAase 저해효과는 Fig. 7에서와 같이 감마선을 조사하지 않은 총목피의 열수추출물과 50% ethanol 추출물 200 μg/mL phenolics 농도처리 시 각각 28.85%, 56.85%의 저해율로 알코올 추출물에서 높은 염증 저해효과를 나타내었으며, 감마선 조사 처리시 비조사구에 비해 염증 억제효과가 오히려 감소하는 것으로 나타나 염증 억제효과에는 감마선의 조사가 비효율적임을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 감마선 조사된 총목피 추출물은 고혈압 억

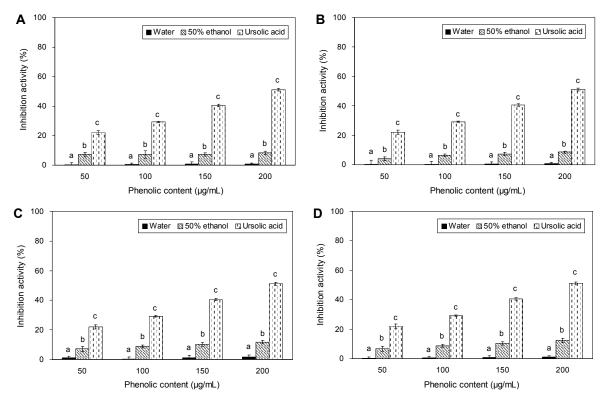


Fig. 6. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on elastase. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

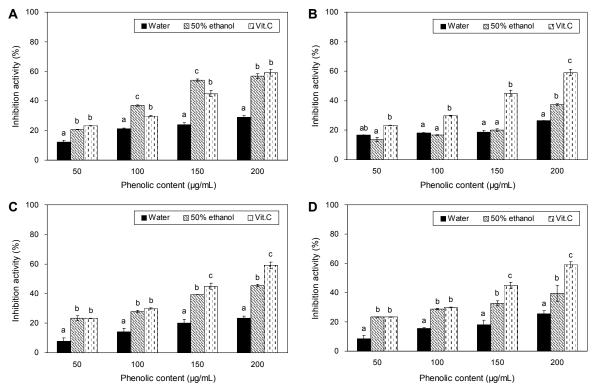


Fig. 7. Inhibitory activity of extracts from irradiated *Aralia elata* cortex on hyaluronidase. A: 0 kGy, B: 5 kGy, C: 10 kGy, D: 30 kGy. Mean \pm standard deviation (n=6). Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different at P < 0.05 by Duncan's multiple range tests.

제효과, 통풍 억제효과, 항당뇨 효과 등의 기능성 식품 활성이 증대되는 현상을 나타내었다. 또한 생리활성의 증대는 대체적으로 조사된 감마선의 선량에 비례적으로 높아지는 경향을 나타내었으며 적절한 조사선량은 10 kGy인 것으로 판단되었다. 이러한 결과를 토대로 감마선 조사가 식물체가나타내는 생리활성을 증폭시킬 수 있는 수단으로 활용이 가능할 것이라 판단되었다.

요 약

천연 약용식물에 있어서 감마선 조사 처리는 기능성 물질 탐색에 적용 시 추출수율 증진, 색상 개선 등 산업적 응용을 용이하게 하는 방법으로 활용이 기대되고 있다. 본 연구에서 는 감마선 조사가 총목피 추출물의 생리활성에 미치는 영향 을 검토하였다. 감마선 조사 처리한 총목피의 감마선 조사 여부를 확인하기 위하여 광자극 발광(PSL) 및 열 발광(TL) 방법을 활용하여 감마선 조사 판별 확인시험을 진행하였다. PSL법의 경우 비조사구 0 kGy에서 400.00 PCs로 음성 (negative) 시료로 판단되었으며, 조사구 5, 10, 30 kGy에서 각각 90,100.00 PCs, 312,614.33 PCs, 321,661.67 PCs 로 나타나 감마선을 조사한 양성(positive) 시료로 확인되었 다. TL법 적용 시 비조사구 0 kGy에서 자연방사선에 의한 300°C 부근에서 조사구 5, 10, 30 kGy는 150~250°C의 부근에서 특유의 glow curve를 나타내었다. TL ratio는 비 조사구 0 kGy에서 0.011로 0.1 이하의 값을 나타냈으며, 조사구 5, 10, 30 kGy는 각각 1.105, 1.009, 2.206으로 0.1 이상의 값을 나타내어 조사구로 확인되었다. 감마선 조사 처리한 총목피의 total phenolics 함량을 측정한 결과 0, 10, 30 kGy 선량 중 10 kGy의 조사선량에서 총목피 열수 및 50% ethanol 추출물의 total phenolics 함량이 각각 17.30 ±0.40 mg/g, 18.87±0.46 mg/g으로 가장 높은 phenolics 함량을 나타내었다. 감마선 조사 처리한 총목피의 angiotensin converting enzyme 저해효과와 xanthin oxidase 저해효과는 비조사구에 비해 조사구에서 열수 및 50% ethanol 추출물 모두 증가하는 것을 확인할 수 있었다. Pancreatin α-amylase 저해효과와 α-glucosidase 저해효 과는 총목피 열수 및 50% ethanol 추출물 200 µg/mL phenolics 농도 처리 시 0~30 kGy의 모든 선량에서 60~ 100%에 가까운 높은 저해율을 나타내어 현재 당뇨병 치료 제로 사용되고 있는 acarbose와 비교 시 월등히 우수한 항 당뇨 효과를 확인할 수 있었고, 이를 통해 감마선 조사 처리 한 총목피 추출물은 천연소재로써 항당뇨 관련 기능성 소재 로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단되었다. 이상의 결 과 총목피 추출물은 다양한 생리활성을 가진 기능성 소재로 활용이 가능한 것으로 생각되었으며 감마선의 조사에 의해 서 총목피의 생리활성이 증대되는 현상을 확인함으로써 감 마선 조사가 식물체가 나타내는 생리활성을 증폭시킬 수 있 는 수단으로 활용이 가능할 것이라 판단되었다.

REFERENCES

- Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN. 2005. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. Korean J Food Sci Techol 37: 78-83.
- Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
- 3. Kim IS. 2006. Anti-oxidative activity and influence on cell-proliferations of the *Aralia elata* cortex. *PhD Dissertation*. Kangwon National University, Chuncheon, Korea.
- 4. Kim YK, Nam SY, Chung YB, Lee CC. 1994. Studies on the effects of *Aralia elata* on antitumor and immunity activities. *Kyungsung University Bulletin* 15: 251-262.
- Yoshikawa M, Murakami T, Harada E, Murakami N, Yamahara J, Matsuda H. 1996. Bioactive saponins and glycosides. VII. On the hypoglycemic principles from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure related hypoglycemic activity of oleanolic acid oligoglycoside. *Chem Pharm Bull* 44: 1923-1927.
- Yoshikawa M, Matsuda H, Harada E, Murakami T, Wariishi N, Yamahara J, Murakami N, Elatoside E. 1994. A new hypoglycemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure-related hypoglycemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem Pharm Bull* 42: 1354-1356.
- Yang HK, Jin JY, Kim JM, Ko MS, Hong HJ, Kim SC, Lee JY. 2006. Single oral dose toxicity study of the extract of *Aralia elata* in mice. *J Toxical Pub Health* 22: 439-443.
- 8. Byun MW. 1994. Application of irradiation techniques to food industry. *Radioistope News* 9: 32-37.
- Thayer DW. 1990. Food irradiation: benefits and concerns. J Food Quality 13: 147-169.
- 10. Lee JW, Yook KH, Cho KH, Lee SY, Byun MW. 2001. The changes of allergenic and antigenic properties of egg white albumin (*Gal* d 1) by gamma irradiation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 500-504.
- Jo D, Kwon JH. 2002. Characteristics of thermoluminescence and electron spin resonance and organoleptic quality of irradiated raisin an dried banana during storage. *J Korean Soc* Food Sci Nutr 31: 609-614.
- WHO. 1981. Wholesomeness if irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee. Technical Report Series 659. Geneva, Switzerland.
- 13. Jo C, Son JH, Lee HJ, Byun MW. 2003. Irradiation application for color removal and purification of green leaves extracts. *Radiat Phys Chem* 66: 179-184.
- KFDA. 2011. Korean Food Standard Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. p 2-1-9, 2-1-10.
- 15. Park TS. 2006. Effect of irradiated green tea poly polyphenol addition into cosmetic composition and development of a cosmetics without antiseptics. *MS Thesis*. Daegu Hanny University, Daegu, Korea.
- European Committee for Standard. 2002. Detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated, method by thermo-luminescence. English version of DIN EN1788.
- 17. KFDA. 2011. *Korean Food Standard Code*. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. p 10-8-40.
- Raffi JJ, Benzaria SM. 1993. Identification of irradiated foods by electron spin resonance techniques. *J Radiat Steril* 1: 281-304.
- Lee EY, Jeong JY, Noh JE, Jo DJ, Kwon JH. 2002. Detection characteristics of TL, ESR and DNA comet for irradiated

- soybeans. Korean J Food Sci Technol 34: 18-23.
- European Committee for Standard. 2002. Detection of irradiated food using photostimulated luminescence. English version of DIN EN13751.
- Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
- 23. Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
- Davidson PM, Parish ME. 1989. Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. Food Technol 43: 148-150.
- Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative alpha-glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30: 229-241.
- Hearing VJ Jr. 1987. Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): purification, properties and reaction catalyzed. *Method Enzymol* 142: 154-165.
- Kraunsoe JA, Claridge TD, Lowe G. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosin inhibitor. *Biochemistry* 35: 9090-9096.
- Reissig JL, Storminger JL, Leloir LF. 1995. A modified colorimetric method for the estimation of *N*-acetylamino sugars. *J Biol Chem* 217: 959-966.
- Kwon JH, Chung HW, Kim BK, Ahn JJ, Kim GR, Jo DJ, An KA. 2011. Research and application of identification methods for irradiated foods. *Safe Food* 6: 11-27.
- Kim BK, Lim SY, Song HP, Yun HJ, Kwon JH, Kim DH.
 2006. Detection characteristics of irradiated aloe vera by the analysis of PSL, TL and ESR. Korean J Food Preserv 13: 61-65.
- Kwon JH, Jeong J, Chung HW. 2002. Thermoluminescence characteristics of minerals from irradiated potatoes of different origins of production. *Radiat Phys Chem* 63: 415-418.
- 32. Huang MT, HO CT, Lee C. 1992. Phenolic compounds in food and their effects on health (II), antioxidants and cancer prevention. ACS symp series 507. American Chemical Society, Washington, DC, USA. p 54-71.
- 33. Kang MA, Kim MB, Kim JH, Ko YH, Lim SB. 2010.

- Integral antioxidative capacity and antimicrobial activity of pressurized liquid extracts from 40 selected plant species. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1249-1256.
- 34. Das M, Soffer RL. 1975. Pulmonary angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem* 250: 6762-6768.
- Bolormaa Z, Song JH, Seo GS, Noh HJ, Yoo YB, Lee JS. 2010. Screening of anti-gout xanthine oxidase inhibitor from mushrooms. *Korean J Mycol* 38: 85-87.
- Jeong HJ, Lee SG, Lee EJ, Park W, Kim JB, Kim HJ. 2010. Antioxidant activity and anti-hyperglycemic activity of medicinal herbal extracts according to extraction methods. Korean J Food Sci Technol 42: 571-577.
- Lim SH, Park YH, Kwon CJ, Ham HJ, Jeong HN, Kim KH, Ahn YS. 2010. Anti-diabetic and hypoglycemic effect of *Eleutherococcus* spp. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1761-1768
- 38. Standl E, Baumgartl HJ, Füchtenbusch M, Stemplinger J. 1999. Effect of acarbose on additional insulin therapy in type 2 diabetic patients with late failure of sulphonylurea therapy. *Diabetes Obes Metab* 1: 215-220.
- Hong JH, Kim HJ, Choi YH, Lee IS. 2008. Physiological activities of dried persimmon, fresh persimmon and persimmon leaves. J Korean Soc Food Sci Nutr 37: 957-964.
- 40. Park JH, Baek MR, Lee BH, Yon GH, Ryu SY, Kim YS, Park SU, Hong KS. 2009. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory activity of compounds from roots extract of *Pueraria thunbergiana*. Korean J Medicinal Crop Sci 17: 357-362.
- 41. Kwon SC, Jeon TW, Park JS, Kwak JS, Kim TY. 2012. Inhibitory effect on tyrosinase, ACE and xanthine oxidase, and nitrite scavenging activities of *Jubak* (alcohol filter cake) extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1191-1196.
- Kim JW, Kim DK, Park JS, Lee YK, Beik KY, Kim SD. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of shark collagens and inhibitory actions on elastase and tyrosinase. Korean J Food Preserv 16: 419-426.
- Jeon YS, Jo BS, Park HJ, Kang SA, Cho YJ. 2012. Screening of biological activity of *Caragana sinica* extracts. *J Korean* Soc Food Sci Nutr 41: 1211-1219.
- Park GH, Lee JY, Kim DH, Cho YJ, An BJ. 2011. Anti-oxidant and antiinflammatory effects of *Rosa multiflora* root. *J Life Sci* 21: 1120-1126.