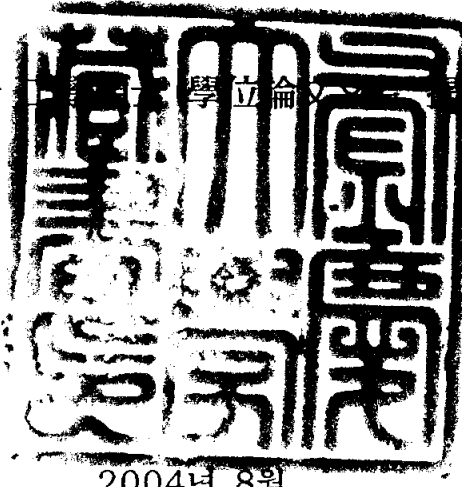


工學碩士 學位論文

삼백초, 솔잎 및 어성초의 항산화
효과 및 아질산염 분해 작용

指導教授 金 善 奉

이 論文을 釜慶大學校 大學院 食品工學科 金省玖 提出함.



2004년 8월

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 省 玖

김성구의 공학석사 학위논문을 인준함

2004 년 7 월 9 일

주 심 이학박사 장 동 석



위 원 농학박사 이 양 봉



위 원 농학박사 김 선 봉



목 차

Abstract	1
서 론	4
재료 및 방법	10
1. 실험재료	10
2. 실험방법	10
2. 1. 추출물의 제조	10
2. 2. 전자공여작용 측정.....	11
2. 3. Thiobarbituric Acid Reactive Substance (TBARS) 측정	11
2. 3. 1. Oil emulsion 제조	11
2. 3. 2. 시료 조제	12
2. 3. 3. Thiobarbituric acid reactive substances 측정	12
2. 4. 아질산염 분해 작용 측정.....	12
2. 5. Nitrosoproline 생성 저해 작용 측정.....	14
2. 6. 통계분석	14
결과 및 고찰	17
1. 시료 추출물의 수율	17
2. 삼백초, 솔잎 및 어성초 추출물의 항산화 작용.....	17
2. 1. 전자공여작용	17
2. 2. 어유에 대한 항산화성 (TBARS)	20
2. 3. 활성산소종에 대한 영향	20
2. 4. 금속이온 (Fe^{2+} 및 Fe^{3+})에 대한 영향	24

2. 5. 항산화제와의 금속 chelate에 대한 효력 비교.....	29
3. 아질산염 분해 작용.....	29
4. Nitrosoproline 생성 저해 작용	35
요 약	43
참고문헌	45

Antioxidative and Nitrite-Scavenging Abilities of
***Saururus chinensis* (Lour.) bail, Pine Needles**
and *Houttuynia cordata thunb*

Sung-Goo Kim

Department of Food Science and Technology, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Antioxidative and nitrite-scavenging abilities, and inhibitory ability on nitrosoproline formation of methanol extracts of *Saururus chinensis* (Lour.) bail, pine needles and *Houttuynia cordata thunb* were evaluated by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging ability and a thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) technique. DPPH electron-donating abilities of each extracts increased with their concentration. *Saururus chinensis* (Lour.) bail of 0.5 mg/mL concentration had 93.9% activity, showing the similar activity to that of tocopherol of a natural antioxidant. In the results of TBARS technique, *Saururus chinensis* (Lour.) bail, pine needles and *Houttuynia cordata thunb* showed antioxidant ability and the

activities of scavenging H_2O_2 and hydroxyl radical at an experiment inputted together with reactive oxygen species (H_2O_2 , hydroxyl radical). In addition, the TBARS value of the control group showed 3.588 ppm of malondialdehyde (MDA) as lipid oxidation was accelerated due to Fe^{2+} in an experiment adding Fe^{2+} . However, in an experiment adding *Saururus chinensis* (Lour.) bail, pine needles and *Houttuynia cordata thunb*, the TBARS value sharply declined to 1.704, 1.840 and 1.787 ppm for MDA, respectively, showing high antioxidant ability. But addition of Fe^{3+} did not greatly affect lipid oxidation.

Nitrite-scavenging ability of extract was increased as the pH was lowered and the concentration was increased. *Saururus chinensis* (Lour.) bail, pine needles and *Houttuynia cordata thunb* showed high nitrite-scavenging ability of 95.7%, 90.2%, 92.99%, respectively at pH 1.2 and 0.7 mg/mL concentration. Moreover, *Saururus chinensis* (Lour.) bail showed high nitrite-scavenging ability of 89% at pH 2.5 and 0.7 mg/mL concentration, which is the pH in the stomach of human beings; thus, when concentration of 0.5 mg/mL was added, the nitrite-scavenging effects at pH 1.2 was revealed to be the same. And *Saururus chinensis* (Lour.) bail, pine needles and *Houttuynia cordata thunb* (0.7 mg/mL in concentration) showed 85.3%, 83.9% and 75.5% of inhibitory ability of nitrosoproline formation.

By the above results, *Saururus chinensis* (Lour.) bail showed

higher antioxidant effect, decomposition ability on nitrite and inhibitory ability on nitrosoproline formation than pine needles and *Houttuynia cordata thunb.* Further studies for isolation and purification of useful ingredients from *Saururus chinensis (Lour.) bail* will be expected to find more physiological activities.

서론

국민 소득수준의 향상에 따른 식품소비 성향의 고급화, 다양화로 인해 식생활은 세계화, 가공 식품화 되고 있다. 또한, 건강에 대한 관심 고조로 섭취하는 식품의 질적 향상과 아울러 영양적인 면에서도 많은 향상이 있었으나 식생활이 서구화됨에 따라 비만을 포함하여 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 악성종양 등 각종 만성 퇴행성 질환 (성인병)이 증가하는 추세에 있다. 따라서 이러한 질병의 예방 또는 치료를 위해서 식품이 갖는 생체방어, 생체 리듬조절, 콜레스테롤 제어, 질병 (고혈압, 암)의 방지 및 노화억제 등의 생체조절기능 인자의 검색 및 식품의 기능특성 발현에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

삼백초 (*Saururus chinensis* (Lour.) bail)는 삼백초 과에 속하며 천성초 또는 즈채라 불리는 다년생 초본이다. 삼백초의 전초는 각기, 황달, 임탁, 대하, 옹종, 수종, 적취 등을 치료하고 (조 등 1984, 정 등 1990), 또한 삼백초는 급만성요도염, 전립선염, 방광염, 임질, 이질을 치료하는 효과가 있으며, 과중한 노동으로 인한 피로, 타박상으로 인한 후유증과 근육통, 골격 및 골수의 염증에 의한 통증을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있다 (조 등, 1984). 최근 들어 삼백초에 관한 연구로는 지방산 및 아미노산의 성분연구 (정 등, 1992), 황색포도상구균, 장티푸스균 (*Salmonella typhi*)의 성장을 억제한다고 보고하였다 (황 등, 1994). 그리고, 복강 대식세포로부터 nitric oxide 유리기전에 대한 연구 (전 등, 1998), 항돌연변이성 효과에 관한 보고 (이 등, 1998) 등이 있다. 이처럼 삼백초는 이뇨, 항균, 해독 등의 다양한 건강 증진효과가 있는 것으로 보고되고 있다.

솔잎 (Pine needle)의 성분으로는 α -pinene, β -pinene, camphene 등의 정유성분, quercetin, kaempferol 등의 flavonoid류, 수지, 당류, carotene, 비타민 C가 있다 (Chung et al., 1990). 솔잎은 간장질환, 위장질환, 신경계질환, 순환기계 질환, 피부질환 등의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며 (Chung et al., 1990), 솔잎의 기능성에 대한 연구로는 지방대사에 미치는 영향 (Kim et al., 1991, Lee et al., 1996), 추출물의 항변이성 및 항산화 효과 (Kang et al., 1995), 효소활성 및 간조직에 미치는 영향 (Kang et al., 1996), 솔잎에서 항미생물 활성을 갖는 성분의 분리 및 동정 (Kuk et al., 1997) 등이 있고, 그 외 솔잎의 성분 (Chung et al., 1996)에 대한 연구가 보고되었다.

어성초는 삼백초과 (*Saururaceae*)에 속하는 다년생 초본으로 학명이 *Houttuynia cordata thunb* 이며, 본초강목에서는 산열, 치상, 탈항, 해독, 청열, 이뇨, 소종의 효능을 보고하였다(신 등, 1994).

최근에는 어성초의 항종양 (Kim et al., 2001), 항백혈병 (Chang et al., 2001), 고지혈 억제효과 (Chung et al., 1999), 카드뮴에 대한 독성억제 효과 (Lee et al., 2001) 등이 보고되고 있다.

항산화제는 산화에 의해서 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 식품의 변색을 방지하거나 지연시킬 수 있는 기능을 가진 화합물을 총칭하며 인공합성품을 비롯하여 동식물체 내에서도 이러한 기능을 갖고 있는 물질이 많이 알려지고 있으며, 대부분 천연 항산화제들은 식물체로서 나무, 줄기, 뿌리, 잎, 꽃 등의 식물체에 대부분 존재하며 이들은 주로 폴리페놀물질로 알려져 있다 (Pratt et al., 1992). 천연으로부터 산화반응 및 radical의 반응성을 억제할 수 있는 항산화물질을 찾는 연구가 활발히 이루어지고 있고 일부는 상품화되고 있다.

항산화제의 역할은 크게 금속이온의 착염화 기능, enzyme (superoxide dismutase) 활성과 enzyme 유사활성 물질에 의한 free radical 포집력으로 radical 반응을 종결시키는 것으로 보고되고 있다 (Babizhayev et al., 1994, Chan et al., 1994, Decker et al., 1992, Kohen et al., 1988). 이들은 생체계나 식품 중에 존재하는 불포화지방산을 다량 함유한 지질을 쉽게 산화시켜 hydroperoxide 등으로 되며 (Hsieh et al., 1989), 생체내에서 DNA에 손상을 주어 발암 및 돌연변이 등의 세포기능 장애를 유발하고, 동맥경화 및 노화 등에도 관여하며, 식품의 품질을 저하시킨다고 알려져 있다.

최근에는 식품분야에서 효소는 아니지만, 활성산소의 반응성을 감소 또는 무력화할 수 있는 물질의 발굴과 이용에 관한 연구가 커다란 관심이 되고 있으며 (Akaike et al., 1995), 유지의 지방산화에서 알 수 있듯이 어느 산화방지제가 모든 종류의 유지류에 같은 산화방지 효과를 나타내지는 못하듯이 특정 물질이 생체의 산화반응 또는 radical 반응 전반에 걸쳐 반응성을 억제하지는 못한다고 판단되어지며, 활성산소의 종류나 radical source에 따라 또한 반응기작에 따라 반응성을 억제할 수 있는 항산화 물질의 연구가 필요하다고 생각되어진다.

수산물이나 식육제품 등에 첨가되고 있는 아질산염은 *Clostridium botulinum*의 생육에 따른 독소생성을 억제할 뿐만 아니라 (Pivnik et al., 1967) 육색소인 myoglobin과 결합하여 nitrosyl-hemochrome을 생성하여 발색을 양호하게 하며 (Fox et al., 1966), 아울러 육제품의 독특한 풍미를 증가시키고 (Macdougall et al., 1975), 지방의 산패를 억제함으로써 저장 중 산패취 발생을 지연시키는 것으로 알려져 식품의 가공 및 저장에 널리 이용되고 있다.

아질산염은 식품첨가물로서 뿐만 아니라 음료수, 타액 등에도 소량 존재하고 있다고 알려져 있으며 (Harada et al., 1974), 또한 야채류나 과실에 다량 존재하고 있는 질산염도 타액이나 위내 또는 식품의 저장 중에 질산 환원효소나 질산염 환원세균에 의하여 아질산염으로 환원되어진다고 한다 (Leonard et al., 1976, Hayashi et al., 1988, Takagi et al., 1991). 그러나, 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성함으로서 메트헤모글로빈증 (Methemoglobinemia) 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Peter et al., 1975). 또한, 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하는 것으로 보고 되고 있는데 (Crosby et al., 1976), 이들 니트로사민에 관심을 끌게 된 것은 N-nitroso diumethylamine 이 간에 손상을 일으킨다고 보고한 때부터이며 (Magee et al., 1962), 그 후 니트로소 화합물에 대한 발암기구를 해명하기 위해 많은 연구가 진행되어 왔으며 대부분의 니트로사민은 체내에서 diazoalkane ($C_nH_{2n}N_2$)으로 전환되어 핵산이나 단백질 또는 세포내 성분을 alkyl화함으로써 암을 유발한다고 보고하였다 (Dutton et al., 1958). 이들의 합성은 pH, 미생물, 전구물질들과 공존화합물에 의해 영향을 받는다. 니트로사민의 합성량은 전구물질의 첨가량에 비례하여 증가하나, 2급 아민보다는 아질산염이나 질산염의 농도에 의해 더 큰 영향을 받는다. 또한 이때 니트로사민 합성에 적당한 pH는 pH 3~4라고 지적하고 있으나, 미생물이 공존할 경우에는 중성에서 약알칼리성 사이에서도 생성이 가능하다 (Ayanaba et al., 1973).

또한, Yamazaki 등은 N-nirosodimethylamine으로부터 diazonium ion의

생성과정에 있어서 N-nirosodimethylamine은 P-450의 isozyme인 P-450 2E1에 의해 대사활성화 되며, 또한 acethyl transferase는 diazonium ion 의 생성을 촉진시킨다고 보고하였다 (Yamazaki et al., 1992).

이와 같이 니트로사민은 식품성분과의 상호반응으로 식품 자체 내에서 생성될 수 있을 뿐만 아니라, 니트로소화 반응이 인체 내 위의 pH와 유사한 범위에서 최적조건을 가지기 때문에 많은 관심이 모아지고 있다. 또한 니트로사민의 전구물질인 아질산염과 아민은 식품내의 상재성 분으로 널리 내재하고 있으므로 이들을 함유하고 있는 음식물을 동시에 섭취했을 때 위내에서 니트로사민이 생성될 가능성이 매우 높다.

니트로사민의 생성을 억제하기 위한 연구는 Mirvish 등에 의해 ascorbic acid의 니트로사민 생성 억제작용이 최초로 밝혀진 (Mirvish et al., 1972) 이래로 많은 연구가 진행되어 Gray 등 (1975) 및 Tanaka 등 (1978)은 tannic acid 유도체 및 sorbic acid 등이 니트로사민 생성 억제효과가 뛰어난 것으로 보고하였다. 또한 식품성분 상호간의 반응 생성물에 의한 억제효과도 밝혀져 김 등 (1986)과 Kato 등 (1987) 및 김 등 (1988) 등은 Maillard 반응 생성물인 Mellanoidin도 니트로사민 생성 억제효과가 있는 것으로 보고하였다. 그리고, Walker 등 (1975)은 gallic acid의 니트로사민 생성 억제작용을 보고하였고, caffeic acid와 ferulic acid도 아질산과 빨리 반응하여, 니트로사민 생성을 억제한다고 보고하고 있다 (Kuenzig et al., 1984).

한편, 아민류와 아질산염의 상호반응으로 생성되는 발암성 니트로사민의 직접적 생성인자인 아질산염 분해에 대한 연구도 진행되어 김 등 (1987)은 마늘, 산초, 생강의 수용성 획분이 아질산염 분해효과가 높았다고 보고하였으며 해조류 중에서는 미역, 청각의 매탄올 가용성 획분

이 강한 아질산염 분해 작용을 나타내었다고 보고하였다.

본 연구에서는 삼백초, 솔잎, 어성초의 자체 항산화 활성뿐만 아니라 산화를 촉진시키는 활성 산소종 (H_2O_2 , hydroxyl radical)에 대한 영향, 금속 이온 (Fe^{2+} , Fe^{3+})에 대한 영향을 함께 살펴보았다. 또한, 아질산염 분해 작용과 니트로사민 생성에 미치는 영향을, 아직까지 발암성이 없는 니트로사민으로 알려진 nitrosoproline을 이용하여 니트로사민 생성 저해 작용을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에는 삼백초과의 삼백초 (*Saururus chinensis* (Lour.) bail), 솔잎 (Pine needle), 어성초 (*Houttuynia cordata thunb*)를 (주)엔.씨.코리아로부터 공급을 받아 사용하였다.

전자공여작용 측정시 사용한 DPPH (α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)는 Sigma사 제품을 사용하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances 측정에서 Trichloroacetic acid (TCA)와 Tween-20은 Sigma사 제품을 사용하였고, 2-Thiobarbituric acid (TBA)는 Eastern Organic Chemicals (Roochester, NY)에서 구입하여 사용하였다. 아질산염 분해 작용에서 NaNO_2 (Shinyo pure chemicals Co., Ltd), sulfanilic acid (Hayashi pure chemical Industries), 1-naphtylamine (Merck)을 사용하였다.

Nitrosoproline 생성 억제 작용에서 proline은 Sigma사 제품을 사용하였고, L-ascorbic acid는 Sinyo사 제품을 사용하였다.

2. 실험 방법

2. 1. 추출물의 제조

삼백초, 솔잎 및 어성초 1 kg을 각각 마쇄한 후 methanol 3 L를 가하여 48시간 2회 추출하여 얻은 것을 농축하여 methanol 추출물로 하여 검색에 사용하였다.

2. 2. 전자공여작용

α,α -Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 보라색을 띄는 일종의 염료로서, phenol과 aromatic amines의 항산화 활성을 측정할 때 많이 이용되는 방법이다 (Bios et al., 1958).

Diphenyl-picrylhydrazine은 520 nm에서 자신이 가진 홀수의 전자 때문에 강한 흡수 band를 보이거나, phenol과 같이 수소나 전자 공여체와 반응을 하게 되어 phenoxy radical을 생성하게 된다. 이때 흡수 band는 사라지고 안정화되어 본래의 진보라색에서 노란색으로 변화하여 흡광도가 감소하게 된다. 즉, 반응액 흡광도의 감소를 측정하여 radical 소거 활성을 알 수 있다 (Hatano et al., 1989).

각 농도별 시료를 메탄올에 녹인 후 2 mL씩 취하여 2×10^{-4} M 농도로 메탄올에 용해시킨 DPPH 용액 1 mL와 잘 혼합하였다. 이 반응 혼합액을 실온에서 30분간 방치한 뒤, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Fig. 1.). 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 프리 라디칼 소거활성을 백분율로 나타내고 50% 소거농도 (IC_{50})을 계산하였다. 측정치는 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

2. 3. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 측정

2. 3. 1. Oil emulsion 제조

Oil emulsion 은 사용하기 전에 만들고 maleic acid buffer (pH 6.5) 8 mL를 넣은 다음 50 μ L Tween-20, 0.5 mL의 어유를 넣고, 15분간 교반한 후 KOH 2~3 조각 넣고 교반하면서 0.1N HCl로 pH 6.5로 제조 사용하였다.

2. 3. 2. 시료 조제

시료조제는 oil emulsion 0.5 mL에 50 ppm의 Fe^{2+} , Fe^{3+} 을 각각 0.1 mL씩 가한 후 시료 추출물과 산소종 $< 40\text{mM H}_2\text{O}_2$, $40\text{mM H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} (\cdot\text{OH}) >$ 과 각종 항산화제를 각각 0.1 mL씩 첨가하여 전체 1 mL가 되도록 증류수로 조정하여 3반복 실시하였다.

2. 3. 3. Thiobarbituric acid reactive substances 측정

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)는 Buege와 Aust (1978)의 방법에 따라 측정하였다. 1 mL 반응 혼합물이 채워진 시험관을 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 50 μL dibutyl hydroxy toluene (BHT) 7.2%를 시료에 가하여 산화반응을 정지시켰다. 반응 혼합물을 잘 섞은 다음 2 mL TCA/TBA 시약을 가하고 다시 혼합한 후 끓는 물에서 15분간 가열시켰다. 가열 후 찬물에서 시킨 후 $2,000 \times g$ 의 속도로 15분간 원심분리 시켰다. 상등액을 흡광도 531 nm에서 측정하였고, 공시료는 시료 대신에 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. TBARS값은 mL 반응 혼합물에 대하여 μg malondialdehyde (MDA)로 표시하였다.

2.4. 아질산염 분해 작용 측정

시료의 아질산염 분해 작용은 1mM NaNO_2 용액 1 mL에 소정 용액과 0.2M citric acid (pH 2.5, 6.0)를 사용하여 반응 용액의 pH를 각각 pH 1.2, pH 2.5 및 pH 6.0으로 각각 조정한 다음 반응 용액 부피를 10 mL로 하였다. 이렇게 한 다음 37°C 에서 1시간 반응시켜 얻은 반응 용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess

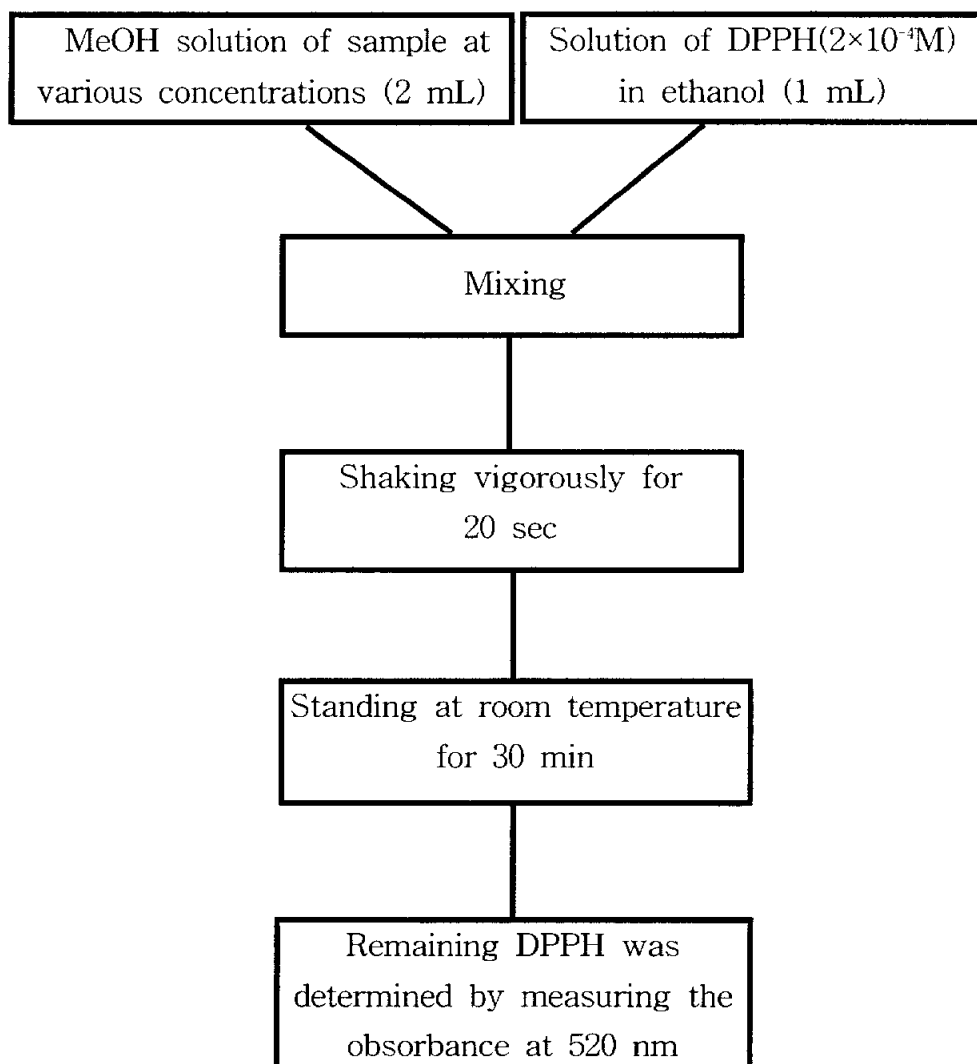


Fig. 1. Measurement of DPPH radical scavenging effect.

시약 (30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine 을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.5 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수를 0.5 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 분해율은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로써 나타내었다.

2. 5. Nitrosoproline 생성 저해 작용 측정

Proline을 이용한 nitrosoproline (NPRO) 생성 저해 작용은 이 등의 방법 (이 등., 1992)을 일부 수정하여 Fig. 2와 같이 실험하였다. 즉, 0.1M Proline 5 mL에 메탄올에 녹인 각 농도별 시료 (mg/mL)를 1 mL씩 첨가하고, 25% Perchloric acid (PCA)로 pH 2.5로 조정 한 후 60mM NaNO₂를 200 μ L씩 첨가함으로써 반응을 시작하였다. 반응 후 이 반응액에 10% ammonium sulfamate 용액 1 mL를 첨가하여 반응을 중지시킨 후, 이것을 Table 1과 같은 조건 하에서 HPLC 분석을 행함으로써 NPRO 생성량을 측정하였다. NPRO의 정량은 W. Lijinsky 등 (1970)의 방법에 의하여 합성한 NPRO로써 표준검량곡선을 작성하여 정량하였으며, HPLC 분석시 각 시료의 주입량은 20 μ L로 하였다.

2. 6. 통계분석

각각의 시료에 대해 평균 $\pm$ 표준오차로 나타내었으며, 각 군에 따른 유의차 검증은 분산분석을 한 후 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test 에 따라 분석하였다.

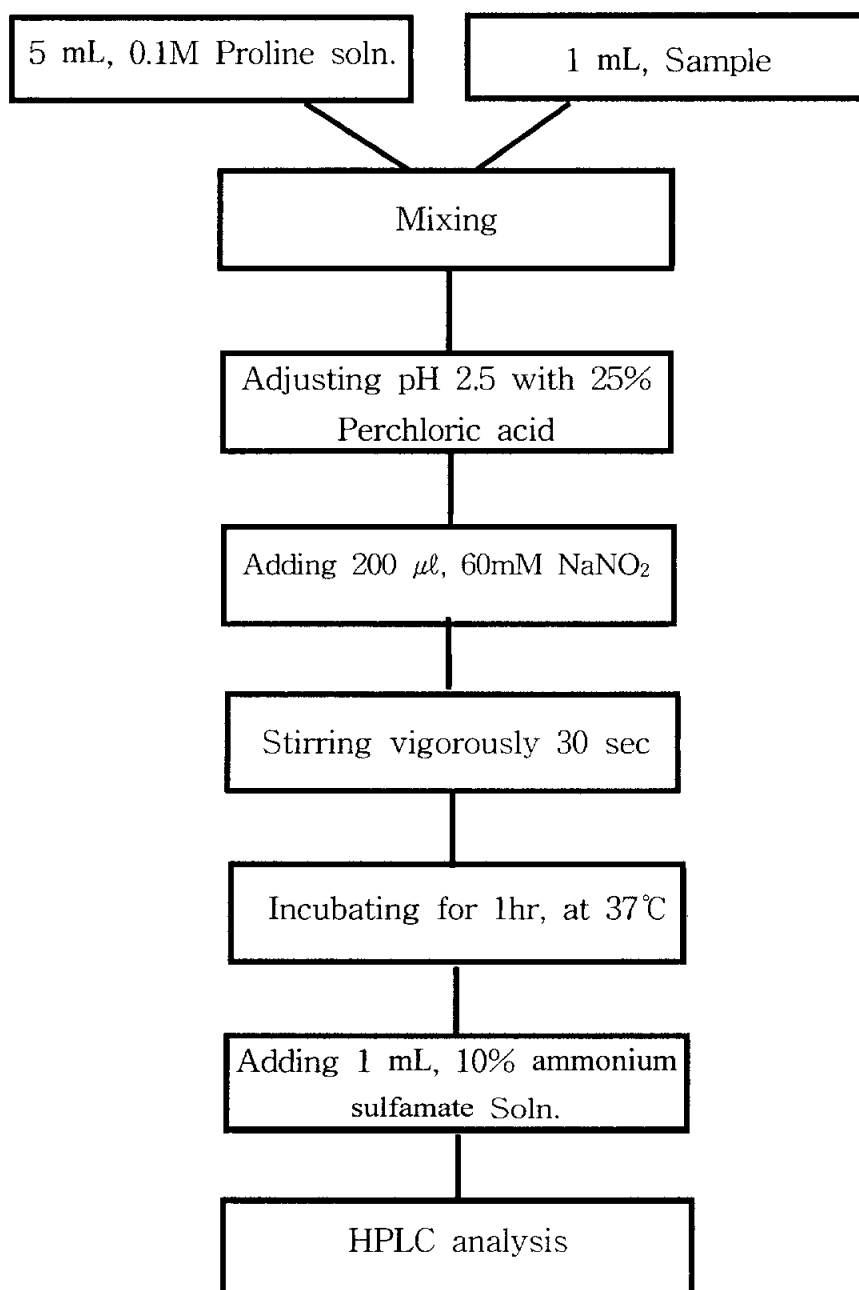


Fig. 2. Schematic procedure for the determination of nitrosoproline.

**Table 1 Instrumental condition for HPLC analysis of
N-nitrosoproline (NPRO)**

Instrument : Waters Associates HPLC systems

Column : μ Bondapak TM C₁₈ (3.9 × 300 mm)

Detector : UV 238 nm

Mobile Phase : 0.02% H₃PO₄ : CH₃CN = 80 : 20

Flow rate : 0.7 mL/min

결과 및 고찰

1. 시료 추출물의 수율

삼백초, 솔잎 및 어성초의 메탄올 추출물의 수율은 Table 2에 나타내었다.

2. 삼백초, 솔잎 및 어성초 추출물의 항산화 작용

2. 1. 전자공여작용

삼백초, 솔잎 및 어성초 메탄올 추출물의 DPPH 전자 공여 작용을 측정하였다 (Fig. 3.). 그리고, 이미 항산화 작용이 뛰어난 것으로 알려진 BHA, BHT의 합성 항산화제와 tocopherol, ascorbic acid와 같은 천연 항산화제를 이용하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 비교 측정하였다. 삼백초, 솔잎 그리고 어성초의 메탄올 추출물은 측정 농도 범위 (0.1~0.5 mg/mL)에서 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다.

삼백초 메탄올 추출물 0.1 mg/mL 농도에서 77%의 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었고, 0.3 mg/mL 농도에서는 85%, 0.5 mg/mL 농도에서는 94%로 높은 활성을 나타내었고, 이는 천연 항산화제인 tocopherol의 0.5 mg/mL 농도에서의 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사하였다.

솔잎 메탄올 추출물 0.1 mg/mL 농도에서 75%의 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었고, 0.3 mg/mL 농도에서는 86%, 0.5 mg/mL 농도에서는 92%의 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다.

어성초 메탄올 추출물 0.1 mg/mL 농도에서 70%의 DPPH 라디칼 소거

Table 2 Yield of methanol extracts obtained from plants

Sample	Yield (%)
<i>Saururus chinensis (Lour.) bail</i>	10.8
Pine needle	16.0
<i>Houttuynia cordata thunb</i>	10.3

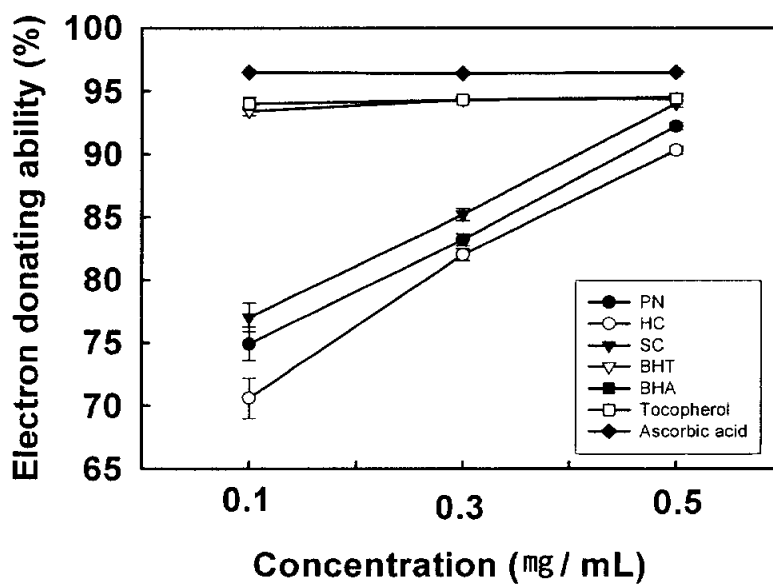


Fig. 3. Electron donating ability of plants extracts.

The abbreviations of PN, HC and SC mean Pine needle, *Houtunia cordata thunb*, *Saururus chinensis (Lour.) bail*, respectively.

활성을 나타내었고, 0.3 mg/mL 농도에서는 82%, 0.5 mg/mL 농도에서는 90%의 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 그리고, 50% 라디칼 소거 활성을 나타내는 IC₅₀을 Table 3에 나타내었다. 삼백초의 IC₅₀은 40.4 μ g/mL을 나타내어 솔잎의 45.3 μ g/mL, 어성초의 49.4 μ g/mL에 비해 조금 뛰어난 활성을 나타냈으나 기존의 합성 항산화제인 BHA와 BHT의 IC₅₀ 8.1 μ g/mL, 12.5 μ g/mL와 천연 항산화제인 tocopherol, ascorbic acid의 IC₅₀ 8.4 μ g/mL, 0.9 μ g/mL와 비교했을 때에는 DPPH 라디칼 소거 활성은 떨어졌다.

2. 2. 어유에 대한 항산화성 (TBARS)

삼백초, 솔잎 및 어성초의 메탄올 추출물을 이용하여 어유의 지질 산화 억제 효과를 TBARS법으로 살펴보았다 (Fig. 4.).

실험한 결과 대조구는 0.185 MDA ppm을 나타내었고, 삼백초 추출물은 0.131 MDA ppm, 솔잎 추출물은 0.133 MDA ppm으로 가장 우수한 지질 산화 억제 작용을 나타내었고, 어성초 추출물은 0.138 MDA ppm의 TBARS값으로 지질산화 억제 작용을 나타내었다. 솔잎에는 지방 산화를 억제하는 4-hydroxy-5-methyl-3-[2H]-furanone이라는 물질이 함유되어 있다고 알려져 있는데 이에 상응하는 결과이며 (부 등 1994), 삼백초에는 phenolic compound를 보유하고 있어 free radical을 소거시키는 활성을 가지고 있어 흰쥐에 홍삼 에탄올 추출물과 삼백초 에탄올 추출물을 함께 항산화 활성이 첨가시 상승효과를 나타낸다고 보고하고 있다 (Kim et al., 2003).

2. 3. 활성산소종에 대한 영향

Table 3 Scavenging effect of plants and several antioxidants against DPPH free radicals

Sample	IC ₅₀
<i>Saururus chinensis (Lour.) bail</i>	40.4 µg/mL
Pine needle	45.3 µg/mL
<i>Houttuynia cordata thunb</i>	49.4 µg/mL
BHT	12.5 µg/mL
BHA	8.1 µg/mL
Tocopherol	8.4 µg/mL
Ascorbic acid	0.9 µg/mL

IC₅₀ denotes the concentration of the material which is required to scavenge 50% against 2×10⁻⁴M DPPH radicals.

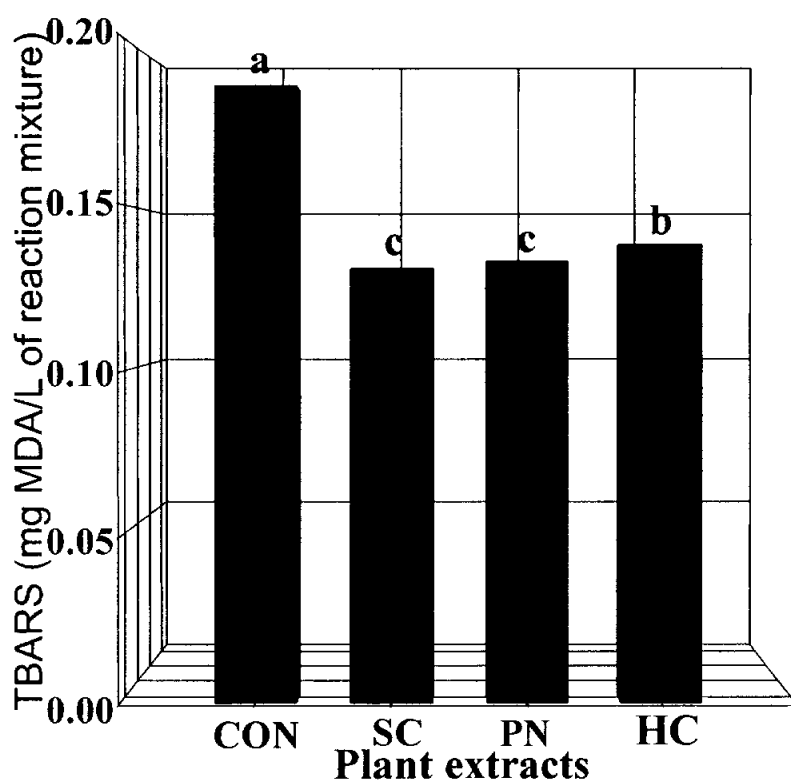


Fig. 4. Effect of plant extracts on lipid peroxidation in fish oil emulsion.

The abbreviations of CON, PN, HC and SC mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb*, and *Saururus chinensis (Lour.) bail*, respectively.

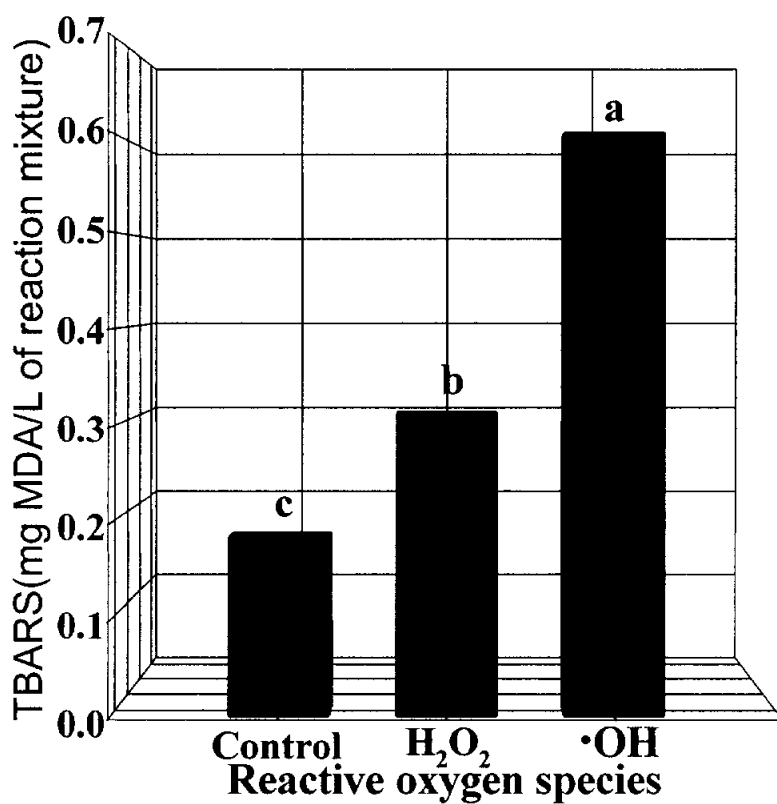


Fig. 5. Effect of reactive oxygen species on lipid peroxidation in fish oil emulsion.

활성 산소종 자체가 지방산화에 미치는 영향을 측정하였다 (Fig. 5.). 대조구에 비해 hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) 첨가구는 0.6 MDA ppm TBARS 값을 나타내어 H_2O_2 첨가구의 0.313 MDA ppm보다 훨씬 높았다. hydroxyl radical이 다른 산소종보다 지방산화를 일으키는데 결정적인 역할을 한다는 보고와 일치하였다 (Halliwell et al., 1986.).

활성 산소종과 반응한 시료 추출물의 지방 산화에 미치는 영향을 Fig. 6에 나타내었다. H_2O_2 첨가군은 0.313 MDA ppm의 TBARS값을 나타내었으나, H_2O_2 와 시료 추출물을 함께 첨가한 경우 삼백초 0.198 MDA ppm, 솔잎 0.207 MDA ppm, 어성초 0.214 MDA ppm로 H_2O_2 에 의한 지방 산화 촉진 작용이 억제되어지는 결과를 나타내었다.

Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) 첨가군에서는 0.6 MDA ppm으로 지방 산화가 촉진되는 결과를 나타냈으며, 시료 추출물을 함께 투입한 경우 삼백초가 0.384 MDA ppm으로 솔잎 0.405 MDA ppm, 어성초 0.427 MDA ppm 보다 우수한 지방산화 억제 효과를 보였다.

2. 4. 금속이온 (Fe^{2+} 및 Fe^{3+})에 대한 영향

지방산화에 있어 촉매제 역할을 하는 Fe^{2+} 이온에 대하여 시료 추출물의 지방산화 억제 작용은 Fe^{2+} 이온 첨가 대조구 3.588 MDA ppm에 비해 시료 추출물의 첨가한 경우 삼백초 1.704 MDA ppm, 솔잎 1.787 MDA ppm, 어성초 1.840 MDA ppm으로 MDA 함량을 급격히 감소시키는 효과를 나타내었다(Fig.7). 이러한 결과는 시료추출물의 Fe^{2+} 이온을 binding시키는 능력이 우수함을 나타내는 것이다. 그리고, H_2O_2 는 Fe^{2+} 이온과 반응하여 hydroxyl radical을 형성하면서 산화작용을 일으키는데 H_2O_2 자체의 TBARS값 0.313 MDA ppm보다 높은 2.984 MDA ppm을 나타내었는

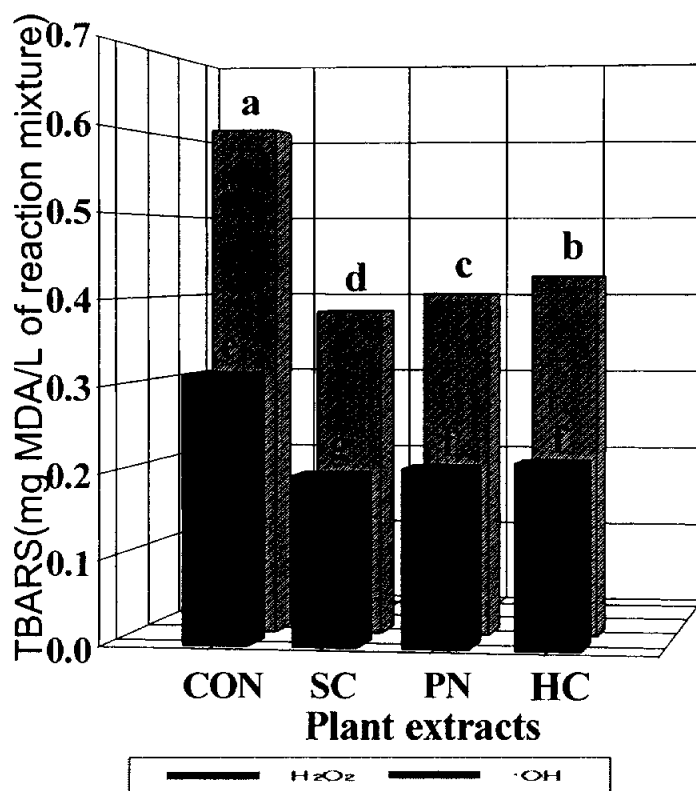


Fig. 6. Effect of plant extracts on oxidation of fish oil as affected by active oxygens.

The abbreviations of CON, PN, HC and SC mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb*, and *Saururus chinensis (Lour.) bail*, respectively.

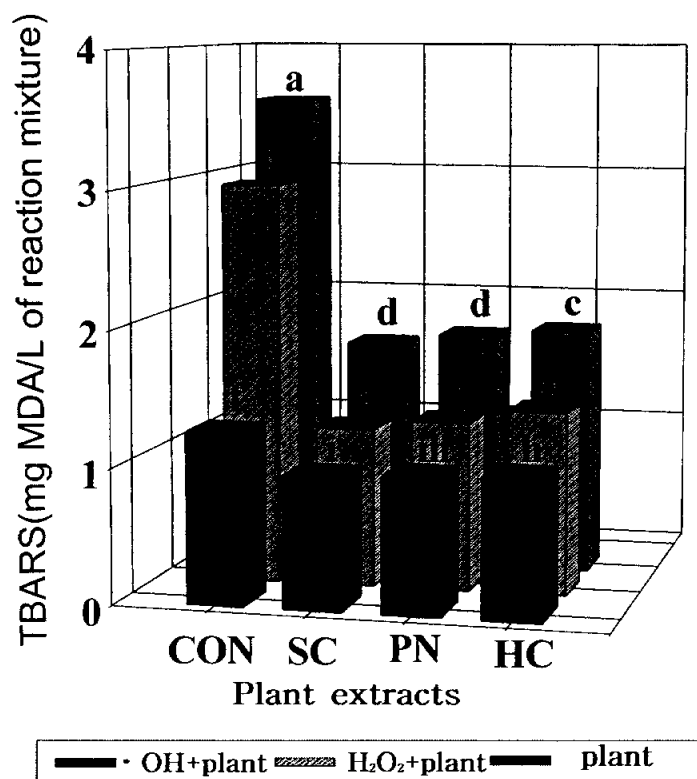


Fig. 7. Effect of plant extracts on oxidation of fish oil as affected by active oxygens with and without ferrous ion. The abbreviations of CON, PN, HC and SC mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb* and *Saururus chinensis* (Lour.) bail, respectively.

데 이는 H_2O_2 산화반응에 있어 hydroxyl radical의 영향과 ferryl complex인 이온 복합체를 형성하였기 때문인 것으로 사료된다. 여기에 시료 추출물을 함께 첨가한 경우 삼백초 1.176 MDA ppm, 솔잎 1.252 MDA ppm, 어성초 1.356 MDA ppm을 나타내어 Fe^{2+} 이온을 첨가하지 않았던 경우와 비교하여 높은 지방산화 억제 효과를 나타내었는데 이는 ferryl complex에 시료 추출물이 binding 함으로써 나타내는 결과라 할 수 있다. 그러나, hydroxyl radical에서는 Fe^{2+} 이온에 의한 산화 작용으로 1.265 MDA ppm의 TBARS값을 나타내어 H_2O_2 첨가군에 비해 낮게 나타났다. 이는 Fe^{2+} 이온이 hydroxyl radical과 반응하여 Fe^{2+} 이온을 Fe^{3+} 이온으로 환원시켰기 때문인 것으로 사료된다. 여기에 시료 추출물을 함께 첨가한 경우에는 삼백초 0.974 MDA ppm, 솔잎 1.001 MDA ppm, 어성초 1.028 MDA ppm으로 지방산화 억제 작용이 낮게 나타났는데 만약, Fe^{2+} 이온이 존재한다면 시료 추출물의 Fe^{2+} 이온 binding 능력에 의해 hydroxyl radical 첨가군에서 낮은 TBARS값이 나타났을 것으로 사료된다.

Fe^{3+} 이온을 첨가하여 시료 추출물의 지방산화에 미치는 영향을 살펴 보았다 (Fig. 8.). Fe^{3+} 이온 첨가 대조구는 0.286 MDA ppm의 TBARS값을 나타내어 Fe^{2+} 이온 첨가 대조구인 3.588 MDA ppm의 TBARS값에 비해 낮게 나타났다. 따라서, Fe^{3+} 이온은 지방 산화에 큰 영향을 주지 못하는 것으로 판단된다.

시료 추출물을 함께 첨가한 경우의 지방산화 억제 작용은 아주 적게 나타났다. 그리고, 활성 산소종중 hydroxyl radical이 H_2O_2 첨가한 경우보다 조금 더 높게 지방 산화를 일으켰으며, Fe^{3+} 이온 존재시 활성산소종과 시료 추출물을 첨가한 경우에는 삼백초, 솔잎 및 어성초의 지방 산화억제 효과는 높지 않았다.

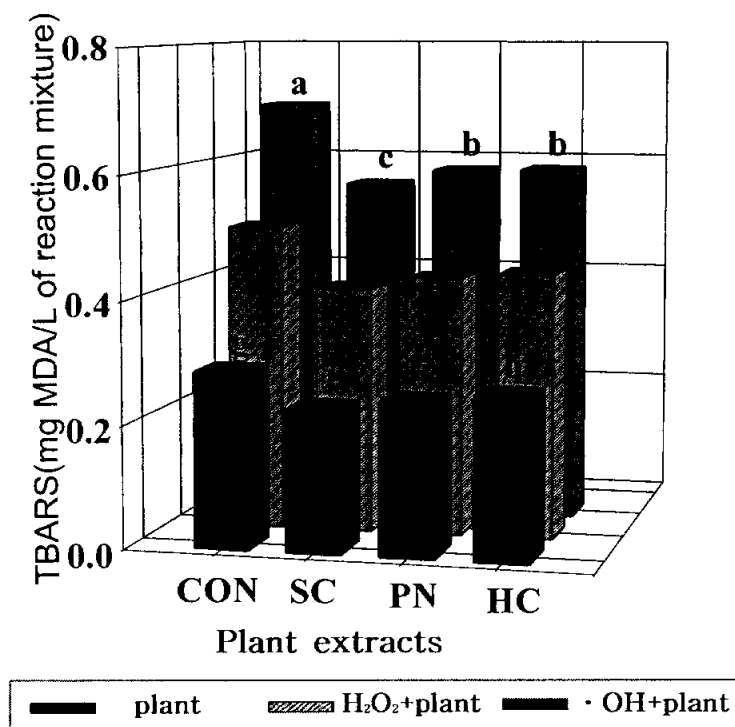


Fig. 8. Effect of plant extracts on oxidation of fish oil as affected by active oxygens with and without ferric ion. The abbreviations of CON, PN, HC and SC mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb* and *Saururus chinensis* (Lour.) bail, respectively.

2. 5. 항산화제와의 금속 chelate에 대한 효력 비교

각종 항산화제와 시료 추출물의 Fe^{2+} 이온에 대한 binding 능력을 비교하여 나타내었다 (Fig. 9.).

시료 추출물중 삼백초가 1.704 MDA ppm의 TBARS값으로 천연 항산화제인 토코페롤과 ascorbic acid보다 조금 높거나 비슷하였고, 합성 항산화제인 BHA와 BHT보다는 조금 떨어지는 효과를 나타내었다.

그리고, 각종 항산화제와 시료 추출물의 Fe^{3+} 이온에 대한 binding 능력을 비교하여 나타내었다 (Fig. 10.).

Fe^{2+} 이온 첨가 때와 유사한 결과로 시료 추출물중 삼백초가 0.231 MDA ppm의 TBARS값을 나타내어 천연 항산화제인 토코페롤과 ascorbic acid보다 조금 높거나 비슷하였고, 합성 항산화제인 BHA와 BHT보다는 조금 떨어지는 효과를 나타내었다.

3. 아질산염 분해 작용

삼백초와 어성초, 그리고 솔잎의 메탄올 추출물을 이용하여 pH별 농도별 아질산염 분해 작용을 나타내었다 (Fig. 11. 12. 13.).

삼백초, 솔잎 및 어성초 모두 농도가 증가할수록, pH가 낮을수록 아질산염 분해 작용이 증가하였다. 측정 최고 농도인 0.7 mg/mL를 첨가한 경우 삼백초는 pH 1.2에서 95.71%로 가장 좋은 아질산염 분해 작용을 나타내었고, 솔잎은 92.99%, 어성초는 90.2%의 아질산염 분해 작용을 나타내었다. pH 2.5에서도 삼백초 89.47%, 솔잎 86.72%, 어성초 78.9%의 활성을 나타내어 사람의 위 내에서의 pH인 pH 2.5 에서도 높은 활성을 나타내었다. 그리고, 0.7 mg/mL를 첨가한 삼백초, 솔잎 및 어성초의 pH 2.5에서의 활성과 0.5 mg/mL를 첨가한 삼백초, 솔잎 및 어성초의

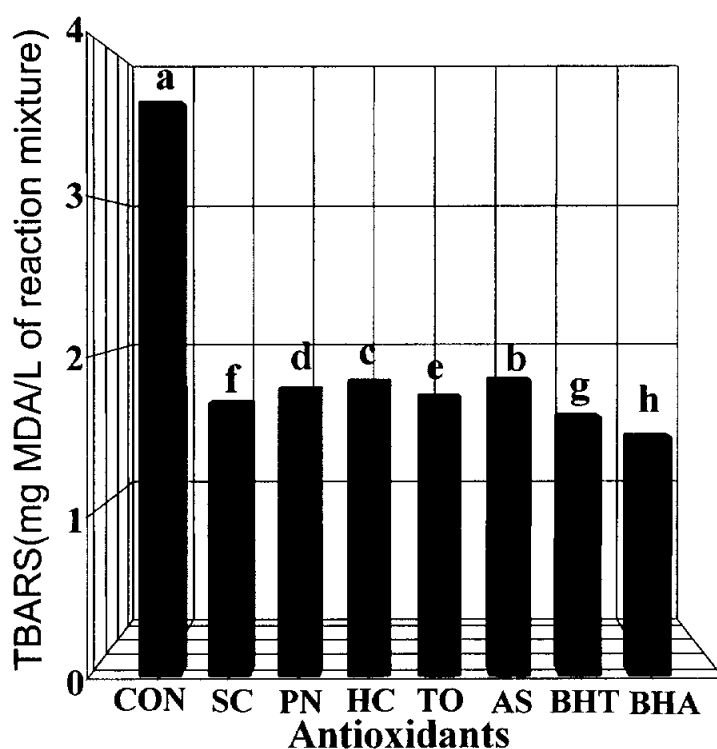


Fig. 9. Comparison of antioxidative activity of plant extracts and various antioxidants on fish oil oxidation in the presence of ferrous ion.

The abbreviations of CON, PN, HC, SC, TO and AS mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb*, and *Saururus chinensis (Lour.) bail*, Tocopherol, Ascorbic acid, respectively.

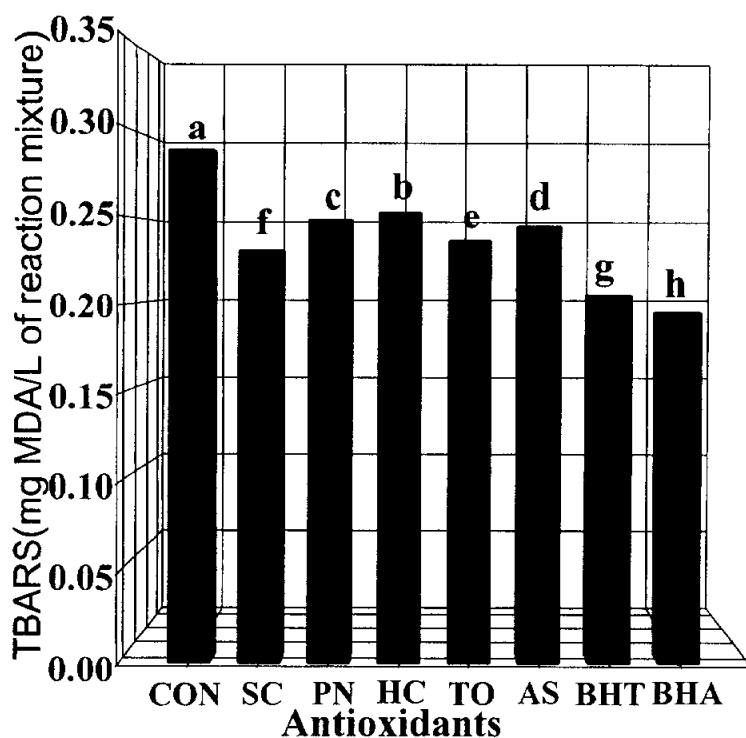


Fig. 10. Comparison of antioxidative activity of plant extracts and various antioxidants on fish oil oxidation in the presence of ferric ion.

The abbreviations of CON, PN, HC, SC, TO and AS mean Control, Pine needle, *Houtunia cordata thunb*, and *Saururus chinensis (Lour.) bail*, Tocopherol, Ascorbic acid, respectively.

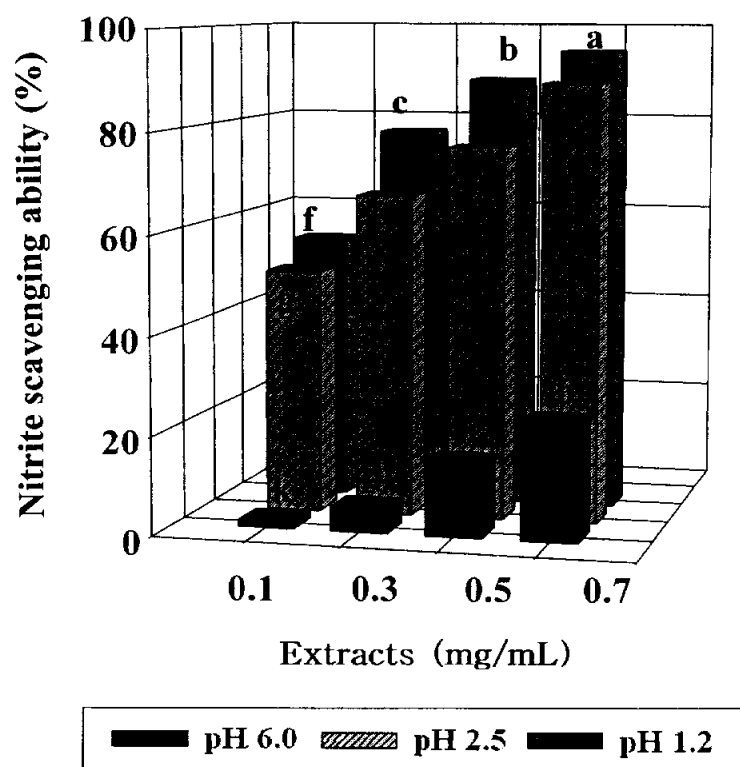


Fig. 11. Nitrite-scavenging ability of methanol extracts obtained from *Saururus chinensis* (Lour.) bail.

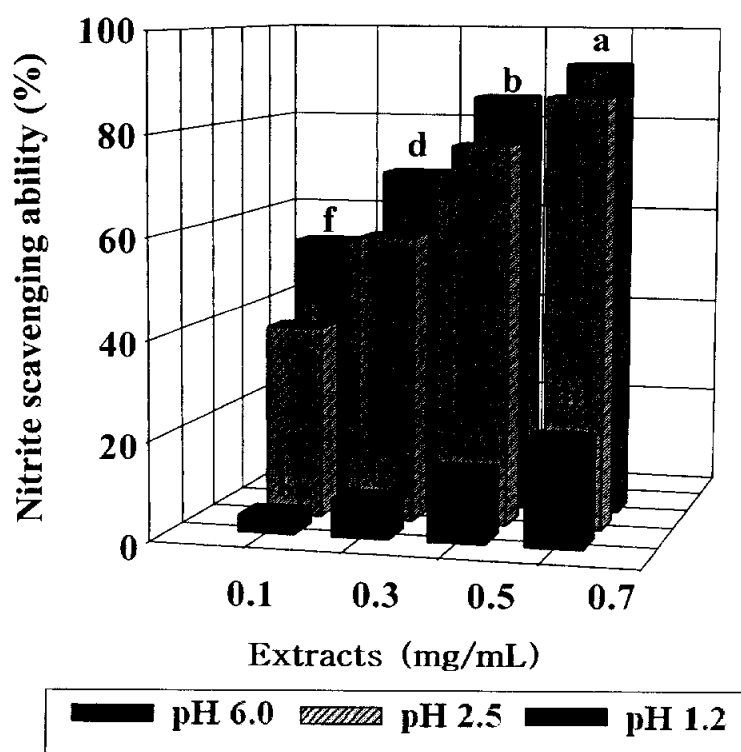


Fig. 12. Nitrite-scavenging ability of methanol extracts obtained from Pine needle.

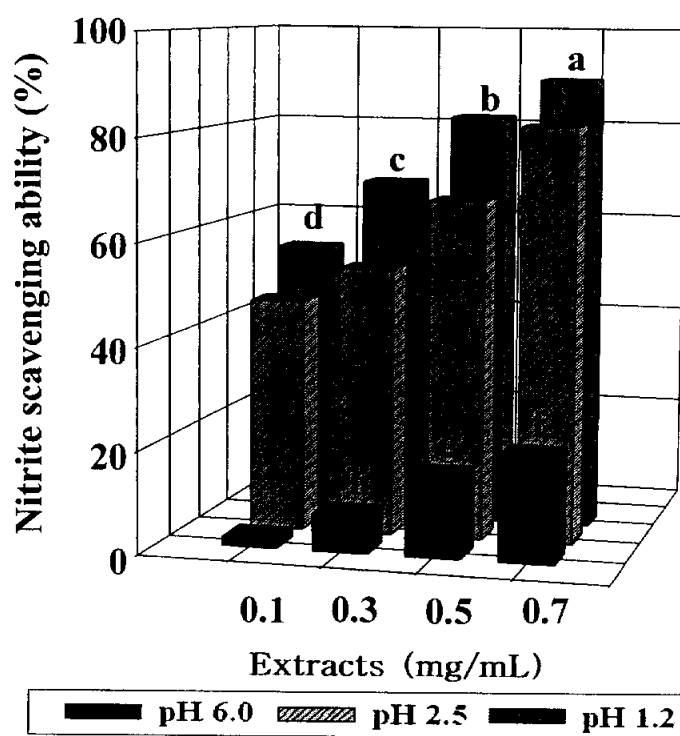


Fig. 13. Nitrite-scavenging ability of methanol extracts obtained from *Houttuynia cordata thunb.*

pH 1.2에서의 활성이 유사하였다. pH6.0에서는 최대 측정 농도인 0.7mg/mL에서 삼백초 24.37%, 솔잎 21.45%, 어성초 20.7%를 나타내어 상대적으로 아주 낮은 아질산염 분해 작용을 나타내었다.

4. Nitrosoproline 생성 저해 작용

앞의 실험방법 2. 3.에서 반응시킨 반응액을 각각 20 uL 씩 injection 하여, 238 nm 파장에서 나타난 N-nitrosoproline (NPRO)의 peak를 Fig. 14.에 나타내었다.

삼백초, 솔잎, 어성초, ascorbic acid를 다양한 농도로 첨가하였을때 NPRO의 peak를 Fig. 15. 16. 17. 18에 나타내었다.

그리고, 각 시료를 다양한 농도로 첨가하였을 때의 NPRO 생성량을 Table 4에 나타내었다.

삼백초, 솔잎, 어성초의 경우 메탄올 추출물의 농도 의존적으로 NPRO 생성량을 억제시키는 효과를 나타내었다. 삼백초의 경우 농도 0.1 mg/mL에서 대조구와 비교하여 32.3%의 NPRO 생성 억제 효과를 나타내었고, 측정 최고 농도인 0.7 mg/mL에서는 85.3%까지 NPRO 생성을 억제하는 효과를 나타내었다. 솔잎의 경우 0.1 mg/mL에서 대조구와 비교하여 45.4%의 NPRO 생성 억제 효과를 나타내어 삼백초와 어성초의 동일한 농도에서의 효과보다 뛰어났으며, 측정 최고 농도인 0.7 mg/mL에서는 83.9%로 삼백초의 동일한 농도에서의 효과보다는 조금 떨어졌다. 어성초의 경우 농도 0.1 mg/mL에서 대조구와 비교하여 30.8%의 NPRO 생성 억제 효과를 나타내었고, 측정 최고 농도인 0.7 mg/mL에서는 75.5%까지 NPRO 생성을 억제하였다.

그리고, ascorbic acid를 첨가하였을 때 0.1 mg/mL 농도에서 88.7%, 0.7

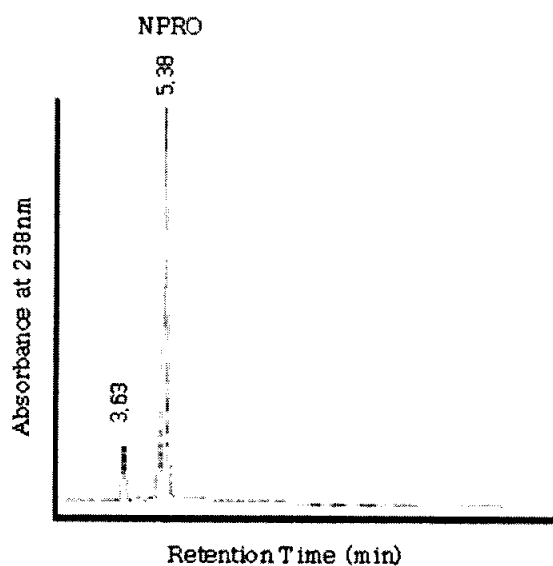


Fig. 14. The HPLC chromatogram of N-Nitrosoproline (NPRO).

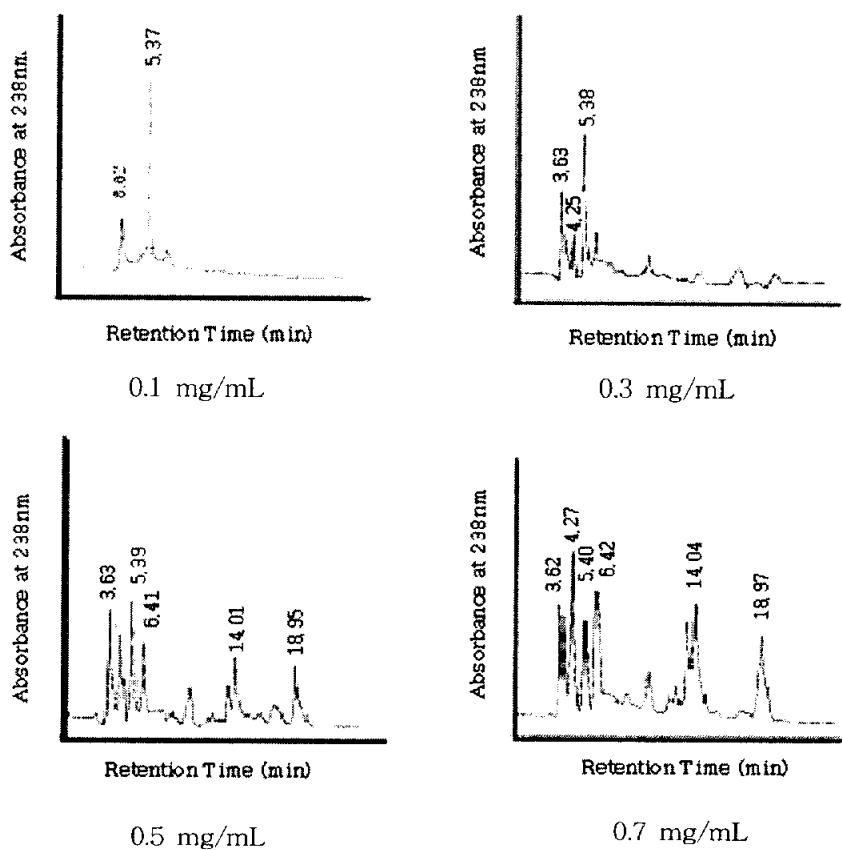


Fig. 15. Effect of *Saururus chinensis* (Lour.) bail extracts on nitrosoproline formation at different concentrations.

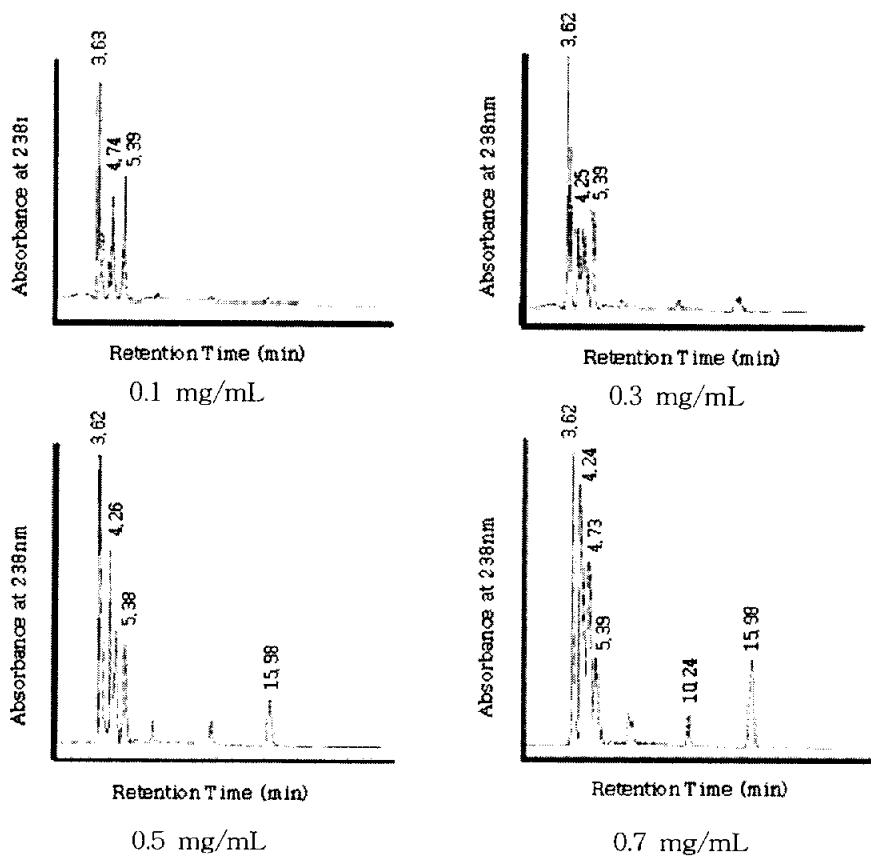


Fig. 16. Effect of Pine needle extracts on nitrosoproline formation at different concentrations.

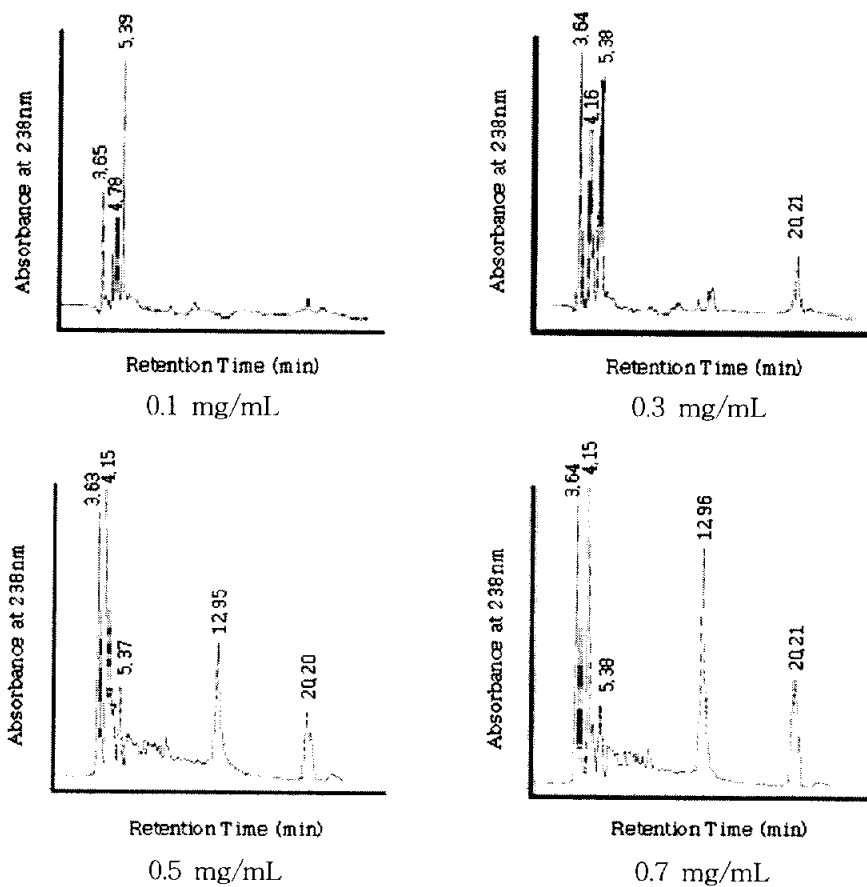


Fig. 17. Effect of *Houttuynia cordata thunb* extracts on nitrosoproline formation at different concentrations.

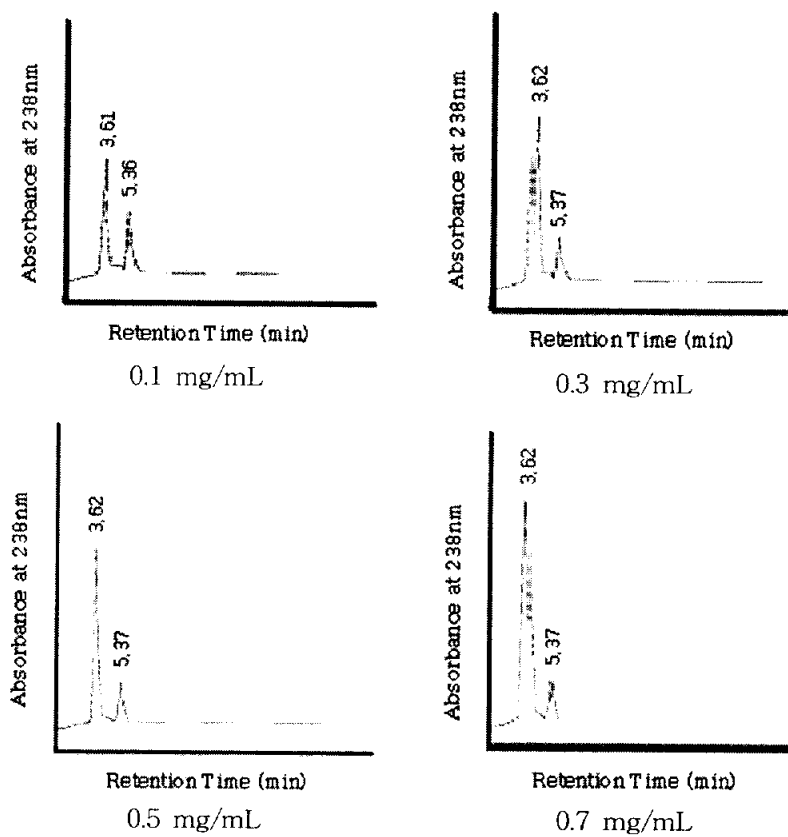


Fig. 18. Effect of ascorbic acid on nitrosoproline formation at different concentrations.

Table 4 Inhibitory ability of plant extracts on N-nitrosoproline formation at different concentration

Sample	Concentration (mg/mL)	Nitrite scavenging effect (%)	NPRO formation (ng)
Control		100	1,392.2
	0.1	32.3±0.2 ^k	941.0
SC	0.3	53.6±0.8 ⁱ	644.5
	0.5	71.7±1.1 ^e	391.5
	0.7	85.3±0.2 ^c	202.6
	0.1	45.4±1.0 ^j	759.4
PN	0.3	56.8±1.6 ^h	600.1
	0.5	69.7±2.3 ^g	419.7
	0.7	83.9±1.8 ^b	222.0
	0.1	30.8±1.9 ^b	963.0
HS	0.3	57.5±1.6 ^h	590.5
	0.5	66.7±2.3 ^g	461.0
	0.7	75.5±1.8 ^d	338.7
	0.1	88.7±0.2 ^b	155.0
AS	0.3	90.0±0.1 ^b	136.1
	0.5	93.3±0.1 ^a	90.3
	0.7	93.5±0.1 ^a	87.6

Values are means of three experiments. The abbreviations of CON, SC, PN, HC and AS mean Control, *Saururus chinensis* (Lour.) bail, Pine needle, *Houtunia cordata thunb* and Ascorbic acid, respectively.

mg/mL에서 93.5%로 농도에 따른 NPRO 생성 억제 작용은 크게 차이가 나지 않았고, 삼백초, 솔잎 및 어성초의 NPRO 생성 억제 작용보다는 우수한 효과를 나타내었다.

요 약

본 연구에서는 삼백초, 솔잎 및 어성초의 메탄올 추출물을 이용하여 전자 공여 작용 및 TBARS법을 이용하여 항산화 작용, 아질산염 분해 작용과 nitrosoproline의 생성 억제 작용을 살펴보았다. 먼저, 전자 공여 작용을 측정한 결과, 각 시료 추출물의 농도 의존적으로 증가하였으며, 삼백초 (농도 0.5 mg/mL)는 93.9%로 천연 항산화제인 토코페롤과 유사한 활성을 보였다. 삼백초와 솔잎, 어성초의 IC_{50} 은 40.4, 45.3, 49.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 천연 항산화제 (tocopherol, ascorbic acid) 및 합성 항산화제 (BHA, BHT)보다는 떨어졌다. TBARS법으로 측정하였을 때에도 삼백초와 어성초 및 솔잎은 항산화 작용을 나타내었고, 활성 산소종 (H_2O_2 , hydroxyl radical)을 함께 투입한 실험에서 각 시료는 H_2O_2 와 hydroxyl radical을 소거시키는 활성을 나타내었다. 또한, Fe^{2+} 을 첨가한 실험에서는 Fe^{2+} 에 의해 지질 산화가 촉진되어 대조구의 TBARS값이 3.588 MDA ppm을 나타내었으나, 삼백초와 솔잎, 어성초를 함께 첨가한 경우에는 1.704, 1.787, 1.840 MDA ppm으로 TBARS값을 급격히 감소시켜 항산화 작용을 나타내었다. Fe^{3+} 의 첨가는 Fe^{2+} 첨가 때와 달리 지질산화에 큰 영향을 주지 않았다. 그리고, Fe^{2+} 과 Fe^{3+} 의 존재시 각 시료의 항산화력을 천연 항산화제 (tocopherol, ascorbic acid)와 합성 항산화제 (BHA, BHT)와 비교하여 측정시 천연 항산화제와는 비슷하거나 조금 더 우수한 항산화력을 나타내었고, 합성 항산화제보다는 떨어지는 활성을 나타내었다. 아질산염 분해 작용은 pH가 낮을수록 그리고, 추출물의 농도 의존적으로 증가하였다. 삼백초와 솔잎, 어성초 (농도 0.7 mg/mL)는 pH 1.2에서 95.7%, 92.99%, 90.2%의 높은 아질산염 분해 작용을 나타내었으며, 사람

의 위장내 pH인 pH 2.5에서 삼백초 (농도 0.7 mg/mL)는 89%의 높은 아질산염 분해 작용을 나타내어 0.5 mg/mL 농도로 첨가하였을 때 pH1.2에서의 아질산염 분해 효과가 동일하게 나타났다. 그리고, 삼백초와 솔잎, 어성초 (농도 0.7 mg/mL)는 85.3%, 83.9%, 75.5%의 nitrosoproline 생성 억제 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 삼백초는 솔잎 및 어성초보다 항산화 효과, 아질산염 분해 작용 및 nitrosoproline 생성 억제 효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서, 삼백초를 이용하여 유용성분을 분리 및 추출하여 분석한다면 보다 다양한 생리 기능성에 대한 효과가 기대되어진다.

참 고 문 헌

- Akaike, T., S. Ijiri, K. Sato, T. Katsuki and H. Maeda. 1995. Determination of peroxy radical-scavenging activity in food by using bactericidal action of alkyl peroxy radical. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1864~1870.
- Ayanaba, A., W. Veratrate and M. Alexander. 1973. *J. National Cancer Institute*, 50, 811.
- Babizhayev, M.A., M.C. Seguin, J. Gueyne, R.P. Evstigneeva, E.A. Ageyeva and G.A. Zheltukhina. 1994. L-carnosine (β -alanyl-L-histidine) and carbinine (β -alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. *Biochem. J.*, 304, 509~516.
- Bios, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1990~1917.
- Buege, J.A. and S.D. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method in Enzymol.*, 105, 302
- Chan, W.K., E.A. Decker, J.B. Lee and D.A. Butterfield. 1994. spin-trapping studies of the hydroxyl radical scavenging activity of

- carnosine and related dipeptides. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1407~1410.
- Crosby, N.T. and R. Sawyer. 1976. N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. "Advances in food research"(C.O. Chichster ed.), *Academic press*, 21, 1~56.
- Chang, V.S., L.C. Chiang, C.C. Chen, L.T. Liu, K.C. Wang and C.C. Lin, 2001. Antileukemic activity of *Bidens pilosa* coradta, Thunb. *Am. K. Chin. Med.*, 29, 303~312.
- Chung, C.K., S.S. Ham, S.Y. Lee, D.H. Oh, S.Y. Choi, I.J. Kang and S.M. Nam. 1999. Effects of *Houttuynia cordata* ethanol extracts on serum lipids and antioxidant enzymes in rats fed high fat diet, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 205~211.
- Chung B.S. and M.K. Shin. 1990. The great dictionary of traditional and crude medicine. *YoungLim Press*.
- Chung H.J., G.H. Hwang, M.J. Yoo and S.J. Rhee. 1996. Chemical composition of pine sprouts and pine needles for the production of pine sprout tea. *Korean J. Dietary Culture*, 11(5), 635~641.
- Decker, E.A., A.D. Crum and J.T. Calvert. 1992. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron.

- J. Agric. Food Chem.*, 40, 756~759.
- Dutton, A. and D.F. Heath. 1958. The detection of metabolic products from dimethyl nitrosamine in rats and mice. *Biochem. J.*, 70, 619.
- Fox, J.B. 1966. The chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.*, 14, 207~210.
- Gray, J.J. and J.R. Dugan. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.*, 40, 981~984.
- Halliwell, B. and J.M. Gutteridge. 1986. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys.*, 246, 501.
- Harada, M., H. Ishiwata, Y. Nakamura, A. Tanimura and M. Ishidate. 1974. Studies on in vivo formation of nitroso compounds nitrite and nitrate contained in human saliva. *J. Japan Soc. Food & Nutrition*, 15(3), 206~207.
- Hatano, T., R. Edamatsu, M.A. Hiramatsu, Y. Fujita, T. Uhara, T. Yosyida and T. Okuda. 1989. Effect of the interaction of tannins with co-existing substances VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem.*

Pharm. Bull., 37(8), 2016~2021.

Hayashi, T., K. Sawa and M. Morita. 1988. Inhibition of Cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J. Natural Products*, 51, 345.

Hsieh, R.J. and J.E. Kinsella. 1989. In advances in food and nutrition research. *Academic Press, New York.*, 33, 233.

Kato, H., I.E. Lee, N.V. Cheyen, S.B. Kim and F. Hayase. 1987. Inhibitory of nitrosamine of formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. chem.*, 51(5), 1333~1338.

Kohen, R., Y. Yamamoto, K.C. Cundy and B.N. Ames. 1988. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 85, 3175~3179.

Kuenzig, W., J. Chau, E. Norkus and A.H. Conney. 1984. Caffeic and ferulic acid as blockers of nitrosamine formation. *Carcinogenesis*, 5(3), 309.

Kim J.D., T.H. Yoon, M. Choe, K.J. Im, J.S. Ju and S.Y. Lee. 1991. Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor J. Gerontol.*, 1(1), 47~50

- Kim, S.K., S.Y. Ryu, S.U. Choi and Y.S. Kim. 2001. Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*, *Arch. Pharm. Res.*, 24, 518~521.
- Kang Y.H., Y.K. Park, T.Y. Ha, K.D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27(6), 978~984.
- Kang Y.H., Y.K. Park, T.Y. Ha and K.D. Moon. 1996. Effects of pine needle extracts on enzyme activities of serum and liver, and liver morphology in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 25(3), 374~378.
- Kim, J.D., J.H. Do, G.P. Choi, G.J. Shin and M. Choe. 2003. Synergistic Effects of extracts from Korean Red ginseng, *Saururus chinesis*(Lour.) Bail. and *Rubus coreanus* Miq. on Antioxidative Activities in Rats. *Korean J. Medicinal Crop sci.*, 11(2), 148-154.
- Kuk, J.H., S.J. Ma and K.H. Park. 1997. Isolation and characterization of benzoic acid with antimicrobial activity from needle of pine densiflora. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 29(2), 204~210.
- Lee, J.H., S.I. Jeong, I.S. You, S.K. Kim, K.N. Lee, D.S. Han and S.H. Baek. 2001. The inhibitory effects of the methanol extract of *Houttuynia cordata thunb* against cadmium induce cytotoxicity(V). *Kor. J. Pharm.*

acogn., 31, 228~234.

Lee Y.H., Y.S. Choi and S.Y. Lee. 1996. The cholesterol- lowering effects of the extracts from pinus strobus in in chickens. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 25(2), 188~192.

Leonard, B. 1976. Nitrogen metabolism in plants. *Edward Arnold, 1st ed.*, pp.19~25.

Lijinsky. W., L. keefer and J. Loo. 1970. The preparation and properties of some nitrosamino acids, *Tetrahedron*, 26, 5137.

MacDougall, D.B., D.S. Mottram and D.N. Rhodes. 1975. Contribution of nitrate to the colour and flavour of cured meats. *J. Sci. Fd. Agric.*, 26, 1743.

Magee, P.N. and J. Hultin. 1962. Toxic liver injury and carcinogenesis: Methylation of proteins of rat liver slice by dimethylnitrosamine in vitro. *Biochem. J.*, 83, 108.

Mirvish, S.S., L. Wallcare, M. Eagen and P. shubik 1972. Ascorbatenitrite reaction : Possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Science*, 177, 65~68.

- Peter, F.S. 1975. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 1761~1770.
- Pivnik, H., L.J. Rubin, H.W. Barnett, H.R. Nordin, P.A. Ferguson and H. Perrin. 1967. Effect of sodium nitrite and temperature on toxinogenesis by *Clostridium botulinum* in perishable cooked meats vacuum-packed in air-impermeable plastic pouches. *Food Technology*, 21, 100~102.
- Pratt, D.E., M.T. Huang, S.T. Ho and C.Y. Lee. 1992. Natural antioxidants from plant materials. In Phenolic compounds in food and their effects on health, *Am. Chem. Soc.*, Washington D.C. p.54.
- Rorna, P., A.L. Catapano, S.M. Bertulli, L. Varesi, R. Fumagalli and F. Bemini. 1990. Oxidized LDL increase free cholesterol and fail to stimulate cholesterol esterification in murine macrophage. *Biochem. Biophys. Res.*, 171, 123.
- Takagi, S. and Y. Nakao, 1971. Effect of nitrate during curing. *J. Japan Soc. Food & Tech.*, 18(1), 1~7.
- Tanaka, K., K.C. Chung, H. Hayatsu and T. Kado. 1978. Inhibition of nitrosamine formation in vitro by sorbic acid. *Food Cosmet. Toxicol.*, 16, 209~212.

Walker, E.A. and B. Pignatelli. 1975. Effect of gallic acid on nitrosamine formation, *Nature*, 258, 176.

Yamazaki, H., O. Yoshimitse, F. Yoshihiko, I. Susumu, I. Uukiharu, F.P. Guengerich and T. Shimada. 1992. Participation of rat liver cytochrome P450 2E1 in the activation of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine to products genotoxic in acetyltransferase over expressing *Salmonella typhimurium* strain(NM2009). *Carcinogenesis*, 13(6), 979~985.

김선봉. 1986. Maillard 반응 생성물의 화학적 해석과 생물작용. 식품과학회지, 19, 25~35.

김선봉, 이동호, 염동민, 박진우, 도정룡, 박영호. 1988. Glucose-아미노산 계 Maillard 반응 생성물의 아질산염 소거작용. 한국식품과학회지, 23(3), 453.

부용출, 전체옥, 오지연. 1994. 술잎으로부터 항산화 성분인 4-hydroxy-5-methyl-3 [2H] -furanone의 분리. 한국농화학회지, 37, 310.

신민교. 1994, 임상초본학. 영림사, p.336~337.

이상호, 박철우, 박경아, 이영춘, 김무남, 하영래. 1998. 삼백초 Hexane 분획물의 Heterocyclic Amine 돌연변이성 조정효과. 한국환경성돌연변

이 발암원학회지, 18(1), 26.

이지현. 1992. 수종의 화합물들의 아질산염 소거능과 N-nitrosoproline 생성에 미치는 영향. 부산수산대학교.

조규형. 1984. 삼백초 건강법. 서진각, 자연약식원개발 시리즈, 3.

정필근. 1990. 생약초, 정신문화사, p.173.

정덕상. 1992. *Saururus chinensis*의 지방산 및 아미노산의 성분 연구. *Cheju Univ. Jour.(Natural Sci.)*, 35, 111.

전길환, 신민교, 송호준. 1998. 삼백초 복강 대식세포로부터 Nitric Oxide (NO) 작용기전에 대한 연구. 대한한의학회지, 19(2), 3.

감사의 글

본 논문이 마무리되는 지금 이 자리를 빌어서 지도와 조언을 아끼지 않으셨던 김선봉 교수님께 진심으로 감사드립니다. 아울러 부족한 논문 심사를 맡아 지도해 주신 장동석 교수님, 이양봉 교수님께 고개 숙여 깊은 감사의 마음을 전합니다. 그리고 지금까지 끊임없는 관심과 열정으로 제자들을 이끌어주신 이근태 교수님, 조영제 교수님, 양지영 교수님, 전병수 교수님, 안동현 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

회사 일과 대학원 생활을 함께 병행하면서 부족함이 많았던 저에게 용기를 주셨던 지청일 선배님을 비롯하여 강승극 선배님, 유승재 선배님, 김외경 선배님께 감사드립니다. 그리고, 힘들 때 말벗이 되어준 내 동기 성경민, 부족한 선배 만나 고생했던 상원, 영준, 영수에게도 감사를 드립니다. 대학원 생활에 쉽게 적응할 수 있도록 도와준 주현, 승목, 현덕, 실장으로 고생하는 진욱이, 힘든 일에도 내색 않고 항상 웃는 얼굴로 도움 주었던 정은이, 실험 보조한다고 고생했던 탁석, 연경에게도 고맙다는 말 전하고 싶습니다. 그리고, 대학원 생활을 함께 했던 길보, 의철, 형섭, 찬웅, 성준, 민수, 해진, 진한, 성진, 해경, 미경, 진규 등에게도 감사의 마음을 전합니다.

졸업을 앞두고 저를 키워주신 외할아버지, 외할머니, 아버지, 어머니, 처가의 아버님, 어머님, 형, 형수, 원규, 가영이 처제, 수호 처남, 그리고, 학업을 병행할 수 있도록 여건을 만들어주신 (주)엔.씨.코리아 권영화 사장님을 비롯한 엔.씨.코리아 식구들 얼굴이 떠오릅니다. 무엇보다 힘든 내색하지 않고 묵묵히 옆에서 큰 힘이 되어준 와이프 지영이, 백설 공주를 제일 좋아하는 우리 공주 해림이, 그리고, 순둥이 해원이에게 지

면을 빌어 사랑한다는 말을 전합니다.

함께 했던 모든 분들께 하나님의 축복이 함께 하시길 기원하며 이 글을
마칩니다.

2004년 7월

김 성 구