

[별지 제5호 서식]

최 종 보 고 서

한국산 상용식품을 이용한 노화지연 및
노화유관질환예방인자 검색 및
데이터베이스 개발에 관한 연구

연구기관

서울대학교 의학연구원 체력과학노화연구소

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “한국산 상용식품을 이용한 노화지연 및
노화유관질환예방인자 검색 및 데이터베이스 개발에 관한 연구” 과제의
최종보고서로 제출합니다.

2004년 8월 일

주관연구기관명 : 서울대학교 의학연구원

총괄연구책임자 : 박 상 철

협동연구책임자 : 이 미 숙

협동연구책임자 : 김 현 숙

위탁연구책임자 : 우 미 경

협동연구기관명 : 한남대학교

협동연구기관명 : 숙명여자대학교

위탁연구기관명 : (주)메타만나

참 여 기 업 : (주)메타만나

요 약 문

I. 제목

한국산 상용식품을 이용한 노화지연 및 노화유관질환예방인자 검색 및 데이터베이스 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리나라의 65세 이상의 노인인구는 2020년에는 13.2%에 이를 전망으로 앞으로 노인병과 성인병으로 인한 의료비의 부담은 폭발적으로 증가하게 될 것이다. 이에 종래의 의료대책에서 벗어나서 새로운 대체방안 등에 대한 관심과 논의가 증가하고 있으며, 단순한 수명연장이 아닌 건강한 노년기를 보내기 위한 욕구가 고조되면서 건강식품에 대한 관심과 중요성이 크게 부각되고 있다. 노화 및 심혈관계질환, 암, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 골다공증 등 노화와 함께 증가하는 많은 질병들의 원인은 매일 먹는 식품과 식생활태도와 같은 환경요인이 가장 중요한 요인으로 거론되고 있다. 그러나, 식생활과 생활패턴이 서구화됨에 따라 육류 및 가공식품의 섭취가 날로 증가하는 반면 채소나 자연식품의 섭취는 점차 감소하고 있는 실정이다. 한편, 최근 대체의학에 대한 관심의 증가로 전 세계적으로 고대의학이나 민간요법으로 이용되어 오던 식품이나 천연물들의 질병예방 및 치료효능을 과학적으로 증명하고, 이를 이용한 새로운 약물의 개발 및 고기능성 건강식품개발에 많은 관심이 집중되고 있으며, 노인인구의 증가와 경제적 수준의 향상으로 그 시장규모는 국내외적으로 무한하다고 볼 수 있다. 그러나, 이러한 면에서 국내의 연구 및 개발 수준은 매우 미흡하여 소비자의 요구를 따라가지 못하고 있어 고가의 식품소재나 건강보조식품의 수입이 늘어나고 있는 실정이다. 이에 특정한 약리작용을 갖는 식물이나 약재가 아닌 일상적으로 식사를 통하여 섭취하고 있는 한국인의 상용식품들을 대상으로 항산화효과, 항암 및 항돌연변이효과, 면역증진효과 등을 검색하여 그 결과를 널리 홍보하여 국민들이 식생활에서 활용하도록 하여 노화와 관련된 퇴행성 질환을 예방하는데 도움이 되게 하며, 또한 기능성 건강식품의 개발이나 건강식단또는 요리의 개발을 위한 과학적인 근거와 소재를 제공하고, 아울러 식품의 생리활성기능에 대한 자료를 모아 database를 구축함으로써 일반인이나 연구자나 쉽게 활용함으로써 국민의 건강증진과 사회복지에 이바지하고자 한다.

III. 연구개발내용 및 범위

노화와 함께 발병율이 증가하는 노화관련 질병들을 예방하여 수명을 연장하고 삶의 질을 향상시켜 건강한 중년기와 노년기를 영위하는데 매우 중요한 식품선택 및 구성에 대한 과학적인 근거자료와 모델을 제안하고자 한국인이 일상적으로 섭취하는 한국인 상용식품의 생리활성효과를 in vitro 및 in vivo 동물실험을 통하여 검색하였고, 더 나아가 바람직한 식품의 구성을 찾고자 하였다.

● 한국산 상용식품 중 식물성식품(채소류, 곡류, 과일류, 버섯류, 해조류)을 대상으로 총 71종의 식품을 구입하여 항암 및 항돌연변이, 항산화효과, 면역기능증진효과를 in vitro 및 동물실험을 통하여 검색하여 각 기능별로 등급을 나누었다. 주식과 여러 가지 부식을 함께 섭

취하는 한국식 식생활패턴을 고려하여 1차 검색을 통하여 선정된 식품 중에서 곡류, 채소류, 버섯, 해조류가 골고루 포함되도록 하여 5가지, 10가지 또는 20가지 식품으로 구성된 다양한 혼합식품시료를 만들어 다시 in vitro 항돌연변이효과, 항산화효과, 면역증진효과를 검색하였고, 효과가 좋은 일부 혼합시료는 in vivo 동물실험을 통하여 항암효과, 항산화효과, 면역증진효과를 검색하였다.

● in vitro 효능검색

1차년도에는 단일식품들을 열수추출 또는 에탄올 추출하여 검색한 in vitro 항돌연변이 및 항산화효과, 면역증진효과를 종합적으로 판정하여 매우 우수한 식품 20가지를 선정하였다.

① 돌연변이 억제효과 검색: *Salmonella Typhimurium* TA98과 TA100을 이용하는 Ames test 실시

② 암세포독성 검사: MTT assay를 통하여 인간 위암세포주(SNU638), 유방암세포주(MCF-7), 자궁경부암세포주(HeLa)에 대한 에탄올추출물의 독성검사 실시

③ 항산화효과 검색: 지질과산화억제효과, DPPH 라디칼 소거능, 지질과산화물과 단백질의 결합억제효과(MDA-BSA 결합을 추출물이 억제하는 효과를 전기영동으로 실험)를 측정

④ 면역기능증진효과: mouse의 비장세포 증식능과 복강대식세포증식능 및 복강대식세포의 IL-1 β , IL-6, TNF- α 분비능을 측정

● in vivo 효능 검색

in vitro 실험결과 효능이 매우 우수한 식품 및 이들로 구성된 혼합식품 13종에 대하여 동물실험을 통하여 항암효과, 항산화효과 및 면역기능증진효과를 검색하였다.

① 항암효과: SD rat에게 DMBA를 경구투여하여 유방종양을 유도하는 과정에서 식품시료를 분말 또는 추출물 형태로 식이에 섞어 먹여 종양발생율, 종양의 크기, 사망률 등을 측정하였다.

② 항산화효과: SD rat을 이용하여 산화를 증가시킬 수 있는 여러 모델에서 식품시료를 분말 또는 추출물 형태로 식이에 섞어 먹인 후 혈액, 간, 신장 등에서 콜레스테롤 및 지질 패턴, 지질과산화물의 농도, 총항산화능, 항산화효소들의 활성 등을 측정하였다.

③ 면역기능증진효과: mouse에게 4주간 식품시료의 열수추출물을 경구투여한 후 비장세포와 복강대식세포의 증식능, 비장세포의 IGM 항체 생성수, 복강대식세포의 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-10 분비량을 측정하였다.

● 대상 식품들 및 혼합식품시료에서 다양한 생리활성효과를 나타내는 것으로 알려진 flavonoid 및 polyphenol 의 총합량을 측정하였다.

● 시료로 사용한 식품의 일부(22종 채소)에 대하여 잔류 농약 함량을 측정하였다.

● 아울러, 현재까지 발표된 생리활성식품들에 대한 학술논문을 식품별, 생리활성별, 유효성분별로 데이터베이스를 구축하여 누구나 건강 및 식품관련 학술자료를 쉽게 검색하여 건강한 식생활관리를 위하여 활용할 수 있도록 하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1) 생리활성효과가 우수한 식품

효능	우수식품
돌연변이억제효과	기장, 냉이, 돌미나리, 톳, (레몬피), (망고피), 매실, 메밀, 미나리, 보리뚱씨, 살구, 솔잎, 생강, 쑥, 쑥갓, 영지, 울무, 파래, 표고, 풋고추, 파세리
암세포독성효과	기장, 계피, 깻잎, 톳, 메밀, 무 잎, 부추, 생강, 쑥갓, 수수, 솔잎, 울무, 정향, 파래, 후추
항암효과(유방종양)	메밀, 생강, 솔잎
항산화효과	갓, 깻잎, 고들빼기, 근대, 냉이, 돌미나리, 돌나물, 딸기, (레몬피), 메밀, (메론피), 무 잎, 마, 매실, 망고피, 망고, 미나리, 바나나, 방울 토마토, (보리뚱씨), (배피), 부추, 브로콜리, 살구, 생강, 쑥, 쑥갓, 수수, 오렌지피, 우엉, 영지, 울무, 자몽, 자몽피, 취나물
면역기능증진효과	고들빼기, 갓, 깻잎, 톳, 돌미나리, 메밀, 생강, 수수, 울무

2) 생리활성효과가 우수한 혼합식품

● 기본혼합시료의 구성

1. Mix A(=10A) 생강, 취나물, 표고, 울무 등 10종
2. Mix B(=10B) 솔잎, 돌미나리, 톳, 메밀 등 10종
3. Mix C Mix A+ Mix B(1:1) 20종
4. Mix 1(5A) 생강, 울무 등 5종
5. Mix 2(5B) 솔잎, 메밀 등 5종
6. Mix 3(5C) 쑥, 수수 등 5종
7. Mix 4(5D) 기장, 톳 등 5종

- ▶ 항암효과 및 암세포독성효과 : 혼합 1이 가장 우수하였다.
- ▶ 돌연변이 억제효과 : 혼합 2 이 가장 우수하였다

- ▶ 항산화효과: 혼합 3이 가장 우수하였다.
- ▶ 면역기능증진효과: 혼합 10A가 가장 우수하였다.

3) 식품의 총 flavonoid 및 polyphenol 함량 측정

(1)총 flavonoid 함량

채소의 경우 짙은녹색의 잎채소가 총 flavonoid 함량이 높았으며, 과일 및 곡류 등은 채소류에 비하여 낮은 함량을 보였다. 그러나, 과일피는 상대적으로 높은 함량을 나타냈다.

- ▶ 20mg/g dry wt 이상: 파슬리, 깻잎, 쑥, 취나물, 돌미나리, 근대, 쑥갓, 고들빼기, 미나리, 시금치, (귤피)(레몬피)(석류피)
- ▶ 10-20 mg/g dry wt: 무잎, 부추, 솔잎, 돌나물, 갓, 미역, 달래, 냉이, (유자피)
- ▶ 1-10mg/g dry wt: 브로콜리, 파, 풋고추, 우엉, 파래, 생강, 고춧가루, 양송이 버섯, 감자, 톳, 영지, 느타리버섯, 오이, 팽이버섯, 다시마, 양파, 애호박, 양배추, 메밀, 검정콩, 마늘, 배추, 흰콩, 수수, (감피), 건자두, 귤, 금귤, 딸기, 망고피, 모과, (바나나피), 방울토마토, (백도피), (보리뽕씨), (사과피), 살구, 석류, (수박피),(오렌지피),(유자피), 자몽, 자몽피, 천도복숭아, 토마토, (포도씨)(포도피)
- ▶ 1mg/g dry wt 이하: 대부분의 곡류, 뿌리채소, 색이 옅은 과일

(2)총 polyphenol 함량

석류피가 87.3mg/g dry wt으로 가장 높은 함량을 보였으며, 대부분 색이 짙은 과일의 껍질에 polyphenol의 함량이 높아, 과일의 껍질을 이용하여 건강보조식품 또는 향신료 등을 개발할 가치가 있다고 본다.

- ▶ 40 mg/g dry wt 이상: (석류피), (포도씨), 솔잎, 깻잎, 모과, (보리뽕씨), (망고피), 보리뽕, (포도피)
- ▶ 20-40 mg/g dry wt: 쑥갓, 취나물, 미나리, 고들빼기, 딸기, (백도피), 돌나물, 돌미나리, (레몬피),(사과피), 살구, 자두, (유자피),
- ▶ 20 mg/g dry wt 이하 : 생강, 근대, 우엉, 시금치, 부추,(감피), (귤피), 매실, (바나나피), 망고, 방울토마토, 백도,석류

4)Database의 구축

국내에서 발간되는 식품 및 건강 관련 학술지 42종에 창간호부터 2004년 상반기까지 발표된 논문 중 생리활성을 나타내는 식품에 대한 논문을 찾아 국문과 영문 6235건의 초록을 입력하고, 식품별, 생리활성별, 유효성분별로 검색할 수 있도록 시스템을 개발하여 연구자는 물론 일반 국민들이 손쉽게 식품과 관련하여 과학적인 자료와 근거를 찾아볼 수 있게 하였다. 실제로 이 자료들을 식생활관리에 활용할 수 있도록 식품들의 사진과 함께 중량 및 열량을 포함한 간단한 설명을 붙였다.

5)활용에 대한 건의

- 돌연변이억제효과, 항암효과, 항산화효과, 면역기능증진효과가 우수한 식품조합을 중심으

로 성인병을 예방하기 위한 중년층을 위한 계절별 모델식단을 작성하여 국민이 쉽게 활용할 수 있다.

●솔잎은 총 polyphenol 함량이 매우 많으며, 항암작용 및 돌연변이억제효과가 뛰어나고, 생강은 항암 및 돌연변이억제효과, 항산화효과, 면역기능증진작용이 매우 뛰어나며, 매실, 살구, 망고, 딸기는 항산화효과가 뛰어나므로 이들 식품을 활용한 음료수를 개발하거나 농축하여 제품화 한다면 소스나 향신료로 다양하게 이용할 수 있을 것이다.

● 혼합식품 중 항암효과, 항산화효과 및 면역기능증진효과가 우수하였던 혼합식품들을 활용한 개인별 맞춤 식품선택안 및 식단을 작성할 수 있으며, 이들 혼합구성을 활용한 건강보조식품을 개발할 수 있다.

●석류피, 망고피, 레몬피, 오렌지피, 사과피, 배피, 귤피, 포도피 등의 과일 껍질은 과일 속보다 항산화효과 및 돌연변이억제효과가 우수하고, 항산화물질이 더 많았다. 따라서, 폐기되는 이들 과일껍질을 위생적이고 안전하게 처리하여 섭취할 수 있는 가공식품을 개발하거나 즙이나, 분말상태, 또는 항산화물질을 추출하여 향신료나 천연항산화제로 활용할 수 있다.

● 본 연구에서 구축한 Database를 활용하면 보다 과학적이고 실제적인 자료에 근거하여 건강한 식생활을 영위하기 위한 적절한 식품을 선택할 수 있으며, 무분별한 건강식품의 홍보내용의 진위를 판단할 수 있는 자료를 얻을 수 있다.

Summary

The purpose of this project was to investigate the aging-delaying natural foods among the popular foods in Korea and effective combinations of them, and set up and open to public the database of academic scientific informations about health related foods, thereby Korean people can use it for selecting foods and cooking for health.

At first, ethanol extracts or water extracts from 71 different foods including cereals, vegetables, fruits, mushrooms and seaweeds were tested on antimutagenic, anticancer, antioxidative and immunomodulatory activities by in vitro assays such as Ames test for antimutagenic effect screening, lipid peroxidation inhibition, DPPH radical scavenging and MDA-BSA binding inhibition test for antioxidative effect screening, and mice splenocyte proliferation and cytokines(IL-1 β , IL-6, TNF- α) production in activated peritoneal macrophage cultured with extracts of each sample for immunomodulatory effect screening. And total flavonoid and polyphenol content in those foods were measured. Some ethanol extract samples including Ginger, Pine leaves, Sorghum and Mugwort showed strong antimutagenic effect, Ginger, Aster scaber(Chi Na Mul), Crown daisy and some others showed strong antioxidative effect, Pine leaves showed very good anticancer effect in DMBA-induced breast tumor rat model, and Small water dropwort, Ginger, Ko dul Bba Ki extracts enhanced the in vivo immune function by regulating the splenocyte proliferation and cytokine production capacity by activated macrophages in mice. Based on these results, 22 effective foods including Ginger, Job's tears, Garlic, Aster scaber(Chi Na Mul), Lentinus edodes Sing(Pyo Go), Mugwort, Buckwheat were selected.

On second, 13 different combination mixtures were designed with 22 foods, and then tested also in vitro or in vivo to find better effective one for delaying the aging. Supplementation of Pine leaves, mixture 1, 2, 3, 10A or C, 10% of diet in w/w, were decreased effectively the tumor incidence and average tumor number per rat in DMBA-induced breast tumor model. All the mixtures, especially 1, 2, 2+4, 1+3, showed high antimutagenic effect and mixture 1, 2, 3, 1+2, 1+3, 2+3, 3+4 and C showed high antioxidative effect. In vitro assay, mixture 1, 2, 3, 1+2, 2+3, 1+3, 3+4 and C showed high antioxidative effect, and mixture 10A and C reduced lipid peroxide level in rat serum and liver in high oxidative condition. Mixture 2 and 3 also elevated the total antioxidant power in serum, and mixture 2 increased significantly SOD activity, antioxidative enzyme, in liver and kidney. Six to seven week old balb/c mice were fed ad libitum on a chow diet, and water extracts of mixture A,B,C,D,F were orally administrated every other day for four weeks at two different concentrations(50 and 500 mg/kg b.w.), the proliferation of mice splenocytes, the number of plaque forming cells(PFC), and the production of five cytokines(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 and IFN- γ) secreted by activated macrophage were investigated to test the combination effect on immunomodulating function. Mixture A showed the synergistic effect compared to

individual activity, however the other mixtures showed no such activity. Thus, the combination effect may not be simply concluded expecting the cumulative effect of each sample.

In general, dark green leaf vegetables, such as Perilla leaf, Mugwort, Parsley and Chi Na Mul, contained very high flavonoid content, and Pine leaves, Mugwort, Crown daisy, Perilla leaves contained very high polyphenol content. Generally the skin of fruits contained much more flavonoid and polyphenol contents than the inner edible part.

In addition, the database of the abstracts of from academic scientific food and health related articles published on Korean journals until May/2004 were established. Korean people can use it easily for selecting food materials or commercial functional foods, cooking and meal planning for health.

Taken together, many Korean foods and their combinations revealed to show relatively strong anticancer, antioxidative and immune function stimulating effects. It is anticipating that those foods and combinations can delay the aging, because those foods are not special ones but foods Korean usually eat for their life span. These results could be useful for meal planning, making recipe and selecting foods for patients or healthy middle-aged adults, and developing the functional foods, natural antiaging additives or sauces.

Contents

Chapter 1. Introduction	11
Chapter 2. Contents and Results	14
1. Contents	14
2. methods	14
3. Results	31
Chapter 3. Achivement and Contribution	99
Chapter 4. Usage	100
Chapter 5. References	101
Appendix	110

목 차

제 1장. 연구개발과제의 개요	11
제 2장. 연구개발수행 내용 및 결과	14
1. 연구내용	14
2. 연구수행방법	14
3. 연구결과	31
제 3장. 목표달성도 및 관련분야 기여도	99
제 4장. 연구개발결과의 활용계획	100
제 5장. 참고문헌	101
Appendix	110

제 1장. 연구개발과제의 개요

1. 연구개발의 목적

건강을 유지하고 질병을 예방하기 위하여는 기본적으로 매일매일의 식생활관리가 매우 중요하다. 식품의 생리활성 효능은 약물처럼 강력하지는 않더라도 많은 양을 장기간 섭취할 수 있기 때문에 예방적인 차원에서 바람직할 것으로 생각된다. 따라서, 특정한 약리작용을 갖는 식물이나 약재가 아닌 일상적으로 식사를 통하여 섭취하고 있는 한국인의 상용식품들을 대상으로 항산화효과, 항암 및 항돌연변이효과, 면역증진효과 등을 검색하여 그 결과를 알림으로써 국민들이 식생활에서 널리 활용하도록 하여 노화와 관련된 퇴행성 질환을 예방하는데 도움이 되게 하며, 또한 기능성 건강식품의 개발이나 건강식단또는 요리의 개발을 위한 과학적인 근거와 소재를 제공하고, 아울러 식품의 생리활성기능에 대한 자료를 모아 database를 구축함으로써 일반인이나 연구자나 쉽게 활용함으로써 국민의 건강증진과 사회복지에 이바지하고자 한다.

2. 연구의 필요성

1) 기술적 측면

생명공학과 식품가공 방법의 발전으로 보다 효과적이고 안전한 건강식품 및 약물개발을 위하여 많은 식물 및 천연물로부터 영양성분 이외의 생리활성물질들을 찾아 활용하고자 하는 노력이 진행 중이다. 그러나, 아직 국내의 기능성 식품 기술개발의 수준은 매우 미흡한 수준이며 과학적인 실험에 의한 구체적인 효능분석보다는 새로운 기능성 소재를 탐색하는 데 치우치고 있다. 최근 한국산 약용식물에 대한 생리활성효과를 검증하고자 하는 시도들이 이루어지고 있으나, 연구가 체계적, 지속적이지 못하고 산발적으로 진행되어 왔으며, 추출법이나 효과측정방법도 제각기 다양하여 신빙성이나 상호비교가 어려운 실정이다. 현재 국내에서 시판되고 있는 건강식품은 구전되거나 속설에 근거하거나 일부 문헌에 언급된 것을 과장하는 경향이 많고 과학적 근거가 미약한 것이 대부분이다. 생리활성 물질이 함유되어 있는 농산물이라 하더라도 그 유효물질이 얼마나 함유되어 있는지 정확히 측정하지 못하고 있는 실정이다.

또한, 중요한 것은 실생활에서 섭취하는 것은 식품 자체이지 식품 속의 어느 한 성분을 선택적으로 섭취하는 것은 아니다. 식품을 섭취할 경우 어느 한가지 효과를 위해서가 아니고, 맛과 영양 그리고 그 식품 속에 들어 있는 포괄적인 효과를 기대하게 된다. 따라서, 식품내 특정 성분에 대한 효과연구 뿐만 아니라 식품전체를 섭취했을 때의 실제적인 효능검색은 매우 중요한 과제이다. 이에 많은 한국산 식물들을 대상으로 항콜레스테롤 효과, 항돌연변이 효과, 혈압강하효과, 항혈전효과, 항산화효과, 면역증강효과, 항미생물효과 등 여러 가지 생체조절기능에 대한 효과를 검색할 수 있는 보다 정확하고 과학적인 방법의 정립이 필요하며, 종래 단편적으로 추진되어 왔던 효과분석을 보다 체계적이고 종합적인 측면에서 비교검토함이 절실하다.

2) 경제·산업적 측면

최근 대체의학에 대한 관심의 증가로 전 세계적으로 고대의학이나 민간요법으로 이용되어 오던 식품이나 천연물들의 질병예방 및 치료효능을 과학적으로 증명하고, 이를 이용한 새로운 약물의 개발 및 고기능성 건강식품개발에 많은 관심이 집중되고 있으며, 노인인구의 증가와 경제적 수준의 향상으로 그 시장규모는 국내외적으로 무한하다고 볼 수 있다. 그러나, 이러한 면에서 국내의 연구 및 개발 수준은 매우 미흡하여 소비자의 요구를 따라가지 못하고 있어 고가의 식품소재나 건강보조식품의 수입이 늘어나고 있는 실정이다. 수입개방에 따라 국제적인 건강식품업체들이 단독 또는 국내의 업체와 제휴 또는 M&A로 국내진출을 확대할 경우 국내제품의 기술 및 가격 경쟁력에서의 열세가 예상되고 있다. 이에 국내산업의 경쟁력향상을 위해서는 신소재의 발굴 및 개발과 임상 실험을 통하여 효능을 과학적으로 검증하는 동시에 대규모 마케팅활동이 절실히 요구되고 있다. 따라서, 노령화사회로의 진입을 맞이하여 우리나라 식품에 대한 독자적인 연구와 과학적으로 그 효능이 입증된 자료의 확보는 이를 바탕으로 한 노화지연 및 노화관련 질병을 억제할 수 있는 건강식품 및 약물개발을 위하여 매우 시급한 일이며, 이는 한단계 발전된 국내의 건강식품시장의 활성화에 밑거름이 될 것이며, 한국산 식품의 기능적 우수성을 과시함으로써 국내외적으로 우리나라 농산물의 전략적 부가가치를 부양하는데도 크게 기여할 것이다.

3) 사회·문화적 측면

급속한 산업화와 식생활의 변화 및 노령화에 따라 최근 우리나라 국민의 사망원인을 보면 고혈압성질환, 허혈성질환, 동맥경화성질환, 뇌혈관질환에 의한 사망이 전체 사망의 24.6%로 1위이고, 2위인 암이 21.7%로 심혈관계 질환과 암으로 인한 사망이 전체 사망원인의 50%에 육박하고 있다. 더구나, 이들 질병들은 특성상 장기간의 관리와 의료비 지출을 요하고 있어 개인적으로나 국가적으로나 크나큰 경제적, 시간적 부담이 되고 있다. 한편 65세 이상의 노인인구는 1995년에 5.9%가 되었고 2020년에는 13.2%에 이를 전망으로 앞으로 노인병과 성인병으로 인한 의료비의 부담은 폭발적으로 증가하게 될 것이다. 이에 종래의 의료대책에서 벗어나서 새로운 대체방안 등에 대한 관심과 논의가 증가하고 있으며, 단순한 수명연장이 아닌 건강한 노년기를 보내기 위한 욕구가 고조되면서 건강식품에 대한 관심과 중요성이 크게 부각되고 있다. 노화 및 심혈관계질환, 암, 고혈압, 고지혈증, 당뇨병, 골다공증 등 노화와 함께 증가하는 많은 질병들의 원인은 매일 먹는 식품과 식생활태도와 같은 환경요인이 가장 중요한 요인으로 거론되고 있다. 그러나, 식생활과 생활패턴이 서구화됨에 따라 육류 및 가공식품의 섭취가 날로 증가하는 반면 채소나 자연식품의 섭취는 점차 감소하고 있는 실정이다

한편, 오래 전부터 노화, 심혈관계질환 및 암의 예방을 위한 항산화설이 제시되어 왔다. 끊임없이 산소를 이용하고 있는 생체 세포내에서는 반응성이 강한 산소라디칼들이 사용하고 있는 산소의 약 3% 정도에서 생성되고 있다. 이들 산소라디칼들은 세포막과, 단백질, DNA등에 손상을 초래하는 것으로 알려져 있는데, 세포막의 구성성분인 인지질의 불포화지방산은 산소라디칼의 연쇄반응으로 인해 지질과산화물을 형성하여 세포막의 손상을 가져오는 동시에 세포막 단백질을 손상시킴으로써 세포막의 기능적 변화를 초래할 뿐만 아니라, 미토콘드리아나 핵내의 DNA에도 손상을 가져와 암 및 노화와 관련된 퇴행성 질환들을 야기 할 수 있다고 알려져 있다. 따라서, 식품 중에 체내에서 항산화효

과를 발현시킬 수 있는 식품들은 이러한 노화 및 노화관련질환의 예방 또는 억제에 효과가 있는 것으로 주목되어 왔다. 또한, 노화와 함께 증가하는 암, 내분비질환, 자가면역질환 및 감염질환들은 면역계를 구성하고 있는 면역세포들의 기능저하에서 비롯된다고 알려져 있다. 면역기능을 담당하고 있는 세포 중에서 T 림프구와 대식세포는 사이토카인(cytokine)이라는 다양한 폴리펩타이드를 합성하여 분비하는데, 이들 물질들은 항원에 대한 다양한 반응을 증폭시키는 중요한 역할을 하는데 최근의 발표에 따르면, 식품섭취를 통한 림프구의 증식이나 사이토카인의 분비능을 증진시킬 수 있는 가능성이 강하게 제안되고 있다.

3. 국내·외 관련분야 현황

우리나라의 기능성관련식품으로는 건강보조식품과 특수영양식품 및 인삼제품 등을 들 수 있으며, 이외의 일반식품 및 기능성강화식품, 비타민, 미네랄류가 포함되어 있다. 국내 건강보조식품의 품목별 시장점유율로 보면 키토산제품, 칼슘제품, 알로에제품 3가지군이 50%를 차지하고 있으며, 특수영양식품은 영유아용조제식, 영양보충용식품, 환자용식품, 식사대용식품으로 나뉘며, 기능성식품은 우유를 근간으로 하는 제품, 두류를 이용한 제품 및 식물성식품을 주 소재로 하는 제품 등이 주류를 이루고 있다. 한편, 미국에서는 1980년대 이후 소비자에게 정확한 정보를 주기 위한 건강정보표시를 강화하고 FDA에서는 표기한 정보가 적절한지를 검토하고 있으며, 1994년 식품의 유용성표시를 허가하는 법의 실시로 기능성식품 시장이 빠르게 성장하고 있다. 미국에서 판매되는 건강식품은 vitamin류가 39%로 가장 많고, 2위의 herb/botanicals가 29%로 최근 허브시장의 약진이 괄목할 만하다. 이는 허브와 관련된 임상적 연구자료들이 속속 발표되면서 소비자들의 관심과 그 신뢰성이 높아졌기 때문이다. 그러나, 우리나라 기능성식품산업은 생산을 위한 식품소재의 약 80%를 외국에서 수입하여 단순가공하는 정도의 기술수준에 머무르고 있는 형편이며, 몇가지 식품에 집중되어 있다. 또한 아직 법적인 제도가 정비되어 있지 않고 있으며, 제품의 효능을 뒷받침할 만한 과학적인 연구실험자료의 부족과 과대광고에 의한 유행성 및 다단계방문판매 등으로 인한 소비자들의 불신과 상품의 단명이 기능성식품산업의 발전에 부정적인 요인으로 작용하고 있다. 현재까지 많은 연구보고 들에 의하면 식물의 추출물에서 특정한 효능이 있는 물질을 분리, 정제하려는 시도가 이루어지고 있으나, 제각기 다른 실험방법의 사용으로 효과에 대한 상호비교가 어려우며, 또한 효능이 밝혀진 신소재들을 함유한 식품으로부터 만들어진 상품이 실제적으로 질병예방, 건강증진, 노화억제 등에 대한 효과가 있는지에 대한 연구자료는 매우 부족하다. 그리고, 더욱 큰 문제점으로는 일부 유효성분의 규명으로 특정 식품의 기능적 효과가 막대한 듯한 광고를 일삼는 일이 빈번할 뿐만 아니라, 일부 수입식품들의 효과들이 과대포장 되어 국민건강을 위해하고 국가 경제적으로도 큰 손실을 초래하고 있다는 점이다. 따라서, 이러한 기능성식품의 유효성에 대해서는 보다 종합적이고 체계적인 비교분석이 필요하며 특히 한국산 식품에 대한 자긍심을 갖도록 해주는 노력이 절실히 요구된다.

이에 본 연구진들은 과학적인 자료의 확보를 위한 첫 단계로 국내에서 보고된 식품관련 학술자료를 수집 정리하여 915편의 논문을 정리하여 총 662종의 식품에 대하여 건강보조인자의 종류와 효능에 관한 database를 구축하여 국내외 학회에서 보고한 바 있다.

제 2 장. 연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구내용

노화와 관련된 질병을 예방하기 위한 식단 구성시 과학적인 자료를 제시하기 위하여 식탁에서 자주 섭취하는 한국산 상용식품의 생리활성효과를 in vitro 및 in vivo 동물실험을 통하여 검색하였고, 더 나아가 바람직한 식품의 혼합구성을 찾고자 하였다.

(1) 한국인의 상용식품 중 식물성식품(채소류, 곡류, 과일류, 두류, 버섯류, 해조류)을 주 대상으로 항암 및 항돌연변이, 항산화효과, 면역기능증진효과를 in vitro 및 동물실험을 통하여 검색하여 각 기능별로 등급을 나누었다.

(2) 1차적으로 단일식품에 대하여 검색한 in vitro 항돌연변이 및 항산화효과, 면역증진효과 결과 그 활성이 고루고루 매우 우수한 식품 20가지를 선정하였다.

(3) 주식과 여러 가지 부식을 함께 섭취하는 한국식 식생활패턴을 고려하여 1차 검색을 통하여 선정된 20가지 식품 중에서 곡류, 채소류, 버섯, 해조류가 골고루 포함되도록 하여 5가지, 10가지 또는 20가지 식품으로 구성된 다양한 혼합식품시료를 만들어 다시 in vitro 항돌연변이효과, 항산화효과, 면역증진효과를 검색하였고, 효과가 좋은 일부 혼합시료는 동물실험을 통하여 항암효과, 항산화효과, 면역증진효과를 검색하였다.

(4) 대상 식품들 및 혼합식품의 총 flavonoid 및 polyphenol 의 함량을 측정하였다.

(5) 시료로 사용한 식품의 일부에 대하여 잔류 농약 함량을 측정하였다.

(6) 아울러, 현재까지 발표된 생리활성식품들에 대한 학술논문을 식품별, 생리활성별, 유효성분별로 데이터베이스를 구축하여 누구나 건강관련 학술자료를 쉽게 검색하여 이용할 수 있도록 하였다.

2. 연구수행방법

가. 식품의 선정 및 시료 준비

1)대상식품의 선정

곡류, 채소류, 버섯, 해조류, 과일 등 식물성 식품을 연구대상으로 하여, 이미 발표된 문헌 조사를 통하여 한국인들이 일상적으로 섭취하는 식품 중에서 생리활성 효능이 있는 식품을 우선적으로 선정하였고, 그 다음으로 보고는 없지만 흔히 즐겨먹는 식품을 일부 추가하였다. 그리고, 영지버섯, 솔잎과 같이 국내에서 건강증진을 위하여 민간요법으로 전통적으로 사용하고 있는 친숙한 식품을 선정하였으며, 국내산을 원칙으로 하였다. 단지 과일의 경우는 많이 섭취하고는 있으나 오렌지, 망고, 바나나, 레몬과 같이 국내산이 없거나, 외국 수입산이 대부분인 경우 수입산 과일을 선정하였다.

2)식품시료 구입 및 추출

(주)메타만나는 대전 중앙시장이나 대형마트에서 검색대상 식품 중 곡류, 채소, 버섯, 해조류 등은 한국산으로 구입하였고, 과일의 경우는 망고와 바나나(필리핀, 델몬트), 자몽(미국, 캘리포니아), 오렌지와 레몬(미국, 선키스트), 레드글러브 포도(칠레산), 건자두(미국, 썬스위트)를 제외하고 모두 국내산으로 구입하여 세척 후 동결건조기로(Vacuum freeze dryer, Biotron, Korea) 건조시켜 곱게 분쇄한 후 밀봉하여 -20°C 에서 냉동보관하면서 시료를 분말 상태 또는 에탄올추출물과 물추출물을 각각 획득하여 추출물을 각 연구과제팀에 시료를 적시에 공급하였다. 시료의 에탄올 추출물을 얻기 위하여 건조시료 일정량에 20배의 95% 에탄올(Ducksan, Korea)을 가하여 실온에서 stirring 하면서 24시간 동안 2회 반복 추출하여 Whatman 여과지 No. 6로 여과한 후 여과액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 감압농축하여 냉동보관하였다가 DMSO (dimethyl sulfoxide)에 녹여 지질과산화억제활성, DPPH 라디칼 소거활성 및 Ames test를 위한 시료로 사용하였으며, MDA-BSA conjugation 억제활성 실험을 위하여는 건조시료를 80% 에탄올로 추출한 다음 여과하여 농축시켰다.

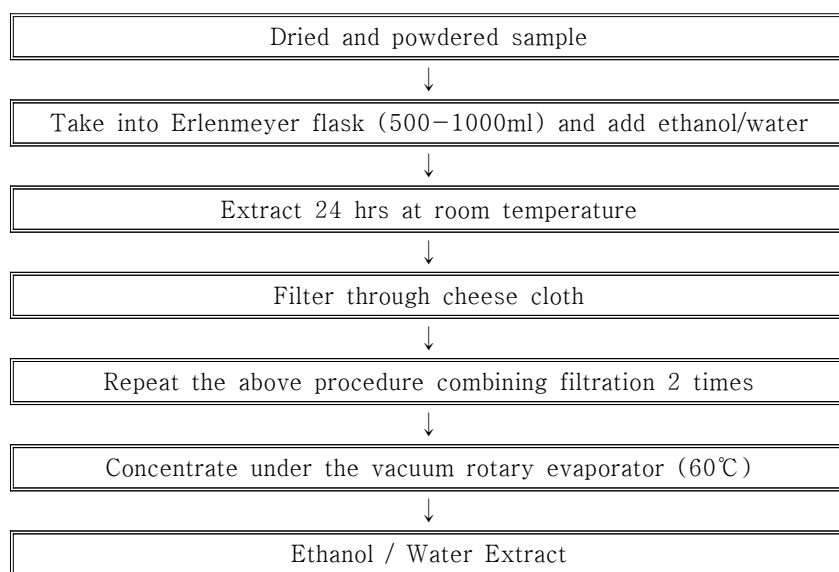


Fig 1. Flow diagram for ethanol/water extraction procedure

나. 항돌연변이 및 항암효과

1) 항돌연변이효과 검색

돌연변이 억제 효과를 측정하기 위하여 Maron과 Ames, Matsushima 등의 방법에 따라 Ames test를 실시하였다. 균주는 *Salmonella Typhimurium* TA98 (frame shift 형)과 TA100 (염기쌍 치환형)을 이용하였다. 직접돌연변이원으로 TA98에는 2-NF

(2-nitrofluorene, Aldrich), TA100에는 sodium azide phosphate (Sigma)를 사용하였으며, 간접돌연변이원으로는 2-AA (Anthramine, Sigma)를 사용하였다. 멸균된 12 x 75 mm의 뚜껑 있는 시험관에 DMSO에 녹인 에탄올추출시료를 90 μ L(최종농도 0-4.5mg/assay), 돌연변이원 10 μ L, 배양한 균주 0.1 mL (1×10^8 cells)을 섞고, 직접돌연변이를 넣은 시험관에는 0.5 mL의 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)를, 간접돌연변이를 넣은 시험관에는 0.5 mL의 S9 mixture (rat liver LS-9, Molttox) 를 각각 넣은 후 37°C에서 30분간 예비배양하였다. 그 다음 45°C의 0.5 mM histidine/biotin 용액이 10% 포함된 top agar 2 mL을 각 tube에 넣고 천천히 섞은 후 minimal glucose agar plate에 도말하였다. Top agar가 굳으면 다시 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant colony 수를 세어 대조군에 대한 실험군의 revertant colony 수를 비교함으로써 시료의 돌연변이 억제율을 계산하였다.

결과를 간편하게 알아보기 위하여 각 식품들의 에탄올 추출시료를 0-4.5mg/ml 농도로 투여한 범위내에서 가장 높은 돌연변이 억제율을 기준으로 다음과 같이 4단계로 점수화 하였다.

- 0 점 : inhibition < 10 % , +1점 : 10% \leq inhibition <25 % ,
 +2 : 25% \leq inhibition <50 % , +3: 50% \leq inhibition <75 % ,
 +4 : 75% \leq inhibition \leq 100 inhibition(%)

2) 암세포증식억제효과 검색

MTT(3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay를 이용하여 인간위암세포주(SNU-638), 유방암세포주(MCF-7), 자궁경부암세포주(HeLa)에 대한 에탄올 추출시료들의 암세포의 증식억제효과를 검색하였다. 암세포주를 배양 후 48 well plate에 5,000-10,000 cells /well 씩 심고, 24시간 경과후 배양액을 교환하면서 식품추출물을 농도별로 처리하였다. 처리 후 48시간 경과하면 배양액을 제거하고, 5 mg/ml 농도의 MTT용액을 30 μ L을 각 well에 가하고 37°C에서 4시간 더 배양하면 살아 있는 세포는 세포내 미토콘드리아의 succinic dehydrogenase에 의해 MTT를 산화시켜 청색의 불용성 formazan 생성물을 형성한다. 각 well당 DMSO 300 μ L를 가하여 formazan을 용해시켜 570nm 에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하여 생존한 세포비율을 산출한 다음, 성장을 50% 억제하는 에탄올 추출시료의 농도(IC50)를 구하였다.

$$\text{Cell growth Inhibition rate(\%)} = \frac{C - A}{C} \times 100$$

C: absorbance of control A: absorbance of sample

3) in vivo 항암효과 검색

<실험 1> 고콜레스테롤-동물성지방식이를 먹은 쥐에서 DMBA투여로 유도한 유방암 발생에 대한 혼합식품시료의 항종양효과

4주령의 SD rat를 대조군과 실험군 2군으로 나누어 대조군에는 10% 라드와 0.5% cholestrol 을 함유하는 고콜레스테롤 동물성지방식이(Table 1)를 먹이고 실험군에는 혼합시료 10A를 5% 첨가한 식이를 먹이다가 생후 50일째에 DMBA를 60mg/kg BW로 경구투여하여 유방암을 유도하고 투여 후 유방암 발생상태를 72일까지 관찰하였다. 실험기간동안 종양발생율과 희생 후 종양의 무게를 측정하였다.

<실험 2> 식물성지방과 동물성지방을 1:1로 한 표준식을 먹은 쥐에서 DMBA투여로 유도한 유방암발생에 대한 단일식품 및 혼합식품시료의 항종양효과

in vitro 실험 결과 항돌연변이 및 항암효과, 항산화효과, 면역증진효과가 매우 우수하였던 생강, 솔잎, 메밀과 혼합식품시료 10A, 10B, 1(5A), 2(5B), 3(5C)를 동물에게 섭취시켜 in vivo 항암효과를 알아보기 위하여, 5주령의 SD rat을 구입하여 1주일간 적응시킨 뒤, 각 군당 12마리씩 9군으로 분리하여 대조군에는 AIN 76 semipurified diet의 조성파 같이 실험실에서 제조하여 먹였으며, 다른 실험군들에는 5% 옥수수유와 5% 라드를 함유하는 기본식에 생강 1%, 솔잎 5%, 메밀 20%, 혼합식품시료 각 10%를 섞어 만든 실험식을 (Table 2)를 먹이기 시작하였다. 약 1주일 후 생후 50일이 되었을 때 DMBA를 옥수수기름에 녹여 50mg/kg BW 수준으로 경구투여하여 유방암을 유도하였다. 주 1회 체중을 측정하였고, 주 2회씩 세심한 관찰을 통하여 종양발생을, 사망률, 종양의 장직경과 단직경 측정, 종양의 개수 등을 기록하고 건강상태를 확인하였다. DMBA 투여 후 12주까지의 종양발생상태를 대조군과 비교함으로써 항암효과를 검색하였다.

Table 1. Diet composition for experiment 1.

(g/kg)

	control(L)군	LA군
corn starch	391	341
sucrose	200	200
casein	200	200
α-cellulose	47	47
dl-methionine	3	3
AIN vitamin mix	10	10
AiN mineral mix	40	40
corn oil	10	10
lard	90	90
Mix 10A	-	50
cholesterol	5	5
cholic acid	2	2
choline chloride	2	2
Energy (kcal/kg)	4,064	3,864

Table 2. Diet composition for experiment 2.

	Control	10A군	10B군	5A군	5B군	5C군
corn starch	528	439	441	435	443	440
sucrose	100	100	100	100	100	100
casein	180	180	180	180	180	180
corn oil	50	50	50	50	50	50
lard	50	50	50	50	50	50
a-cellulose	37	26	24	30	22	25
dl-methionine	3	3	3	3	3	3
AIN vitamin mixture	10	10	10	10	10	10
AIN mineral mixture	40	40	40	40	40	40
choline chloride	2	2	2	2	2	2
dried food powder(Mix)	0	100	100	100	100	100
Energy (kcal)						
Basal	4132	3776	3784	3760	3792	3780
Supplemented food	-	73	28	76	57	71
(Total)	4132	3849	3812	3836	3849	3851

Mix 10A : 생강, 취나물, 표고, 울무 등 10종

Mix 10B: 솔잎, 돌미나리, 톳, 메밀 등 10종

Mix 5A: 생강, 울무 등 5종

Mix 5B: 솔잎, 메밀 등 5종

Mix 5C: 썩, 수수 등 5종

	생강군	솔잎군	메밀군
corn starch	518	503	376
sucrose	100	100	100
casein	180	180	156
corn oil	50	50	45
lard	50	50	50
a-cellulose	37	12	18
dl-methionine	3	3	3
AIN vitamin mixture	10	10	10
AIN mineral mixture	40	40	40
choline chloride	2	2	2
dried food powder	10	50	200
Energy (kcal)			
Basal	4092	4032	3383
Supplemented food	-	-	574
Total	4092	4032	3957

다. 항산화효과 검색

1) in vitro 항산화효과

(1) 지질과산화 억제효과 측정

Antonella 등과 Gotteried 와 Dunkley 의 방법에 따라 Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleate의 과산화에 대한 억제활성을 TBA (Thiobarbituric acid)로 발색시켜 측정하였다. DMSO에 녹인 에탄올추출시료를 농도별로 희석하여 20 μ l 와 10 ml의 10 mM linoleic acid 용액을 섞은 후 37°C에서 1시간 동안 shaking incubation 시켰다. 여기에 0.05 M $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 20 μ l를 넣고 37°C에서 2시간 동안 shaking하여 과산화를 유발시킨 후, 800 μ l를 취하여 4°C에서 10분간 tempering시키고 400 μ l의 TBA reagent를 첨가한 다음 boiling water bath에서 15분간 가열한 후 냉각시켰다. 생성된 지질과산화물을 n-butanol로 추출하여 535 nm에서 흡광도를 측정한 후 (Molecular Devices, SpectraMax 340 pc) 시료에 의한 과산화지질 생성 억제율을 계산하였으며, 시료농도와 억제율 간의 관계를 나타내는 방정식을 구한 후 50% 억제율을 나타내는 시료의 농도 (IC_{50})를 계산하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{대조군의 흡광도} - \text{시료 처리군의 흡광도})}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

(2) DPPH 라디칼 제거 효과 측정

시료의 DPPH 라디칼 소거효과는 DPPH에 대한 환원력으로 측정하였다. 에탄올 추출물을 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 μ l와 에탄올에 녹인 200 μ M DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 190 μ l를 섞은 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 ELISA reader (SpectraMAX 340pc, Molecular devices, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군에 비하여 감소된 흡광도로부터 라디칼 제거율을 계산하였고, IC_{50} 의 시료 농도를 계산하였다.

(3) 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과

공격적인 지질과산화물은 단백질과 결합하여 단백질의 기능 및 활성에 영향을 줌으로써 체내의 정상적인 기능에 악영향을 미칠 수 있기 때문에, 본 연구실에서 개발한 방법에 따라 bovine serum albumin (BSA, Sigma)과 malondialdehyde (MDA)와의 상호결합을 식품시료들이 얼마나 억제하는지에 대한 효과를 비교하였다. BSA (2 mg/ml) 100 μ L, MDA (20 mM) 100 μ L에 0.1 M PBS와 추출시료를 여러 농도로 혼합한 후 37°C에서 24시간 반응시킨 다음, 혼합액 500 μ L를 Centricon(Centricon YM-10, Amicon)에 넣고, 1,400 x g에서 2시간 동안 원심분리하여 MDA-BSA 결합물을 분리한 후, 여분의 염을 제거하기 위하여 증류수 700 μ L를 넣고 다시 1,400 x g에서 2시간 동안 원심분리하였다. 증류수로 3회 반복 세척한 후 시료를 0.1 M PBS에 녹여 Bradford 방법으로 단백질 정량하고 12% acrylamide gel 에서 전기영동 (SDS-PAGE)한 후 Coomassie 염색을 시행하여 MDA-BSA 결합물의 band를 densitometer (BIO-1D Image Analysis, Vilber Lourmat, Germany)로 정량함으로써 지질과산화물과 단백질의 결합억제율을 계산하였다. MDA는 Gomez-Sanchez 의 방법에 따라 실험실에서 직접 제조하여 사용하였다.

2) in vivo 항산화효과 검색

(1) 실험동물 및 식이

<실험 1> 어유섭취에 의한 지질과산화 유도 모델

5주령의 SD rat 숫컷을 8군으로 나누어 4군은 옥수수기름식이군, 또 다른 4군은 어유식이군으로 나누어 각각 기본식이와 실험식을 Table 3과 같이 만들어 4주간 자유급식시킨 후 overnight fasting 후 단두로 희생하였다. 실험식으로는 옥수수기름식이는 10% 옥수수기름, 어유식은 2% 옥수수기름+8% 정어리유를 함유하는 AIN 76 semipurified diet를 기본식으로 하여 실험군에는 각 기본식에 건조식품혼합물을 5% 섞어 자유급식하였다. Mixture 10A 와 10B는 10가지 식품을 동결건조한 후 분쇄하여 동일한 비율로 섞은 후 기본식에 5% 가 되도록 첨가하였고, Mixture C는 A와 B의 식품 20가지 모두를 같은 비율로 섞어 기본식에 5% 첨가하였다. 실험식은 1주일마다 새로 만들어 냉동보관하면서 매일 새로운 식이를 신선하게 공급하였다.

Table 3. Grouping and diet for experiment 1

I. 옥수수기름식이군

- (1) CO : control diet(10% corn oil)
- (2) COA : control diet + Mixture 10A
- (3) COB : control diet + Mixture 10B
- (4) COC : control diet + Mixture C

II. 어유식이군

- (5) FO : fish oil diet (2% corn oil + 8% sardine oil)
- (6) FOA: fish oil diet + Mixture 10A
- (7) FOB: fish oil diet + Mixture 10B
- (8) FOC: fish oil diet + Mixture C

Mix 10A : 생강, 취나물, 표고, 울무 등 10종

Mix 10B: 솔잎, 돌미나리, 톳, 메밀 등 10종

Mixture C : Mixture A + Mixture B (1:1)

<실험2> 고콜레스테롤-라드식이 섭취에 의한 혈중 콜레스테롤 증가 모델

5주령의 SD rat 숫컷 옥수수기름식이군과 고콜레스테롤-라드식이군으로 나눈 후 옥수수기름식이군은 4군으로 나누어 대조군과 실험군 3개로 나누고 (Table 4), 고콜레스테롤-라드식이군은 3군으로 나누어 대조군과 2개의 실험군으로 나누어 4주간 실험식을 자유급식시켰다. 실험식으로는 옥수수기름식이는 10% 옥수수기름, 고콜레스테롤-라드식은 1% 옥수수기름+ 9% 라드 + 0.5% 콜레스테롤을 함유하는 AIN 76 semipurified diet를 기본식으로

하여 실험군에는 각 기본식이에 건조식품혼합물 mixture A, B, C를 각각 5% 섞어(Table 5) 자유급식하였다.

Table 4 . Grouping and diet for experiment 2

I. 옥수수기름식이군

(1) C : control diet

(2) CA : control diet + Mixture A

(3) CB : control diet + Mixture B

(4) CC : control diet + Mixture C

II. 고콜레스테롤-라드식이군

(5) LC : Lard diet + 0.5% cholesterol

(6) LCA: Lard diet +0.5% 콜레스테롤 + Mixture A

(7) LCC: Lard diet +0.5% 콜레스테롤 + Mixture C

Table 5. Composition of experimental diet for experiment 2.

(%)

Ingredient\Gr	CO	COA	COB	COC	LC	LCA	LCC
Corn oil	10	10	10	10	1	1	1
Corn starch	40	35	35	35	39.1	34.1	34.1
Sucrose	20	20	20	20	20	20	20
Casein	20	20	20	20	20	20	20
α-cellulose	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	3	0.3	0.3
AIN vitamin mix	1	1	1	1	1	1	1
AIN mineral mix	4	4	4	4	4	4	4
Mix A	-	5	-	-	-	5	-
Mix B	-	-	5	-	-	-	-
Mix C	-	-	-	5	-	-	5
Lard	-	-	-	-	9	9	9
Cholesterol	-	-	-	-	0.5	0.5	0.5
Cholic acid	-	-	-	-	0.2	0.2	0.2
Choline chloride	-	-	-	-	0.2	0.2	0.2

<실험 3> 고지방고콜레스테롤식이를 섭취한 동물모델에서 에탄올 추출물의 항산화효과

4주령의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 (주)샘타코로부터 공급받아 1주일간 적응시킨 후 체중을 측정하여 평균무게가 비슷하도록 하여 7마리씩 6개 군으로 분리한 후 각각의 실험식이를 <Table 6> 과 같이 만들어 5주간 자유급식시켰다. 즉 실험동물은 ①저지방식이군 (LF : 10% fat Kcal), ②고지방고콜레스테롤식이군(HFHC: 30% fat Kcal), ③고지방고콜레

스테롤식이 +5% 혼합분말시료5B 식이군 (P5B), ④고지방고콜레스테롤식이 +5% 혼합분말시료5C 식이군(P5C), ⑤고지방고콜레스테롤식이 +에탄올추출물5B 식이군 (E5B), ⑥고지방고콜레스테롤식이 +에탄올추출물5C 식이군 (E5C)으로 분리되었으며, 저지방식은 2.5% 옥수수기름 + 2.5% 라드를 함유하고, 고지방고콜레스테롤식은 2.5% 옥수수기름 + 12.5% 라드 +1% 콜레스테롤을 함유하도록 만들었으며, 고지방고콜레스테롤식을 기본으로 P5B군과 P5C군 식이는 혼합분말시료를 그대로 식이무게의 5%를 섞어 만들었으며, E5B군과 E5C군 식이는 5% 중량의 혼합분말시료로부터 얻은 에탄올추출물을 농축하여 식이에 첨가한 후 냉동하였다가 1-2 일마다 새롭게 공급되었다. 실험동물들에게 식이와 물은 자유급식되었으며, 사육기간 동안 1주일마다 체중을 측정하였다. 사육환경은 22-25℃, 습도 50-60%, 12 시간 dark/light cycle을 유지하였다.

Table 6 . Diet composition for experiment 3. (g/kg)

	LF	HFHC	P5B	P5C	E5B	E5C
Corn starch	575	475	425	425	475	475
Sucrose	100	100	100	100	100	100
Casein	180	180	180	180	180	180
Corn oil	25	25	25	25	25	25
Lard	25	125	125	125	125	125
α-cellulose	40	40	40	40	40	40
dl-methionine	3	3	3	3	3	3
AIN vitamin mixture	10	10	10	10	10	10
AIN mineral mixture	40	40	40	40	40	40
Choline chloride	2	2	2	2	2	2
Cholesterol	-	10	10	10	10	10
5B, powdered	-	-	50	-	-	-
5C, powdered	-	-	-	50	-	-
5B, EtOH extracted	-	-	-	-	3.8 ¹⁾	-
5C, EtOH extracted	-	-	-	-	-	3.3 ²⁾
Energy(Kcal/kg)	3870	4370	4170	4170	4370	4370
Fat energy(Kcal%)	11.6	30.9	32.4	32.4	30.9	30.9

LF: low fat diet(5%), HFHC: high fat(15%) high cholesterol(1%),
P5B: HFHC+powder 5B, P5C: HFHC diet +powder 5C,
E5B: HFHC+EtOH extract 5B, E5C: HFHC diet +EtOH extract 5C

1)EtOH extract wt from 50g of powdered mixture 5B

2)EtOH extract wt from 50g of powdered mixture 5C

5B: 솔잎, 메밀 등 5종의 동일비율 혼합,

5C : 쑥, 수수 등 5종의 동일비율 혼합

(2) 시료수집 및 전처리

실험기간 종료일 밤 동안 급식을 중단한 후 다음 날 오전에 단두하여 혈액을 얻은 후 즉시 개복하여, 간과 신장을 적출하여 차가운 생리식염수에 씻어 혈액을 제거하고, 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고, 얼음 위에서 작게 잘라 액체질소로 급속 냉동시킨 뒤 -70°C 에 보관하였다. 혈액은 3000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 얻어 -70°C 에 보관하였다. 한편, 냉동보관 하였던 간과 신장은 1 g에 차가운 homogenizing buffer(1.15% KCl, 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH7.4) 10 ml 넣어 Teflon homogenizer (S63C, Tri-R, Instruments, USA)로 4°C 에서 균질화한 후, 4°C , 800 g에서 10분간 원심분리 하여 상층액(S1 분획)을 얻어 일부는 -70°C 에 냉동하였고, 일부는 다시 4°C , 12,000 g에서 30분간 원심분리 하여 상층액(S2 분획)과 하층액을 각각 -70°C 에 aliquot하여 냉동보관 하였다. S2 분획의 일부는 다시 4°C , 100,000 g에서 1시간 원심분리하여 상층액(cytosol 분획)과 하층액(microsome 분획)을 각각 -70°C 에 aliquot하여 냉동보관 하였다.

(3) 기본혈액검사: 혈청으로부터 protein, albumin, GOT, GPT, BUN, ALP, 중성지방, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 농도를 Technicon autoanalyzer 로 측정하였다.

(4) 항산화효과 검색

●혈청 총항산화능 측정(total antioxidant power)

체내 총항산화능은 산성 조건에서 ferric ion이 ferrous로 환원되면 TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine)과 결합하여 ferrous-tripyridyltriazine의 물질을 생성하여 593nm에서 푸른색을 발색하는 성질을 이용한 Benzie 등의 FRAP(ferric reducing ability of plasma)방법에 따라 혈청에서 측정하였다. 표준시약으로 trolox를 이용하였고 항산화능은 trolox equivalent로 표시하였다.

●지질과산화물 정도 측정

혈청 및 조직의 10% 균질액에서 지질과산화물 생성정도 측정하였다. 혈청은 혈액을 3000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻었다. 효소적 지질과산화물의 생성은 Svingen 등의 방법으로 시료에 NADPH-ADP-Fe를 처리하여 지질과산화를 유도한 후 생성된 TBARS를 532nm에서 spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 계산하였으며, 비효소적 지질과산화물의 생성은 ascorbic acid-Fe를 처리하여 생성된 지질과산화물을 532nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 표준 시약으로 malondialdehyde(MDA)를 사용하여 표준곡선을 구하였고, 조직은 S1 분획의 단백질 농도를 Lowry 방법으로 측정하여, 시료의 TBARS의 농도를 혈청은 nmole MDA/ml, 조직시료는 nmole MDA/mg protein으로 표시하였다.

●항산화효소 활성 측정

Catalase 활성은 간과 신장 조직의 mitochondria 분획에서 Aebi의 방법에 따라 240 nm에서 1분간 H_2O_2 를 제거하는 속도를 측정하여 nmol H_2O_2 /min/mg protein 으로 표시하였다. GPx(Glutathione peoxidase)와 GST(Glutathione S-transferase) 활성은 간과 신장 조직의 S2 분획에서 각각 Tappel의 방법 및 Habig 등의 방법을 이용하여 측정하였다. GPx 활성 측정은 0.1 mM EDTA를 포함한 50 mM Tris buffer(pH 7.6)에 0.25 mM GSH, 0.12 mM NADPH, 1 unit의 GSH-reductase 혼합액에 1 mg 단백질을 포함하는 S2분획을 넣고, 37°C 에서 5분간 반응시킨 뒤 cummen hydroperoxide를 넣자마자 340 nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. GPx의 활성은 nmole NADPH/min/mg protein으로 표시하였다. GST 활성 측정은 1 mM GSH 1 ml과 1 mM DCNB(3, 4-dichloronitrobenzene) 1 ml을 섞은 후 2

5°C 수조에서 2분간 두었다가 0.1 M potassium phosphate beffer (pH 6.5) 450 μ l와 S2 분획 50 μ l을 가한 후 spectrophotometer로 340 nm에서 2분간 흡광도를 측정하여 1분동안의 흡광도의 변화로부터 nmole CDNB/min/mg protein의 단위로 표시하였다. Cu,Zn-SOD(Superoxide dismutase) 활성은 간과 신장 조직의 S2 분획에서 superoxide dismutase의 활성을 Misra와 Fridovich 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 약 2 mg protein/ml의 농도로 희석시킨 S2 분획 50 μ l에 0.05 M sodium carbonate buffer(pH 10.2) 1.4 ml을 넣어 30°C 수조에서 3분간 두었다. 여기에 0.01 M dl-epinephrine/0.01 M HCl (pH 2) 50 μ l을 넣은 후, spectrophotometer로 480 nm, 30°C에서 4분간 흡광도를 측정하여 흡광도의 변화를 계산한 후 epinephrine의 자동산화율 50% 억제시킬 때를 1 unit로 하여 계산하였다. 간 조직에서의 XO(Xanthine oxidase)활성은 Stirpe 와 Della Corte의 방법에 따라 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 10분간 반응시켜 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하여 간조직의 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole 농도로 표시하였다. 조직시료의 단백질 분석은 Lowry의 방법으로 측정하였다.

(5) 통계처리 및 분석

연구결과는 SAS 프로그램을 이용하여 평균치와 표준오차로 나타내었고, 각 실험군 간의 비교는 ANOVA-test/Duncan-test를 실시하여 평균값들의 유의한 차이를 검증하였다.

라. 면역기능증진효과 검색

1) 단일식품의 in vitro 효과 검색

당근, 갓, 고들빼기, 근대, 기장, 깻잎, 냉이, 늪은호박, 달래, 돌나물, 돌미나리, 마늘, 메밀, 무, 무잎, 미나리, 부추, 브로콜리, 상추, 생강의 면역기능증진효과를 검색하기 위하여 열수추출물과 에탄올추출물을 얻어 mouse 비장세포와 복강대식세포의 증식능 및 복강대식세포의 cytokine생성량을 측정하여 마우스의 면역능에 미치는 영향을 측정하였다.

(1) 마우스 비장세포 증식능

① 마우스 비장세포의 분리 및 배양

Balb/c mouse를 경추 탈골법으로 희생시킨 뒤 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 용액으로 비장세포를 유리시키고, 200mesh stainless steel sieve를 통과시켜 세포 debris를 제거하였다. 이 세포 부유액을 50ml 원심관에 옮겨 4 °C, 3000 rpm에서 10분간 원심 침전 시켜 cell pellet을 얻은 후, RPMI로 원심세척한 다음 증류수와 Tris-buffered ammonium chloride(0.87 % NH₄Cl, pH 7.2)에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거하였다. RPMI로 2회 원심 세척한 후 모아진 비장세포를 10 % FBS가 첨가된 RPMI 1640에 분산시켜, trypan blue solution으로 염색한 후 hemocytometer를 사용하여 세포수를 측정하였다. 그 후, 세포수를 5.0×10⁶ cell/ml의 농도로 비장세포를 재부유시켜서 96-well plate에 분주한 후 세포 증식능 측정에 사용하였다.

② 세포증식능 측정 - MTT assay법

마우스 비장세포의 증식능은 MTT assay를 이용하여 측정하였다.

MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide; Sigma; 5mg/ml in saline) assay는 세포독성(cytotoxicity)뿐만 아니라, 생세포수(viability), 세포증식능(proliferation)등을 측정하는데 자주 이용되며, 원리로는 생존세포의 미토콘드리아에 있는 탈수소효소(dehydrogenase enzyme)에 의해 수용성의 황색물질인 MTT용액이 비수용성의 질푸른 formazan으로 전환되므로 이 때 생성된 formazan의 양은 생존세포수에 정비례함을 이용한 것이다. 각 sample의 추출물을 0.1% DMSO(cell culture)용액에 0.1-10 mg/ml의 농도가 되도록 조제하고 96-well plate의 각각의 well에 10 μ l씩 가하여 최종농도가 5-500 μ g/ml이 되도록 하였다. 마우스 비장세포 조제법에 의해 만들어진 비장세포 현탁액을 1 \times 10⁶ cell/ml이 되도록 보정하여 96 well plate에 90 μ l/well을 가하였다. Mitogen으로 각 well당 T 세포를 증식시키는 ConA(5 μ g/ml) 또는 B 세포를 증식시키는 LPS(15 μ g/ml) 또는 여러농도의 추출물들을 10 μ l씩 가한 후, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에 넣어 24시간 또는 48시간동안 배양하였다. 배양 후, 10 μ l의 MTT를 각 well에 가한 후 알루미늄 호일에 밀폐하여 4시간동안 incubation시켜서 formazan crystal 형성을 유도하였다. plate를 1000 rpm에서 5분간 원심하여 상층을 조심스럽게 제거한 후, formazan crystal을 용해하기 위해 150 μ l의 DMSO를 가하여 20분간 흔들어 완전 용해시킨 다음, microplate spectrophotometer를 이용하여 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 마우스 비장세포 증식능은 다음의 공식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Proliferation Index} = \text{Sample의 흡광도} / \text{Control의 흡광도}$$

(2) 마우스 복강 대식세포의 cytokine 분비능

① 마우스 복강대식세포의 분리 및 배양

마우스 복강내의 4% thioglycollate(Sigma) 2ml를 주사하여 3일간 복강내에 대식세포가 모이게 한다. 주사 후 3일 뒤 경추탈골법으로 마우스를 희생시킨 후 복부를 열어 RPMI-1640으로 복강을 세척한 후 4 $^{\circ}$ C에서 멸균처리된 시험관에 수집한다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 시킨 후 대식세포의 cell pellet을 얻는다. 위에서 얻은 cell pellet을 Tris-buffered ammonium chloride(0.87 % NH₄Cl, pH 7.2)에 현탁시켜 5분간 처리하여 적혈구를 제거한다. 적혈구를 제거한 cell pellet을 4 $^{\circ}$ C, 3,000 rpm에서 10분간 원심세척한 후 fetal bovine serum(FBS) 10%를 함유하는 RPMI-1640에 부유시켜 96-well plate의 한 well(100 μ l)당 1 \times 10⁶cell/ml이 되도록 3회 반복하여 분주한다. 5% CO₂ incubator에서 2시간 배양한 후 배양액을 교환하여 배양용기 표면에 부착되지 않은 세포는 제거하고 부착된 대식세포만 실험에 사용하였다.

② 추출물들의 세포독성 측정

대식세포에 대한 추출물의 세포 독성은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. 결과는 대조군의 세포 생존율에 대한 백분율로 나타내었다. 즉, 96well plate에 1 \times 10⁶ cell/ml의 복강대식세포를 분주하고 각 농도의 시료 추출물 10 μ l를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에 넣어 48시간동안 배양하였다. 배양한 각 well에 10 μ l의 MTT(5mg/ml in PBS)를 가한 후, 알루미늄 호일로 밀폐하여 4시간동안 incubation시켜서 formazan crystal 형성을 유도하였다. Plate를 1,000 rpm에서 5분간 원심하여 상층을 조심스럽게 제거한 후, formazan crystal을 용해하기 위해 150 μ l/well의 DMSO를 가하여 20분간 흔들어 완전 용해시킨 다음, microplate spectrophotometer를 이용하여 540nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이렇게 하

여 얻어진 흡광도의 상대적인 값을 비교하여 세포독성을 측정하였다.

③ In vitro 대식세포 활성 증진능 측정

추출물에 의해 활성화된 대식세포의 면역능의 측정은 각각의 구황식물 추출물을 첨가한 마우스 대식세포 배양 상층액을 가지고 cytokine(TNF- α , IL-1 β , IL-6)를 각각 측정하였다. 준비한 마우스 복강 대식세포를 48well plate에 1×10^6 cell/ml씩 분주하고 각 농도의 시료 추출물 100 μ l를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂ incubator에 넣어 48시간동안 배양하여, 배양 상층액을 분리하여 TNF- α , IL-1 β , IL-6 생성량을 측정한다.

2) 우수단일식품의 ex vivo 실험

1차년도에 실시한 in vitro 실험을 바탕으로 한 ex vivo 실험으로 상용식품(고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳) 열수 추출물을 실험 동물에 경구 투여함으로써 열수 추출물이 마우스 면역능에 미치는 영향을 검색하였다. 실험군으로 고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳 열수 추출물을 50 mg/kg b.w.과 500 mg/kg b.w.의 농도로 0.2 ml/day씩 4주 동안 격일로 투여하였으며 대조군으로는 동량의 생리 식염수를 사용하였다. 마우스 면역능을 측정하기 위한 지표로서 비장 세포를 분리해 비장세포 증식능을 측정하였고, 복강 대식세포를 분리해 활성화된 복강 대식세포가 분비하는 cytokine(IL-1 β , IL-6, TNF- α) 분비량을 측정하였다.

(1)고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳 열수 추출물의 경구투여

임의 배치법(randomized complete block design)에 의해 대조군 또는 50 mg/kg b.w.과 500 mg/kg b.w.의 농도군으로 각 군 당 9마리씩 나누어 실시하였다. 상용식품(톳, 고들빼기, 돌미나리, 메밀) 열수 추출물을 각각 50 mg/kg b.w.과 500 mg/kg b.w.의 농도가 되도록 멸균 증류수로 희석하여 0.2 ml씩 4주간 격일로 경구 투여하였고, 대조군으로는 생리 식염수를 동량 투여하였다.

(2)비장세포와 복강대식세포 증식능 및 복강대식세포에서의 cytokine 분비량 측정

: 1차년도와 동일

3) 혼합식품시료의 효과 검색

1, 2차년도에 한국인 상용식품 중 20가지를 선정하여 마우스 비장세포 증식능과 복강 대식세포에 의한 cytokine(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , IL-10) 분비능에 미치는 영향과 IFN- γ 와 IL-10의 ratio를 측정하였다. 3차년도 연구에서는 이들 시료간의 혼합에 의한 효과를 측정하였다. 혼합시료는 10A, 10B, C, 2(5B), 3(5C)에 대하여 실험하였다. 이들 시료로부터 얻은 물추출물을 4주간 격일로 50 mg/kg BW과 500 mg/kg BW의 농도로 마우스에 직접 경구 투여한 후 비장세포 증식능과 활성화 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인 분비능을 측정하여 면역기능 평가의 지표로 삼았다(단일시료 검색과 동일한 방법).

마. 식품시료의 총 Flavonoid 와 polyphenol 함량 측정

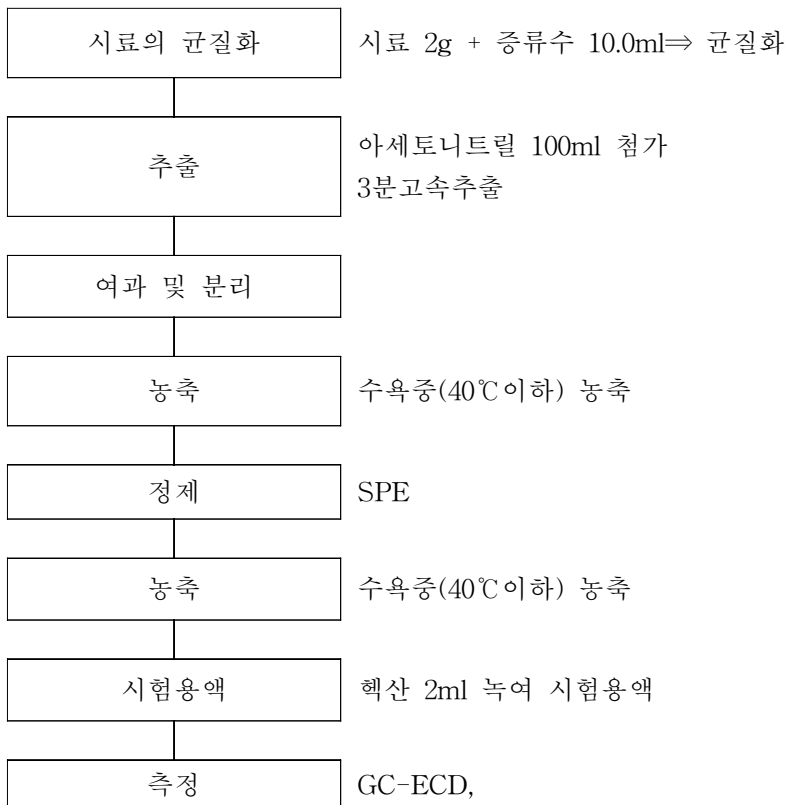
Flavonoid 와 polyphenol 함량을 측정하기 위하여 Lee 등의 방법에 따라 동결건조한 건 시료 1 g에 50 ml의 75% 에탄올을 가하고 18시간 동안 교반한 후 추출액을 Whatman

paper로 여과한 다음 75% 에탄올로 50 ml 까지 맞춘 후 즉시 측정하였다. 총 flavonoid 함량 측정은 Davis법을 변형한 방법에 따라 시행하였다. 에탄올추출 검액 400 μ l에 90% diethylene glycol 4 ml을 첨가하고, 다시 1N NaOH를 40 μ l을 넣고 37°C water bath에서 1시간 동안 incubation한 후 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin (Sigma, USA)을 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 Singleton 등의 방법에 따라 에탄올 추출 검액 400 μ l에 50 μ l의 Folin-ciocalteau, 100 μ l의 sodium carbonate (Na_2CO_3) 포화용액을 넣고 실온에 1시간 방치한 후 spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 tannic acid (Sigma, USA)를 사용하였다.

바. 식품의 잔류농약 검사

1) 검사방법

식품공전 농약잔류시험법 중 동시 다성분시험법 (정밀검사법)에 따라 시험하였다.



● GC 조건

ECD

컬럼 : DB-5MS (30 \times 0.25mm ID)

캐리어가스 및 유량 : 질소, 1.0ml/분

온도 - 주입부 : 250°C

검출기 : 290°C

오븐 : 100°C에서 시료주입후 290°C까지 온도상승

시료주입량 : 1 μ l

2) 검사항목

총 120가지의 농약화학물질에 대하여 검사하였다. (Table 7)

Table 7. The items for determination of chemical residues in Korean vegetables.

Standard A(37)	Standard B(41)	Standard C(42)
2,4-DDT	2,4-DDE	2,4-DDD
4,4-DDT	4,4-DDE	4,4-DDD
Bromacil	Acetochlor	Aldrin
Bromopropylate	Alachlor	Azinphos methyl
Chlordane	α -BHC	Bifenox
Chlorfenvinfos	β -BHC	Captafol
Chlorpyrifos-methyl	γ -BHC	Captane
Clofentezine	δ -BHC	Carbofenthion
Diazinon	Chlorbenzilate	Chlorsulfuron
Dichlorvos(DDVP)	Chlorfenapyr	Cypermethrin
Dicofol	Chlorothalonil	Dicoloran
Dimethipin	Chlorpyrifos	Dieldrin
Edifenphos	Cyfluthrin	Disulfoton
Endosulfan- (α , β , sulfate)	Cyhalothrin	Endrin
Etrimfos	Deltamethrin	EPN
Fenarimol	Diclofluanid	Ethalfuralin
Fenbuconazole	Dimethoate	Fluvalinate
Flucythrinate	Dinocap	Hepachlor
Iprodion	Diuron	Hexaconazole
Metolachlor	Ethion	Malathion
Nitrapyrin	Ethoprophos	Methidathion
Oxadiazon	Fenitrothion	Metribuzin
Oxyfluorfen	Fenpropathrin	Mevinphos
Permethrin	Folpet	Paclobutrazol
Phethoate	Imazalil	Parathion methyl
Phosalone	Metobromuron	Pendimethalin
Procymidone	Myclobutanil	Propanil
Profenofos	Norflutazon	Pyrazophos
Tetradifon	Parathion	Quintozene
Thiometon	Phosmet	Tolyfluanid
Tralomethrin	Phosphamidon	Triadimefon
Trifluthalin	Prochloraz	Triallate
Haloxifop methyl	Vinclozolin	Fluquinconazole
Famoxadone	Hexaflumuron	Oryzalin
Pyributicarb	Halfenprox	Pyridaphenothion
Flufenacet	Imibenconazole	Nuarimol
Propaquizafop ethyl	cyhalofop buthyl	Lufenuron
	Tenylchlor	Fenhexamide
	Acibenzolar-S-methyl	Nitralin
	Etridiazole	Pyrazoxyfen ethyl

사. 한국인이 섭취하는 식품에 대한 생리활성 보고 Data Base 구축 및 상호 검색 시스템 개발

한국인들이 섭취하고 있는 식품에 대하여 국내에서 발간되고 있는 18종류의 식품관련 학술지를 대상으로 창간호부터 2004년 5월까지 발표된 논문과 학술발표 중 생리활성을 갖는 식품에 대한 보고를 수합하여 초록을 입력한 후, 식품군별, 생리활성 기능별, 유효성분별로 초록을 국문 또는 영문으로 검색할 수 있도록 Data Base를 구축하고, 상호 검색 시스템을 개발하였다

1) 문헌 수집 및 초록 입력

2) 식품군 및 약재류의 분류 및 code 부여

코드	분류	코드	분류
01001-	곡류 및 그 제품	11001-	어패류
02001-	감자 및 전분류	12001-	해조류
03001-	당류 및 그 제품	13001-	우유 및 유제품
04001-	두류 및 그 제품	14001-	유지류
05001-	종실류 및 그 제품	15001-	음료 및 주류
06001-	채소류	16001-	조미료류
07001-	버섯류	17001-	조리가공식품류
08001-	과실류	18001-	기타
09001-	육류 및 그 제품	19001-	약재류
10001-	난류		

3) 생리활성의 분류

식품의 생리활성을 다음과 같이 크게 9가지로 분류하였다.

- ① 노화억제(Aging delaying activity)
- ② 생체방어(Body protection activity)
- ③ 성인병예방(Chronic disease prevention activity)
- ④ 신체의듬조절(Regulation of metabolism)
- ⑤ 항돌연변이성(Antimutagenic activity)
- ⑥ 항미생물활성(Antibacterial activity)
- ⑦ 항산화성(Antioxidative activity)
- ⑧ 항암성(Antitumor activity)
- ⑨ 기타(Others)

4) 유효성분의 입력

생리활성을 나타내는 특정 성분별로 검색할 수 있도록 하였다.

5) 식사요법과 식품선택에 관한 자료를 조사, 정리

임상의학 자료와 각종 식품영양학 자료를 검토하여 질병의 병태생리를 이해하고 질병의 치료와 합병증 발생 그리고 질병의 진행을 막는데 도움을 주는 식사요법과 식품선택에 관한 자료를 조사, 정리하였다.

3. 연구결과

가. 단일식품에 대한 검색

1) 항돌연변이효과 및 항암효과

곡류, 채소, 버섯, 해조류를 포함하는 43종과 과일 및 과일피 28종에 대하여 Ames test를 통하여 돌연변이 억제효과를 검색한 결과 생강, 솔잎, 톳, 기장, 돌미나리, 울무, 영지버섯, 냉이, 메밀, 미나리, 수수, 쑥갓, 파세리, 표고버섯, 마늘, 망고, 망고피, 매실, 살구 레몬, 레몬피가 매우 우수하였으며, MTT 방법으로 위암세포주(SNU-386), 자궁암 세포주(HeLa), 유방종양 세포주(MCF-7)에 대한 세포독성실험 결과 솔잎, 깻잎, 파래, 톳, 울무, 기장은 3가지 암세포의 증식을 모두 매우 효과적으로 억제하는 효과를 보였다. 한편, SD rat을 이용하여 DMBA를 50mg/kg BW 수준으로 경구투여하여 유방종양발생을 유도하는 과정에서 분말 식품시료를 먹인 결과 솔잎, 메밀, 생강이 종양 발생을 및 종양 생성수를 효과적으로 억제하는 효과를 보였다.

(1) 돌연변이 억제효과

● 채소, 곡류, 버섯, 해조류 (Table 8)

① 생강, 솔잎, 톳은 TA98과 TA100에 대하여 직접돌연변이 및 간접돌연변이 억제효과가 모두 매우 탁월하였다.

② 기장, 돌미나리, 울무, 영지버섯은 TA 98과 TA100에 대하여 간접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였으며, TA100에 대한 직접돌연변이 억제효과도 매우 우수하였다.

쑥, 깻잎은 TA 98과 TA100에 대하여 간접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였으며, TA 98에 대한 직접돌연변이 억제효과도 매우 우수하였다.

③ 냉이, 메밀, 미나리, 수수, 쑥갓, 파세리, 표고버섯은 TA 98과 TA100에 대하여 간접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였다.

파래는 TA100에 대하여만 직접 및 간접 돌연변이 억제효과가 매우 우수하였다.

④ 마늘은 TA100에 대하여 직접돌연변이 억제효과, 부추는 TA98에 대하여 간접돌연변이 억제효과, 상추는 TA100에 대하여 간접돌연변이 억제효과, 시금치는 TA98에 대하여 직접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였다.

⑤ 표고추는 4점은 없었으나, 특히 간접돌연변이 억제 효과에서 우수한 효과를 보였다.

● 과일 (Table 9)

과일은 전반적으로 채소류보다 돌연변이 억제효과가 떨어지며, 직접돌연변이 억제효과보다는 간접돌연변이 억제효과가 우수함을 보였다.

① 보리뚱씨는 TA98, TA100에 대하여 직접돌연변이 및 간접돌연변이 억제효과가 모두 매우 탁월하였다.

② 망고, 망고피, 매실, 살구, 레몬, 레몬피 모두 TA98과 TA100에 대하여 간접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였다. 과일의 껍질이 항산화효과가 매우 높음을 알 수 있었다.

③ 배피는 TA100에 대한 간접돌연변이 억제효과가 매우 우수하였다.

④ 그 밖에 4점은 없었으나, 자몽피와 오렌지피도 좋은 효과를 보였다.

Table 8. Antimutagenic effect of Korean vegetables, seaweeds and cereals.

Sample		Ames Test			
		TA98(-)	TA100(-)	TA98(+)	TA100(+)
1	당근	0	0	0	0
2	갯	+3	0	0	+2
3	고들빼기	+3	0	+2	+2
4	근대	+3	0	0	0
5	기장	+1	+4	+4	+4
6	깻잎	+4	0	+4	+4
7	냉이	+3	+1	+4	+4
8	늪은호박	+1	0	0	+1
9	달래	+2	+2	0	0
10	돈나물	+3	0	+2	+3
11	돌미나리	+2	+4	+4	+4
12	마늘	+1	+4	+2	+3
13	메밀	+1	+1	+4	+4
14	무	0	0	0	0
15	무잎	+3	0	+1	+1
16	미나리	+3	+2	+4	+4
17	부추	+3	0	+4	+3
18	브로콜리	0	0	0	0
19	상추	+3	0	+3	+4
20	생강	+4	+4	+4	+4
21	솔잎	+4	+4	+4	+4

Sample		Ames Test			
		TA98(-)	TA100(-)	TA98(+)	TA100(+)
22	수수	+3	+1	+4	+4
23	시금치	+4	0	+3	+3
24	썩	+4	0	+4	+4
25	썩갓	+3	+2	+4	+4
26	애호박	0	0	0	0
27	양배추	0	0	0	0
28	영지	0	+4	+4	+4
29	오이	0	0	+2	+3
30	우엉	0	0	0	0
31	율무	+1	+4	+4	+4
32	취나물	+3	0	+3	+2
33	톳	+4(T)	+4(T)	+4	+4
34	파	+2	+1	0	+1
35	파래	+3	+4(T)	+3	+4
36	파세리	+3	0	+4	+4
37	표고	0	+2	+4	+4
38	풋고추	+1	+3	+3	+3
39	흰콩	+2	+1	0	0
40	연근	0	0	0	0
41	마	0	0	0	0
42	양파	0	+3	0	0
43	고춧가루	0	+1	+1	0

0 : 10 > inhibition(%), +1 : 10~<25 inhibition(%), +2 : 25~<50 inhibition(%)
+3 : 50~<75 inhibition(%), +4 : 75~<100 inhibition(%)

Table 9. Antimutagenic effects of fruits.

Sample		Ames Test			
		TA98(-)	TA100(-)	TA98(+)	TA100(+)
1	딸기	0	0	+3	+3
2	망고	0	0	+4	+4
3	망고피	+2	+2	+4	+4
4	키위	+1	+1	+1	0
5	자몽	0	0	0	0
6	자몽피	0	+1	+3	+3
7	바나나	0	0	0	0
8	바나나피	0	0	0	0
9	사과	0	0	0	0
10	배	0	0	0	+1
11	배피	0	0	+3	+4
12	오렌지	0	0	0	0
13	오렌지피	0	+1	+3	+3
14	토마토	0	0	0	0
15	백년초	0	0	0	0
16	참외	0	0	0	0
17	참외피	0	0	0	0
18	레드글러브	0	0	0	0
19	방울토마토	0	0	0	0
20	메론	0	0	0	0
21	메론피	0	0	0	0
22	매실	0	0	+4	+4
23	보리뚱	+1	0	0	0
24	보리뚱씨	+4	+4	+4	+4
25	살구	0	0	+4	+4
26	건자두	0	0	0	0
27	레몬	+1	0	+4	+4
28	레몬피	+2	0	+4	+4

0 : 10 > inhibition(%), +1 : 10~<25 inhibition(%), +2 : 25~<50 inhibition(%),
+3 : 50~<75 inhibition(%), +4 : 75~<100 inhibition(%)

(2) 암세포 증식 억제 효과

동결건조한 식품을 75% 에탄올로 추출한 후 SNU-638(위암세포주), MCF-7(유방암세포주), HeLa(자궁경부암세포주)에 대한 세포 독성실험(MTT)을 통하여 세포성장억제율을 측정한 후 성장억제를 50% 억제하는 농도인 IC₅₀을 구한 결과, 향신료와 해조류의 암세포 성장억제 효과가 매우 좋았으며, 곡류 중에는 항돌연변이효과가 높았던 울무, 기장, 메밀, 수수가 암세포 증식억제 면에서도 매우 좋은 효과를 보였다. 채소류에서는 깻잎, 무잎, 부추, 쑥갓, 솔잎의 효과가 좋았다. (Table 10)

● 채소 및 해조류

IC₅₀의 농도가 100 μ g/assay(330 μ g/ml) 이하인 식품을 기준으로 살펴보면

- 솔잎, 깻잎, 파래, 톳이 SNU638, MCF-7, HeLa cell에 대한 세포독성이 매우 컸다.
- 무잎은 SNU-638에 대한 세포독성이 매우 컸다.
- 부추, 쑥갓은 HeLa cell에 대한 세포독성이 매우 컸다.

● 곡류

- 울무, 기장이 SNU638, MCF-7, HeLa cell에 대한 세포독성이 매우 컸다.
- 메밀, 수수가 MCF-7, HeLa cell에 대한 세포독성이 매우 컸다.

● 향신료

- 정향, 계피, 후추, 생강은 MCF-7, HeLa cell에 대한 세포독성이 매우 컸다.
- 겨자는 MCF-7에 대한 세포독성이 매우 컸다.

Table 10. IC₅₀ of ethanol extract from Korean foods on growth inhibition rate in 3 cancer cell lines.

(mg/assay)

식품	SNU-638	MCF-7	HeLa
솔잎	51.20	85.64	50.97
깻잎	40.59	91.27	79.84
당근	65.56	2472.75	778.72
무잎	39.30	320.61	232.05
갓	554.92	290.46	141.52
고들빼기	497.15	290.24	163.55
돈나물	600.22	162.43	319.75
부추	250.59	164.10	53.43
근대	133.02	112.23	112.38
썩	107.26	303.21	115.12
늪은호박		482.74	570.39
무		∞	∞
호박		10742.01	∞
양배추		∞	∞
썩갓		435.25	59.05
푼고추		237.05	171.43
양파		∞	1908.01
연근		∞	∞
마		4216.40	∞
올무	35.67	32.30	86.01
기장	38.01	85.64	79.88
메밀	106.27	98.42	81.69
수수	112.62	89.09	44.16
파래	83.74	48.32	48.21
툇	53.42	49.87	45.55
파		2822.88	126.51
정향		97.79	0.83
계피		27.72	49.27
후추		27.25	0.86
겨자		29.49	148.81
마늘		240.78	145.12
생강		61.21	20.2
고춧가루		791.75	547.21
고추냉이		135.61	307.68

(3) 동물모델에서의 솔잎, 생강, 메밀의 in vivo 항암효과

DMBA 투여 후 7주 후에 종양이 나타나기 시작하였으며, 13주까지 관찰한 종양발생율 결과는 <Fig 2> 와 같다.

① 유방종양 발생율

전반적으로 솔잎군이 가장 우수하였다. 대조군의 종양발생율은 DMBA 투여 후 7주 후에 20%였으며, 8.5주 후 50%, 12주 후에는 80%를 나타낸 반면, 솔잎군은 DMBA 투여 후 9주 후에 처음으로 종양이 발생하여, 발생을 억제시키는 효과를 보였으며, 12주 후에서야 50%의 발생율을 보였다. 메밀군과 생강군에서의 종양발생율 또한 대조군에 비하여 전체적으로 낮은 수준을 보였으나 솔잎군보다는 효과가 적었다. 메밀은 10.25주, 생강은 10주 후에 50%의 종양발생율을 나타내었다.

② 사망률

실험기간 동안 사망한 쥐는 대조군과 생강군에서 각각 1마리밖에 없어 실험식이에 의한 차이는 없는 것으로 나타났다.

③ 각 군당 평균종양갯수

실험기간 동안 종양의 평균 갯수를 비교하면 <Fig 3>에서 보는 바와 같다. 대조군은 DMBA 투여 후 9주 후에 평균적으로 0.9개의 종양수를 갖고 있었으며, 12주 후에는 1.7개를 갖고 있었다. 솔잎군은 9주 후에 0개, 12주후에 0.7개의 평균 종양수를 보여 대조군에 비하여 매우 적었다. 메밀군과 생강군의 평균종양수는 대조군과 솔잎군의 중간 정도를 나타내었다.

④ 종양의 크기

종양의 단직경과 장직경을 측정하여 평균을 내어 종양의 크기로 표시한 결과는 <Fig 4> 와 같다. 일단 종양이 발생하면 평균 종양의 크기는 식품군간에 차이가 없었다.

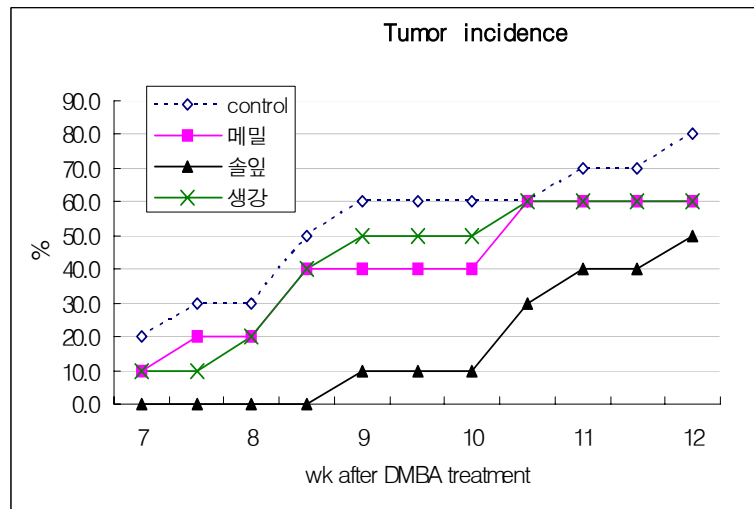


Fig 2. The effects of Korean food supplementation on tumor incidence in DMBA-treated rat.

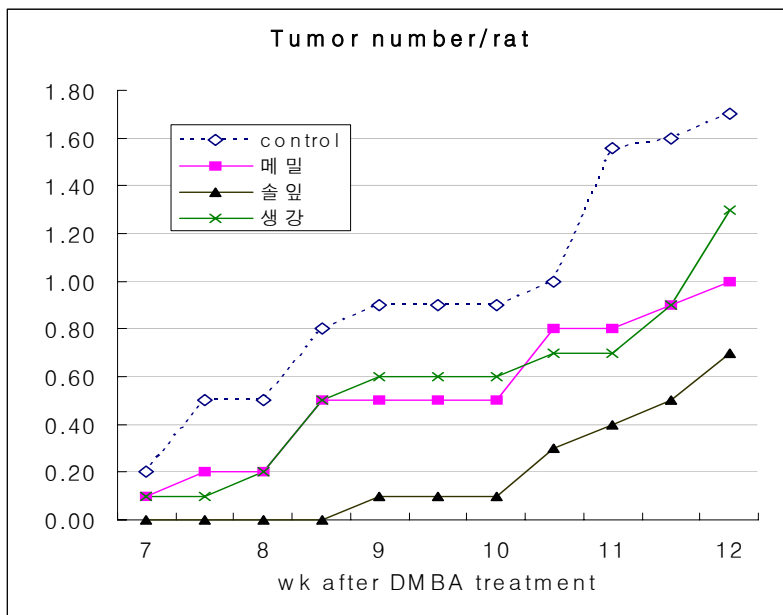


Fig 3. The effect of Korean food supplementation on mean tumor number in DMBA-treated rats.

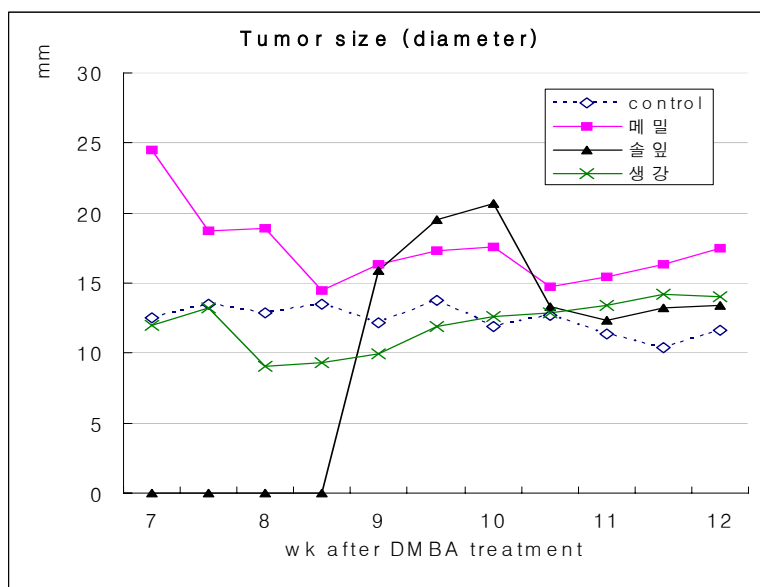


Fig 4. The effect of Korean food supplementation on the tumor size in DMBA-treated rat.

2) 단일식품의 항산화효과

한국인 상용식품들의 항산화효과를 알아보기 위하여 1- 2차년도에는 에탄올 추출물을 얻어 in vitro 지질과산화억제효과, DPPH 라디칼 소거능과 더불어, 본 연구진에 의하여 개발된 또 하나의 방법이 시도되었다. 즉, 이미 생성된 활성이 강한 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 시료첨가에 의해 억제할 수 있는지를 알아보기 위하여 일정량의 malondialdehyde와 BSA에 시료를 농도별로 처리하여 MDA-BSA 결합을 억제하는 양상을 band로 확인하였다. 3가지 방법에 의한 결과는 약간의 차이가 있는 경우도 있었으나 전반적으로 유사하였다. 3가지 모두에서 매우 우수한 효과를 보인 채소류는 생강, 돌미나리, 썩, 썩갓, 냉이, 돈나물, 무잎, 미나리, 브로콜리, 마, 갓, 고들빼기, 근대, 깻잎, 부추, 우엉이었다. 곡류에서는 메밀, 울무, 수수의 항산화효과가 우수하였고, 영지버섯, 표고버섯도 좋은 효과를 보였다. 과일류에서는 매실, 자몽, 바나나, 방울토마토, 살구, 딸기의 항산화효과가 우수하였으며, 과일속보다는 과일껍질의 효과가 더 우수하였다. (Table 11, Table12)

● 채소류

3 가지면에서의 항산화효과는 채소류에서는 생강이 가장 탁월하였으며, 돌미나리, 썩, 썩갓, 냉이, 돈나물, 무잎, 미나리, 브로콜리, 마, 갓, 고들빼기, 근대, 깻잎, 부추, 우엉, 솔잎, 취나물이 우수한 효과를 보였다.

▷지질과산화억제효과는 생강, 냉이, 돈나물, 미나리, 솔잎, 취나물, 고춧가루가 우수한 효과를 보였다.

▷DPPH 라디칼 소거능은 생강, 솔잎, 돌미나리, 무잎, 브로콜리, 썩, 썩갓, 냉이, 돈나물, 미나리, 상추, 애호박, 우엉, 취나물, 마가 우수하였다.

▷지질과산화물과 단백질의 결합억제효과는 생강, 갓, 고들빼기, 근대, 깻잎, 마늘, 부추, 썩, 썩갓, 오이, 파세리, 마가 매우 우수하였다.

●곡류: 메밀, 울무, 수수가 우수한 항산화효과를 보였다.

▷지질과산화억제효과는 메밀, 울무, 수수가 매우 우수하였다.

▷DPPH 라디칼 소거능은 메밀, 울무, 수수, 기장이 우수하였다.

▷지질과산화물과 단백질의 결합억제효과는 메밀이 매우 우수하였고, 울무, 수수가 우수하였다.

●버섯류: 영지버섯은 특히 DPPH 라디칼 소거능이 우수하였으며, 표고버섯은 지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과가 우수하였다.

●과일류: 망고피와 매실의 항산화효과가 지질과산화 억제효과 및 DPPH라디칼 소거능에 있어서 가장 우수하였다.

많은 경우 돌연변이 억제효과에서와 마찬가지로 과일 껍질의 항산화효과가 매우 좋았다.

▷지질과산화효과는 망고피, 자몽, 자몽피, 바나나, 오렌지피, 방울토마토, 살구가 우수하였다.

▷DPPH 라디칼 소거능은 망고, 망고피, 참외피, 매실, 보리뽕씨가 매우 우수하였고, 딸기, 자몽피, 바나나피, 배피, 오렌지피, 메론피, 살구, 레몬피가 우수하였다.

Table 11. Antioxidative effect of ethanol extract from Korean vegetables, cereals and seaweed.

Sample		Lipid peroxidation prevention effect	DPPH radical scavenging effect	MDA-BSA binding inhibition effect
1	당근	0	+2	+3
2	갓	+2	+2	+4
3	고들빼기	+2	+2	+4
4	근대	+2	+2	+4
5	기장	+1	+2	+2
6	깻잎	+2	+2	+4
7	냉이	+3	+3	+3
8	늪은호박	+2	+2	+3
9	달래	+2	+1	+3
10	돈나물	+3	+3	+3
11	돌미나리	+3	+4	+3
12	마늘	0	+2	+4
13	메밀	+3	+3	+4
14	무	0	+1	+3
15	무잎	+2	+4	+3
16	미나리	+3	+3	+3
17	부추	+2	+2	+4
18	브로콜리	+2	+4	+3
19	상추	+2	+3	+2
20	생강	+4	+4	+4
21	솔잎	+3	+4	-
22	수수	+3	+2	+3
23	시금치	+1	+1	+3
24	썩	+2	+4	+4
25	썩갓	+2	+4	+4
26	애호박	+1	+3	+3
27	양배추	0	+2	-
28	영지	+3	+4	+2

29	오이	+1	+1	+4
30	우엉	+2	+3	+3
31	을무	+3	+2	+3
32	취나물	+3	+3	-
33	톳	0	0	+1
34	파	+1	+2	+3
35	파래	+2	+2	+3
36	파세리	+2	+1	+4
37	표고	+1	+2	+4
38	풋고추	+2	+2	+3
39	흰콩	0	+2	+3
40	연근	+1	+2	+2
41	마	+2	+3	+4
42	양파	0	+2	+3
43	고추가루	+3	+1	+3

0 : 10 > inhibition(%) +1 : 10~25 inhibition(%) +2 : 25~50 inhibition(%)
+3 : 50~75 inhibition(%) +4 : 75~100 inhibition(%)

Table 12 . Antioxidative effect of fruits.

Sample		Lipid peroxidation prevention effect	DPPH radical scavenging effect
1	딸기	+2	+3
2	망고	+2	+4
3	망고피	+3	+4
4	키위	+2	+2
5	자몽	+3	+2
6	자몽피	+3	+3
7	바나나	+3	+2
8	바나나피	+2	+3
9	사과	+2	+2
10	배	+1	+2
11	배피	+3	+3
12	오렌지	+1	+2
13	오렌지피	+3	+3
14	토마토	0	+2
15	백년초	+3	+2
16	참외	0	+2
17	참외피	-	+4
18	레드클러브	+1	+1
19	방울토마토	+3	+2
20	메론	0	+2
21	메론피	+2	+3
22	매실	+3	+4
23	보리뚱	+2	+2
24	보리뚱씨	+2	+4
25	살구	+3	+3
26	건자두	+2	+2
27	레몬	+1	+3
28	레몬피	+2	+3

3) 단일식품의 면역기능증진효과

(1) in vitro 검색

① 에탄올 추출물이 비장세포증식에 미치는 영향

20가지 시료의 에탄올 추출물이 비장세포 증식에 미치는 영향을 MTT assay를 통해 살펴 보았다. 실험을 종합하여 보면 16,19,20번 시료는 10,50,100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 높은 비장 증식능을 보였고, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 1,2,14,16-20번 시료에서, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 2,8,14,16,19,20번 시료에서, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 16,19,20번 시료에서 높은 비장 증식능을 보였다. 대체적으로 시료 추출물의 농도가 높을수록 비장 세포 증식능은 낮아지는 것으로 나타났다. (Fig 5)

② 물 추출물이 비장세포증식에 미치는 영향

10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 1-4,6-8,11,13,14,18번 시료에서, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 1-3,8-11,13,14,18,19번 시료에서, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서는 1,3,8,11,13,14,18번 시료에서 높은 비장 증식능을 보였다.

본 실험을 종합하여 보면, 1,3,8,11,13,14,18번 시료는 10,50,100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 비장 증식능이 높았다. 그러나 대체적으로 모든 sample에서 시료 추출물의 농도가 증가할수록 비장세포 증식능은 낮아졌다. 따라서 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하의 농도에서 면역효과가 있을 것으로 사료된다. (Fig 6)

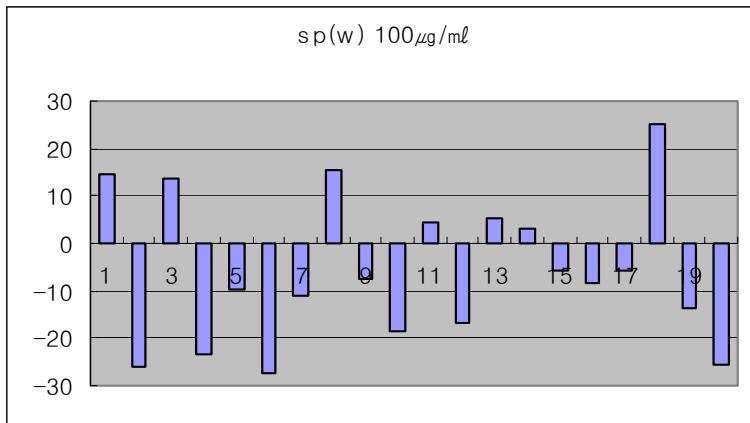
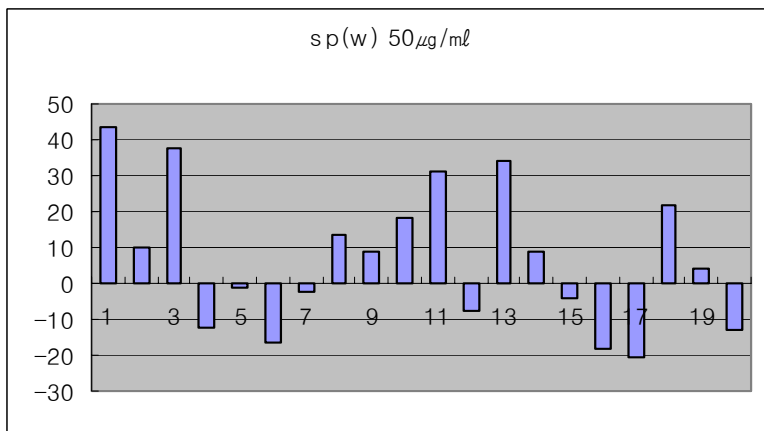
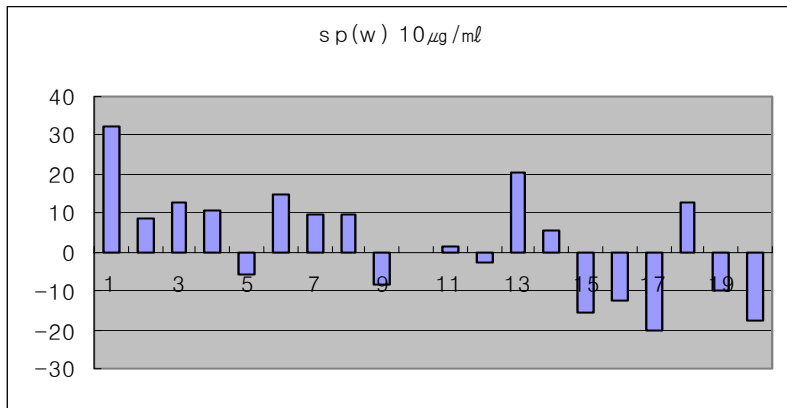


Fig 5. Spleen cell proliferation by treatments of ethanol extracts from Korean foods

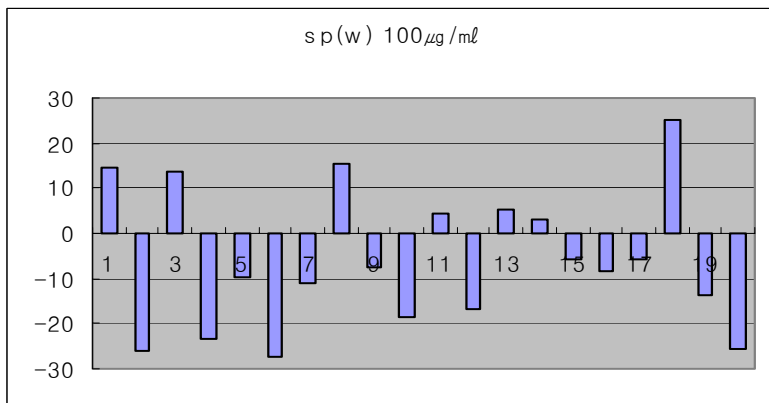
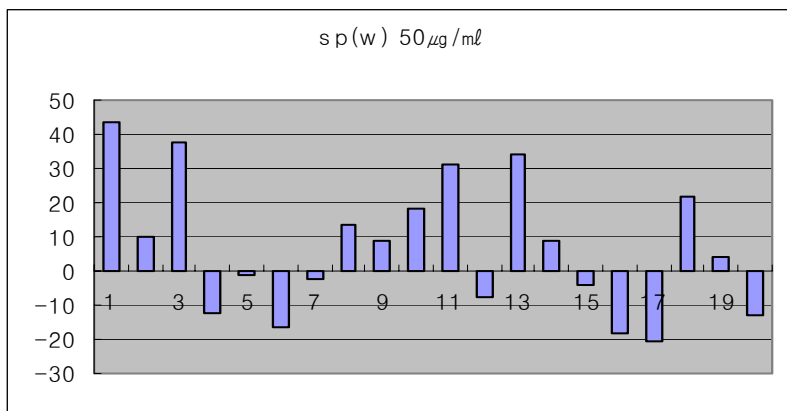
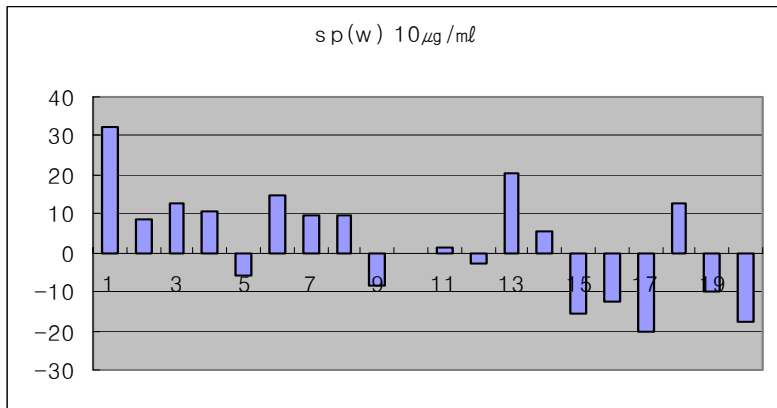


Fig 6. Spleen cell proliferation by treatments of water extracts from Korean foods

(2) 우수효과 식품의 EX VIVO 에 의한 검색:

시험관내(In vitro)실험에서는 고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳의 에탄올과 물 추출물을 시료로 사용하여 마우스 비장세포 증식능 및 활성 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인(IL-1 β , IL-6, TNF- α)의 생성량을 측정하였다. 그 결과, 검색된 다양한 농도 범위 중 중간 농도인 50~500ug/ml로 물 추출물을 첨가했을 때 세포증식이 촉진되는 효과가 있는 것으로 나타났다. 10 ug/ml이하의 저농도 및 1000ug/ml이상의 고농도 첨가 시 비장세포 증식이 저해됨을 확인할 수 있었다. 에탄올 추출물의 경우, 비장세포 증식 및 사이토카인 촉진 정도가 미미하였다. 복강 대식세포에 의한 사이토카인 분비량을 측정한 결과, 물 추출물에서 높은 생성능을 나타냈으며, 각 추출물을 100ug/ml의 농도로 첨가 시 IL-1 β , IL-6 그리고 TNF- α 의 분비가 촉진되는 것으로 관찰되었다.

이러한 시험관내(in vitro) 실험결과를 토대로 생체 외(ex vivo)실험은 4주간 진행하였다. 고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳은 4주간 격일로 50mg/kg b.w 과 500mg/kg b.w의 농도로 마우스에게 직접 경구 투여한 후 비장세포 증식능과 활성 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인 분비능을 측정하여 면역기능 평가의 지표로 삼았다. 그 결과 톳 추출물 투여군의 경우 50mg/kg b.w농도에서, 고들빼기 추출물 투여군의 경우 50mg/kg b.w농도에서, 메밀과 돌미나리 추출물 투여군의 경우 500mg/kg b.w농도에서 비장세포의 최대 증식을 보였다. 활성 복강 대식세포에 의한 사이토카인 분비량을 측정한 결과 전 시료 투여군에서 유의적인 효과를 찾을 수 있었는데, IL-1 β 의 경우 고들빼기와 돌미나리 50mg/kg b.w군, 메밀과 톳 500mg/kg b.w군에서 대조군에 비해 유의적으로 높은 분비능을 나타내었다. IL-6의 경우, 고들빼기, 메밀과 톳 50mg/kg b.w군, 돌미나리 500mg/kg b.w군에서 유의적인 증가 경향을 보였으며, TNF- α 의 경우, 메밀, 톳은 50mg/kg b.w군 고들빼기, 돌미나리는 500mg/kg b.w군에서 유의적으로 높은 수준의 분비능을 나타내어 이들 물질이 대식세포를 활성화하여 면역반응을 촉진시킬 수 있을 것으로 사료되었다.

이와 같이, in vitro 를 토대로 한 ex vivo 를 통해 고들빼기, 메밀, 돌미나리, 톳은 면역세포 활성을 증가시키고, 주요 면역반응을 촉진시킬 수 있는 것으로 나타났다.

① 비장세포 증식능 (Fig 7)

● 고들빼기 추출물을 투여한 결과, 대조군에 비해 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군이 높은 세포 증식지수를 보였으나 유의적 차이는 없었다. 그러나 Con A 나 LPS 로 자극 시, 각각 50 mg/kg b.w.농도군에서 비장세포 증식지수가 유의적으로 상승되었음을 확인할 수 있었다.

● 메밀 추출물을 투여 경우에 있어서는, Con A 로 자극한 경우, 대조군, 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군과 LPS 첨가군은 대조군에 비해 유의적으로 높은 비장 세포 증식지수를 나타내었다.

● 돌미나리 추출물을 투여한 경우에 있어서는, 50 mg/kg b.w.와 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 수치를 보였으나 유의적인 차를 보이지 않았다. Con A 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군과 LPS 첨가군의 경우 대조군에 비해 높은 증식율을 보였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다.

● 톳 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w 농도군에서 유의적으로 높은 증식능을 나타냈다. LPS 처리군의 경우, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w. 투여군에서 대조군보다 유의적으로

높은 증식능을 나타냈다.

② 복강 대식세포의 Cytokine 생성량 측정

■ IL-1 β (Fig 8)

● 고들빼기 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 IL-1 β 생성량은 50 mg/kg b.w. 군이 유의적으로 많은 양의 IL-1 β 를 분비함을 알 수 있었고, LPS 자극 시, 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 분비능을 보였다. LPS로 자극한 실험군에서 IL-1 β 분비가 유의적으로 상승한 것으로 보아 고들빼기 경구투여는 IL-1 β 생성을 자극하여 면역 반응을 촉진시키는 것으로 추측된다.

● 메밀 추출물의 in vivo 결과는 농도 500 mg/kg b.w. 군에서 유의적으로 높은 분비능을 보였고, LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w. 군과 500 mg/kg b.w. 군에서 유의적으로 높은 분비능을 보였다. LPS로 자극했을 시, 농도 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 전 실험군에서 대조군에 비해 IL-1 β 분비가 유의적으로 상승하여 메밀 경구투여는 IL-1 β 분비에 의한 면역반응을 활성화시키는 것으로 나타났다.

● 돌미나리의 경우에는 50 mg/kg b.w. 군에서 IL-1 β 분비량이 유의적으로 높았고, LPS 자극 시, 50 mg/kg b.w. 군과 500 mg/kg b.w. 군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 분비능을 보였다. LPS를 처리하지 않은 경우, 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 군에서 유의적으로 높은 IL-1 β 분비능을 나타내었으며, LPS 처리군 역시 유사한 결과를 나타내었다. 특히, 50 mg/kg b.w. 군의 경우 전 실험군에서 유의적인 효과를 보여 50 mg/kg b.w. 농도의 돌미나리 경구투여는 IL-1 β 생성을 촉진시켜 면역계 활성화에 기여할 수 있으리라 사료된다.

● 톳 추출물을 투여한 결과는 LPS로 처리하지 않은 경우 500 mg/kg b.w. 농도에서 유의적으로 높은 IL-1 β 생성량을 보였고 LPS 처리에 의한 영향도 같은 경향이였다.

■ IL-6 (Fig 9)

● 고들빼기 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w. 군에서 IL-6 분비가 유의적으로 증가된 것으로 나타났고, LPS 처리 시, 50 mg/kg b.w. 군과 500 mg/kg b.w. 군에서 IL-6 분비가 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. LPS 처리하지 않은 경우, 농도 50 mg/kg b.w. 군에서 IL-6 분비가 유의적으로 상승하여, 고들빼기 투여가 IL-6 생성을 자극하여 면역반응을 촉진시키는 것으로 추측되었다. 500 mg/kg b.w. 군에서는 IL-6 분비가 감소하는 것으로 나타났고 이는 고농도 투여로 인한 결과라고 사료된다. 그러나 LPS 처리 시, 농도 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 의 모든 실험군에서 유의적인 IL-6 생성능을 보여 고들빼기가 면역 세포를 활성화 시킬 수 있는 잠재능이 있으리라 사료된다.

● 메밀 추출물을 in vivo 결과는 농도 50 mg/kg b.w. 군에서 유의적으로 높은 분비능을 보였으며, LPS 처리 시, 50 mg/kg b.w. 군이 유의적으로 높은 분비능을 보였다. LPS 처리하지 않은 군의 경우, 50 mg/kg b.w. 군에서 IL-6 분비량이 대조군과 유의적인 차이를 보였다. 그러나 농도 500 mg/kg b.w. 군에서 분비능이 감소하는 것으로 나타나 고농도 투여로 인한 독성에 대한 보다 상세한 연구가 요구된다. LPS 처리 시, 역시 농도 50 mg/kg b.w. 군에서 유의적인 IL-6 분비능을 나타내어, 50 mg/kg b.w. 농도의 경구투여가 IL-6 분비를 자극하여 면역계를 활성화 시킬 수 있으리라 사료된다.

● 돌미나리의 경우 농도 50 mg/kg b.w. 와 500 mg/kg b.w. 에서 IL-6 분비량 낮았고, LPS 처리군의 경우, 500 mg/kg b.w. 군에서 IL-6 분비능이 유의적으로 증가하였다. LPS 처리하지 않

은 경우, 농도 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w. 군에서 유의적인 IL-6 분비능을 나타내었으며, LPS 처리 시, 농도 500 mg/kg b.w.군에서 IL-6 생성이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 돌미나리 경구투여가 IL-6 분비를 자극하여 면역 반응을 활성화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

● 톳 추출물을 투여한 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 의 농도에서 대조군보다 낮은 생성량을 보였으나, LPS 첨가시에는 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 의 농도군 모두 대조군에 비해 유의적으로 높은 IL-6 생성능을 보였다.

■ TNF- α (Fig 10)

● 고들빼기 추출물을 투여한 결과, 대조군에 비해 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 TNF- α 분비가 유의적으로 높았고, LPS 처리 시, 50 mg/kg b.w.군에서 유의적으로 높은 TNF- α 분비능을 보였다. LPS 처리하지 않은 농도 50 mg/kg b.w.농도 투여군과 LPS로 자극한 50 mg/kg b.w. 농도 투여군에서 대조군에 비해 높은 TNF- α 분비능을 나타내었다. 농도 500 mg/kg b.w.투여군의 경우 대조군에 비해 높았으나 농도 50 mg/kg b.w.군에 비해서는 감소하는 TNF- α 분비경향을 나타내었는데, 이는 고농도 투여에 의한 결과라고 생각한다.

● 메밀 추출물의 in vivo 결과는 농도가 높아질수록 TNF- α 생성능이 유의적으로 증가하였다. LPS를 처리한 경우, 메밀 투여가 대조군에 비해 유의적으로 높은 TNF- α 분비능을 보였다. LPS 처리하지 않은 군의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 유의적으로 높은 분비능을 보였고, LPS 처리군 역시 유사한 결과를 나타냈다.

● 돌미나리의 경우 LPS첨가군의 경우, 500 mg/kg b.w.군에서 높은 TNF- α 분비능을 보였다. LPS 처리하지 않은 경우, 500 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내지 못하였으나, LPS로 자극함으로 인해 대조군에 비해 유의적 분비능을 나타낸 것으로, 돌미나리 경구투여가 면역계를 활성화시킬 수 있는 잠재력이 있으리라 사료된다.

● 톳 추출물을 투여한 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 500 mg/kg b.w.의 농도에서 대조군보다 유의적으로 높은 생성을 보였고 LPS 처리시에는 50 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 TNF- α 생성량을 나타냈다.

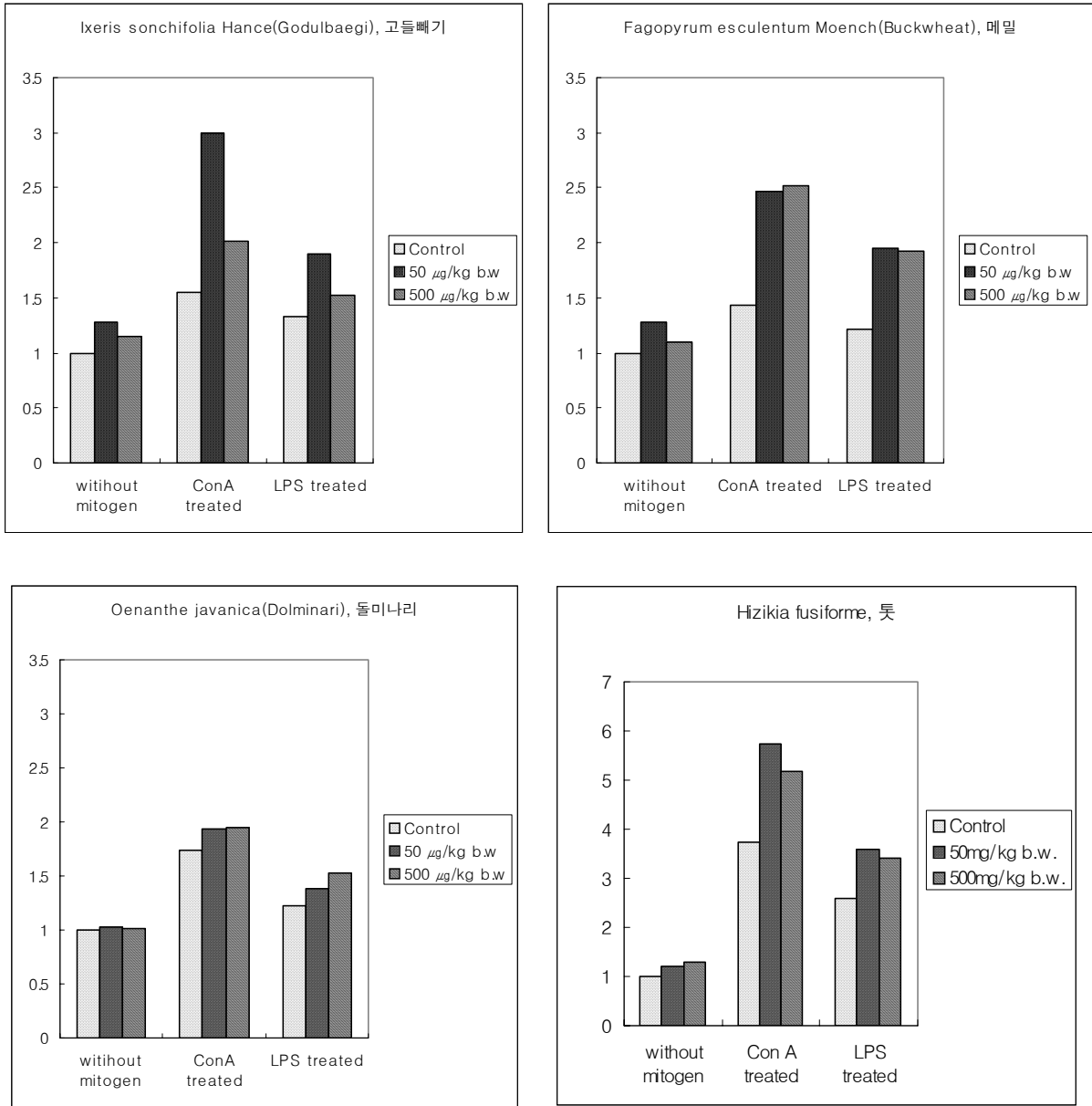


Fig 7. Proliferation index of splenocyte of mice orally administrated with water extract from four Korean foods for 4 weeks.

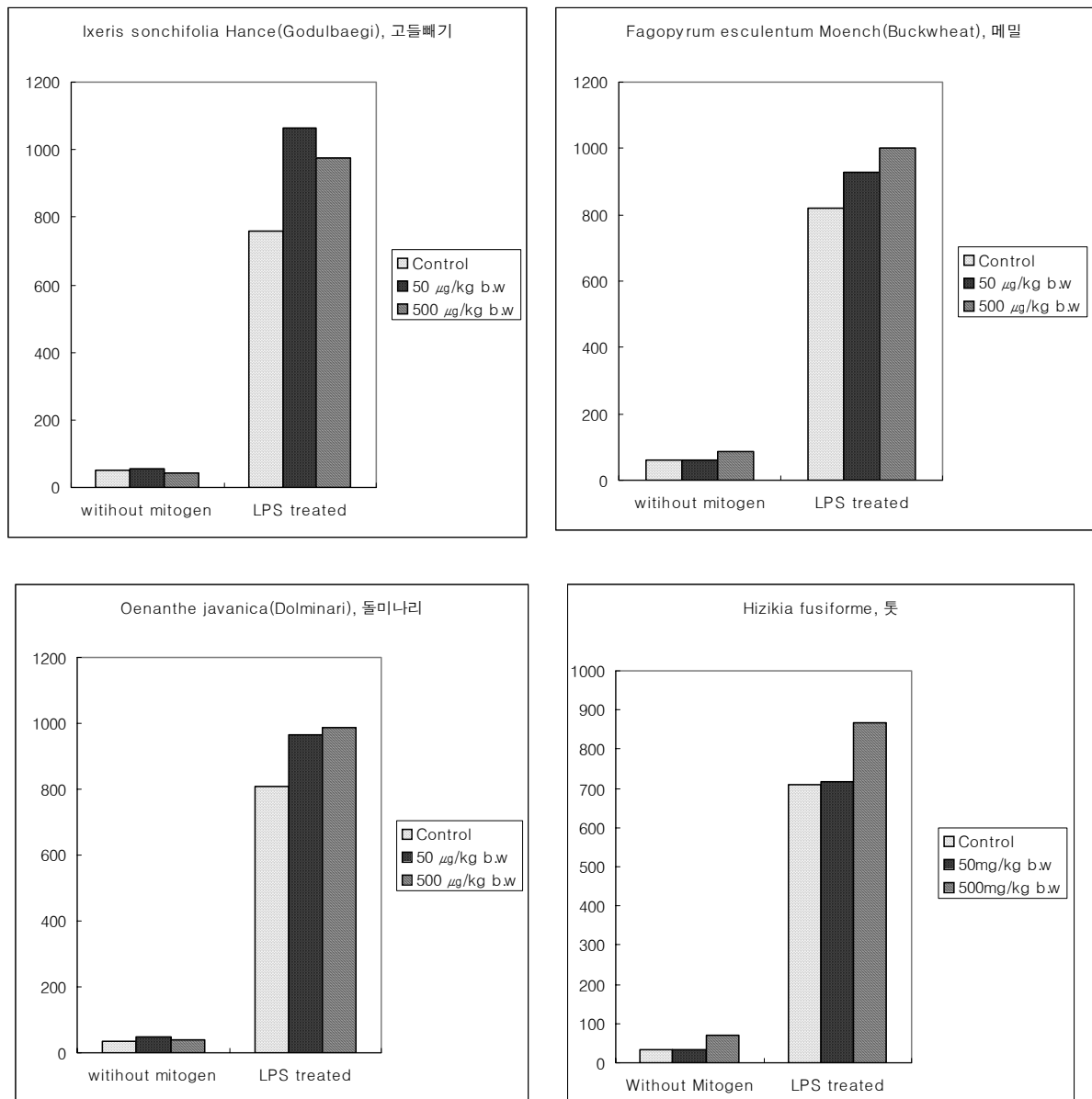


Fig 8. IL-1 β production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extract from four Korean foods for 4 weeks.

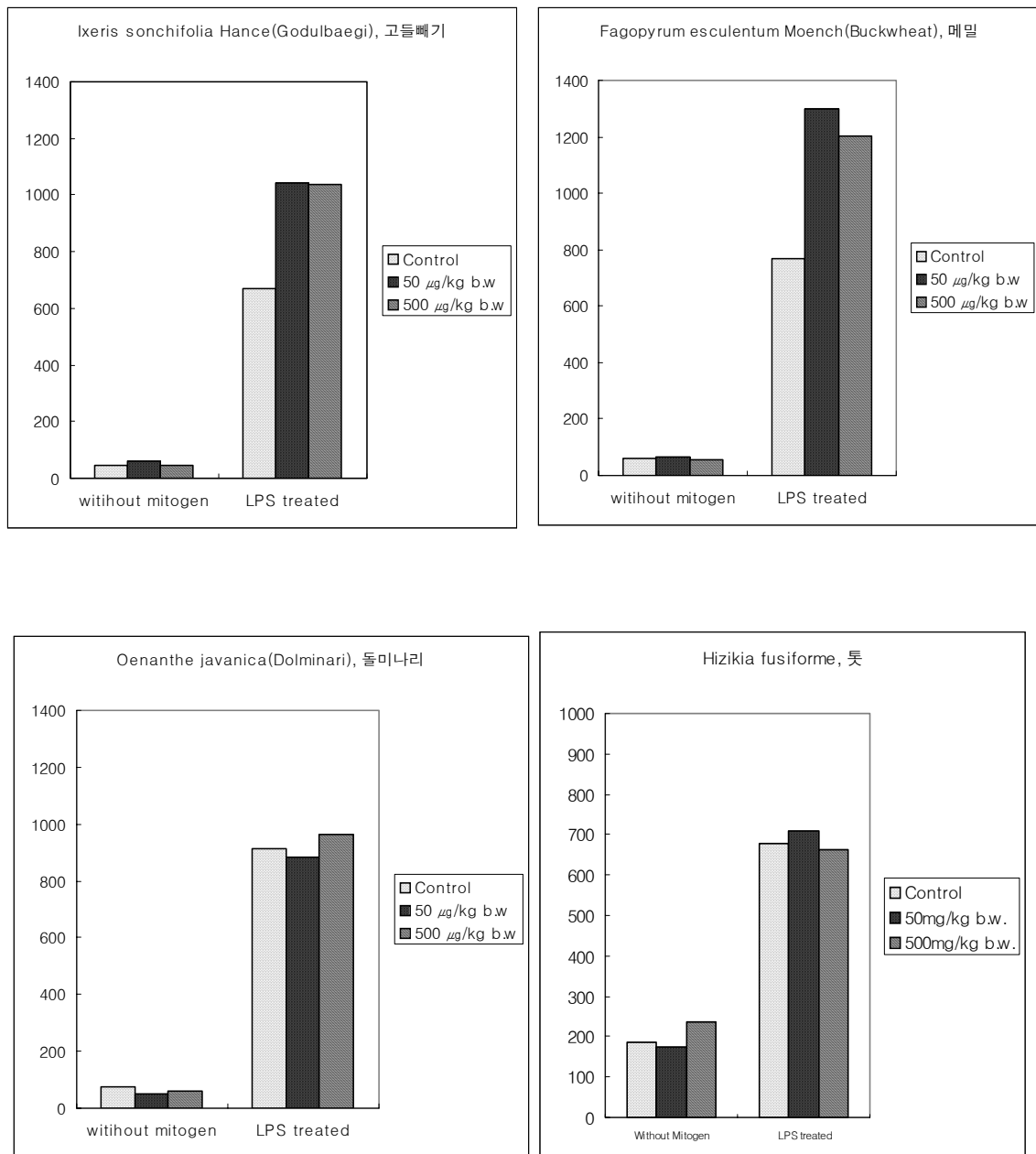


Fig 9. IL-6 production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from four Korean foods for 4week

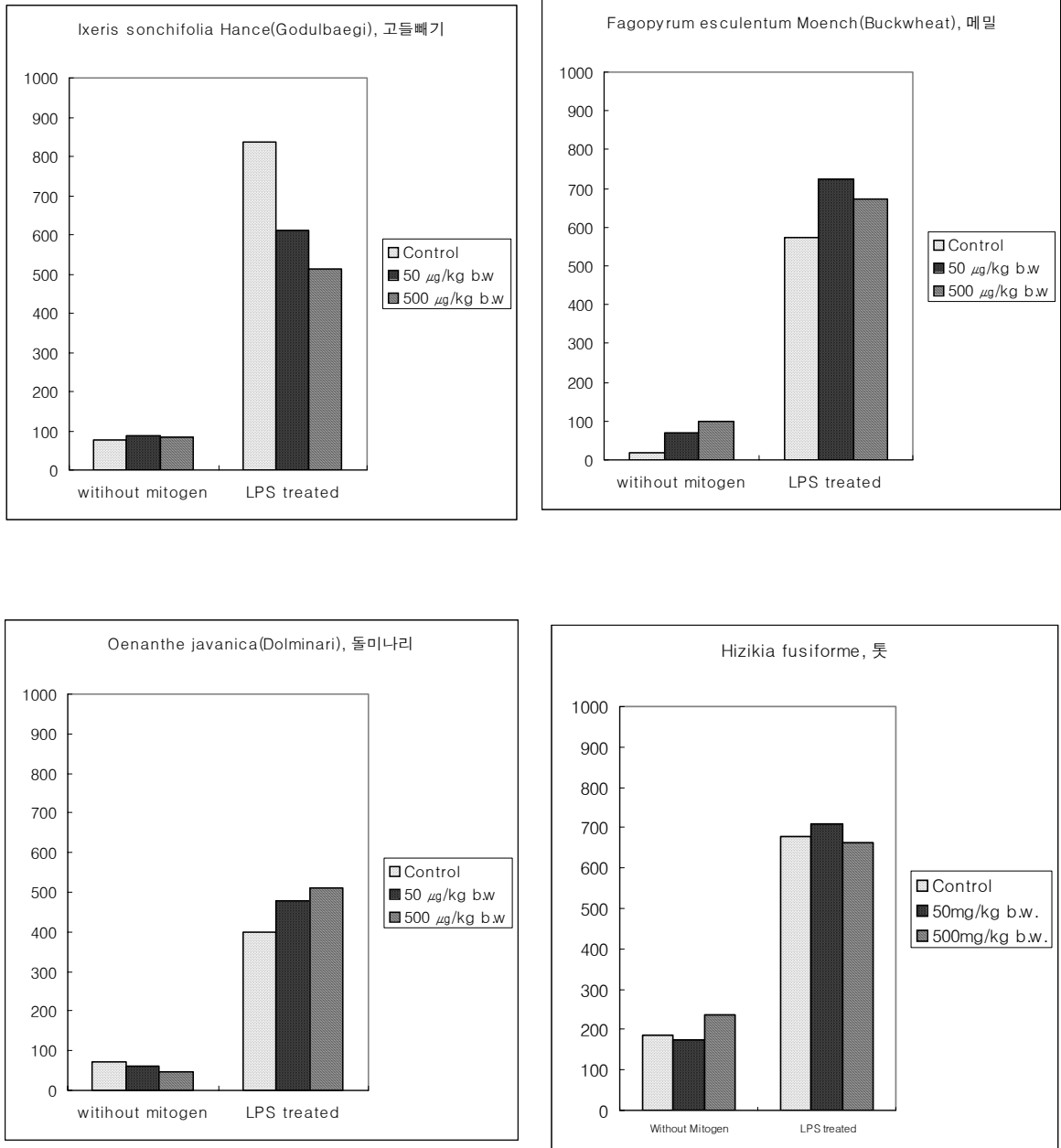


Fig 10. TNF- α production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from four Korean foods for 4week

(4) 생리활성효과가 우수한 식품 요약

효능	우수식품
돌연변이억제효과	기장, 냉이, 돌미나리, 톳, 레몬(피), 미나리, 망고(피), 메밀, 매실, 보리뚱씨, 솔잎, 살구, 생강, 쑥, 쑥갓, 영지, 울무, 파래, 파세리, 표고, 풋고추
암세포독성효과	갯잎, 계피, 기장, 톳, 무잎, 메밀, 부추, 생강, 솔잎, 수수파래, 쑥갓, 울무, 정향, 후추
항암효과(유방종양)	메밀, 생강, 솔잎
항산화효과	갓, 고들빼기, 근대, 갯잎, 냉이, 돌나물, 돌미나리, 딸기, 레몬피, 마, 메론피, 미나리, 무잎, 밀, 매실, 망고피, 망고, 바나나, 보리뚱씨, 배피, 방울토마토, 브로콜리, 부추, 살구, 수수, 쑥, 쑥갓, 솔잎, 생강, 우엉, 영지, 울무, 오렌지피, 자몽피, 자몽, 취나물,
면역기능증진효과	갓, 고들빼기, 갯잎, 돌미나리, 톳, 메밀, 생강, 수수, 울무

나. 혼합식품시료에 대한 검색

1) 혼합식품시료의 제조

단일식품에 대한 돌연변이 억제효과, 항산화효과 및 면역기능증진효과 결과를 토대로 종합적으로 평가하여 과일을 제외하고 활성이 우수한 22가지 식품을 다음과 같이 선정 한 후, 4개 식품류가 골고루 포함되도록 하여 Table 14와 같이 13종류의 혼합식품시료를 제조하였다. 각 구성식품간의 혼합비율은 동일하게 하였다

- 채소류: 생강, 풋고추, 쑥, 쑥갓, 갓 등 14종
- 곡류: 울무, 수수 등 4종
- 버섯: 표고, 영지
- 해조류: 톳, 파래

Table 14. Food composition of mixed food samples

Mixture	Food components
1. Mix A(=10A)	생강, 취나물, 표고, 울무, 등 10종
2. Mix B(=10B)	솔잎, 돌미나리, 톳, 메밀 등 10종
3. Mix C	Mix A+ Mix B(1:1) 20종
4. Mix 1(5A)	생강, 울무 등 5종
5. Mix 2(5B)	솔잎, 메밀 등 5종
6. Mix 3(5C)	쑥, 수수 등 5종
7. Mix 4(5D)	기장, 톳 등 5종
8. Mix 1+2	Mix 1+ Mix 2(1:1) 10종
9. Mix 2+3	
10. Mix 1+4	
11. Mix 2+4	
12. Mix 1+3	
13. Mix 3+4	

2) 혼합시료의 항돌연변이효과 및 항암효과

돌연변이억제효과 및 항산화효과가 우수한 22종의 식품으로부터 만들어진 13종의 혼합시료에 대한 돌연변이 억제효과는 모두가 우수하였으며, 특히 혼합 1, 2, 2+4, 1+3의 효과가 탁월하였다. MTT 방법에 의한 암세포독성 실험결과 혼합 10A는 SNU-638(위암세포주), 혼합 1은 SNU-638과 HeLa(자궁암세포주)에 대하여, 혼합 1+2, 1+4, 1+3은 HeLa에 대하여 매우 효과적이었다. 한편, DMBA로 유도한 유방종양 동물실험에서는 유방암 발생률 및 마리당 종양갯수에 있어서 혼합 1, 2, 3, 10A의 효과가 우수하였다.

(1) 돌연변이 억제효과

13종의 혼합시료에 대한 돌연변이 억제효과를 Ames test로 검색한 결과, 모두 총점 12점 이상의 매우 우수한 결과를 보였다. 또한 모든 혼합시료가 TA98과 TA100에 대한 간접 돌연변이 억제효과는 4점을 기록하여, 섭취시 신체 내에서 대사된 후의 항돌연변이효과는 매우 탁월할 것으로 예상된다. 특히 혼합시료 2는 4항목 모두 4점을 기록하여 총점 16점으로 가장 우수한 결과를 보였으며, 혼합시료 1, 2+4, 1+3은 15점, 혼합시료 C, 3, 1+2, 1+4, 3+4는 14점을 기록하였다. (Table 15)

(2) 암세포 성장에 대한 독성효과

MTT 방법에 의한 혼합시료의 에탄올 추출물에 의한 IC50농도는 Table 16과 같다. 특히 IC50이 100ug/assay 이하를 나타내는 우수한 효과를 나타낸 시료는 다음과 같다.

○ 혼합시료 10A는 위암세포주인 SNU-638의 증식을 효과적으로 억제하는 세포독성이 매우

켰다.

○ 혼합시료 1(5A)은 위암세포주(SNU-638)와 자궁경부암세포주(HeLa)에 대한 세포독성효과가 매우 컸다.

○ 혼합시료 1+2, 1+4, 1+3는 자궁경부암세포주(HeLa)에 대한 세포독성효과가 매우 컸다.

Table 15. Antimutagenic effect of mixed Korean foods.

Sample	Antimutagenic effect (Ames test)			
	TA98(-)	TA100(-)	TA98(+)	TA100(+)
Mix 10A	+2	+2	+4	+4
10B	+3	+2	+4	+4
C	+4	+2	+4	+4
Mix 1(5A)	+3	+4	+4	+4
2(5B)	+4	+4	+4	+4
3(5C)	+3	+3	+4	+4
4(5D)	+3	+1	+4	+4
1+2	+4	+2	+4	+4
2+3	+3	+2	+4	+4
1+4	+2	+2	+4	+4
2+4	+3	+4	+4	+4
1+3	+3	+4	+4	+4
3+4	+2	+2	+4	+4

0 : 10 > inhibition(%), +1 : 10~<25 inhibition(%), +2 : 25~<50 inhibition(%)
 +3 : 50~<75 inhibition(%), +4 : 75~<100 inhibition(%)

Table 16. IC₅₀ of ethanol extract from Korean food mixtures on growth inhibition rate in 3 cancer cell lines.

(ug/assay)

	SNU-638	MCF-7	HeLa
Mix 10A	89.97	378.01	125.90
10B	193.55	298.14	188.42
C(10A+10B)	181.94	634.33	193.68
Mix 1(5A)	96.4	116.36	74.34
2(5B)	140.81	201.48	337.27
3(5C)	202.96	170.80	417.67
4(5D)	309.83	275.99	162.23
1+2	111.90	102.85	60.48
2+3	449.95	238.55	319.06
1+4	321.01	204.81	90.22
2+4	329.49	230.90	212.96
1+3	269.66	247.21	78.94
3+4	262.47	2222.56	171.99

(3) 동물실험을 통한 혼합시료의 항암효과 검색

<실험 1> 혼합식품시료 10A의 항암효과

10% 라드식이를 기본식이와 mixture A를 첨가한 식이를 먹인 군에서 DMBA투여로 유방암을 유도하고 투여후 40일부터 72일까지 관찰한 결과 mix A를 첨가한 식이를 먹은 LA 군이 대조군인 L군에 비하여 유방암 발생률과 평균 종양무게 모두 낮았다. (Fig 11)

<실험 2> 표준식이를 섭취한 쥐에서의 항암효과

① 유방암 발생률

전반적으로 5A군이 가장 우수하였으며, 그 다음이 5C군, 10A군 순으로 효과적이었다. 대조군은 DMBA 투여 후 7주 후에 20%의 종양발생률을 보였으며 8.5주 후 50%, 12주 후에는 80%를 나타낸 반면, 5A군은 8.5주 후에 처음으로 종양이 발생하였으며 12주까지도 40%의 발생률을 보였다. 5C군은 7주 후에 10%, 11.5주 후에 50%의 발생률을 나타내었으며, 10A군은 7주 후에 10%, 10.5주 후에 50%의 종양발생률을 보였다. 5B군은 7주 후의 종양발생률이 40%에 달하여 대조군보다 높았으나, 한 동안 증가하지 않고 유지하다가 10.5주가 되어서야 50% 발생률을 보였고, 12주 후에도 60%의 발생률을 보여 약간의 효과가 있는 것으로 나타났다. 10B군은 7주 후 발생률이 20%, 8.5주 후에 50로 대조군이 동일하여 효과가 없는 것으로 나타났다.

② 사망률

실험기간 동안 사망한 쥐는 대조군과 10B군에서 각각 1마리밖에 없어 실험식이에 의한 차이는 없는 것으로 나타났다.

③ 각 군당 평균종양갯수

전반적으로 5A군, 5C군, 10A군, 5B군의 순으로 종양갯수를 줄이는 효과가 있었으며, 10B군은 효과가 없었다. 5A군은 DMBA 투여 후 9주 후 평균종양갯수가 0.1개, 12 주후에는 0.6개로 가장 낮은 수를 보였다. 그 다음 5C군이 효과적이었는데 9주 후에 0.6개, 12주 후에 0.8개를 나타내었다. 10A군은 9주 후에 0.5개 12주 후에 1.2개를 나타내었으며, 5B군은 9주 후에 0.6개, 12 주 후에 0.8개를 나타내어 대조군에 비하여 종양수가 적었다. 그러나, 10B군은 9주후에 1.1개, 12주 후에 1.78개로 대조군보다 많아 효과가 없었다.

④ 종양의 크기

종양의 단직경과 장직경을 계측하여 평균을 내어 종양의 크기로 표시한 결과는 Fig. 11과 같다. 일단 종양이 발생하면 평균 종양의 크기는 식품군간에 차이가 없었다.

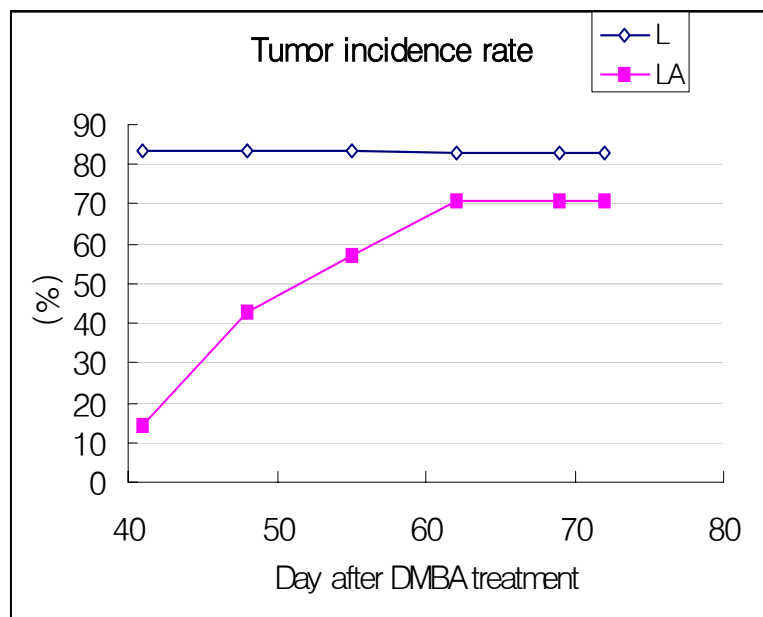
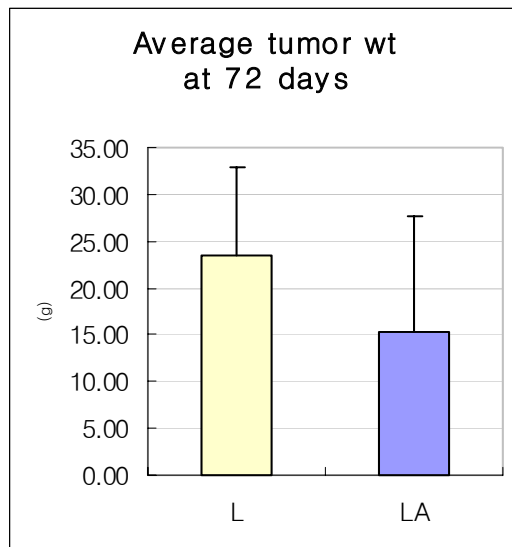


Fig 11. Average tumor weight and tumor incidence rate in experiment 1.

L: 10% Lard-high cholesterol diet LA: 10% lard-high cholesterol diet + mix 10A(5%)

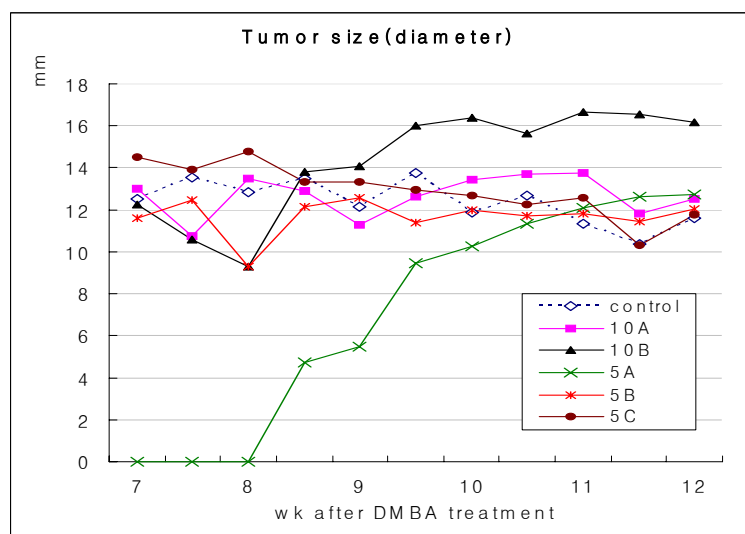
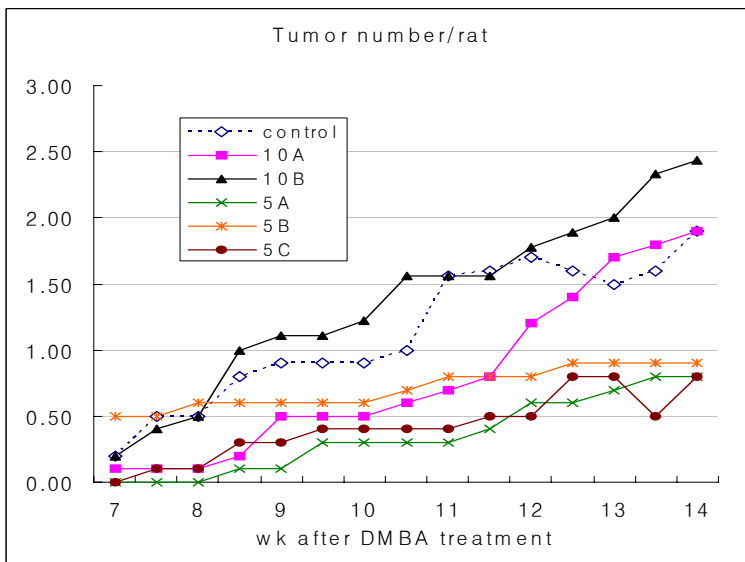
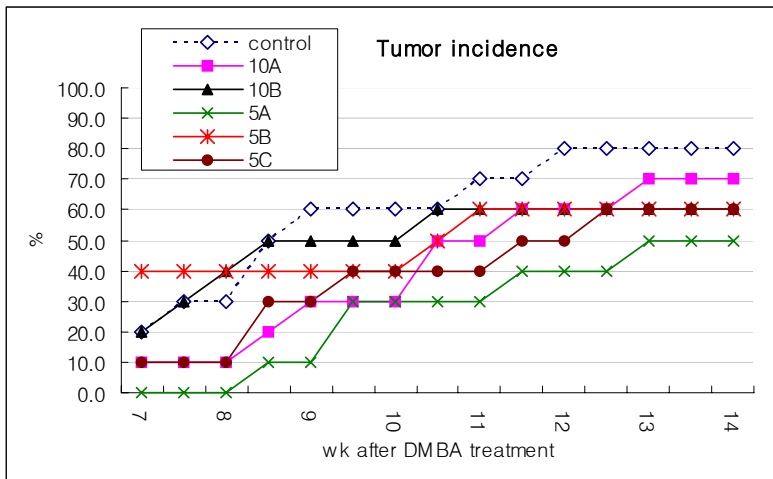


Fig 12. Tumor incidence, tumor number and tumor size in DMBA-treated rats in experiment 2.

2) 혼합식품시료의 항산화효과

13종의 혼합시료의 에탄올 추출물에 대한 항산화효과를 in vitro 방법으로 검색한 결과 혼합시료 3의 항산화효과가 지질과산화 억제효과 및 DPPH라디칼 소거능에 있어서 가장 우수하였으며, 혼합시료 C, 1, 2, 1+2, 2+3, 1+3, 3+4 가 우수한 결과를 보였다. in vivo 동물실험에서는 SD rat에게 식품시료를 식이와 함께 5%, 4-5주간 섭취시킨 결과 혼합 10A, C 가 혈청과 간에서의 지질과산화물의 농도를 감소시키는 효과를 보였으며, 혼합 2와 3 은 분말상태 또는 에탄올 추출물을 섭취시켰을 때 모두 혈청 총항산화능을 유의하게 상승시켰다. 특히 혼합 2를 먹었을 때에는 간과 신장에서 항산화효소인 SOD의 활성이 유의하게 증가함을 보였다. (Table 17)

(1) in vitro 항산화효과

▷지질과산화 억제효과는 혼합시료 4를 제외하고 모두 3점으로 우수하였다.

▷DPPH 라디칼 소거능은 혼합시료 3가 4점으로 가장 우수하였고, 10A, 10B, 4는 2점, 나머지는 모두 3점이었다.

▷지질과산화물과 단백질의 결합 억제효과는 혼합 10A, 10B, C, 1, 2, 3이 매우 우수하였다.

Table 17. Antioxidative effect of ethanol extract from Mixed foods

Sample	Lipid peroxidation prevention effect	DPPH radical scavenging effect	MDA-BSA binding inhibition effect
Mix 10A	+3	+2	+3
Mix 10B	+3	+2	+3
Mix C	+3	+3	+4
Mix 1	+3	+3	+3
2	+3	+3	+3
3	+3	+4	+3
4	+2	+2	+2
1+2	+3	+3	+2
2+3	+3	+3	+2
1+4	+3	+2	+2
2+4	+3	+3	+1
1+3	+3	+3	+2
3+4	+3	+3	+2

(2) 혼합시료의 in vivo 항산화효과

<실험 1> : 어유섭취를 통한 지질과산화 유도 조건에서의 항산화효과

(1) 혈청단백질 및 GOT, GPT

옥수수기름식이군에서 mix A를 첨가한 COA군의 혈청 알부민이 유의하게 증가하였을 뿐 ($p < 0.05$) 혈청단백질, GOT, GPT 는 실험군간에 유의한 차이점은 없었다. (Fig 13)

(2) 혈청지질농도 (Fig 14)

① 혈청 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 농도: 어유식이군이 옥수수기름 식이군에 비하여 혈청 총콜레스테롤 농도와 LDL-콜레스테롤 농도가 유의하게 감소하였으며($p < 0.001$), 옥수수기름식이군에서는 식품혼합물을 첨가 섭취하여도 차이가 없었으나, 어유식이군에서는 mix A와 mix C를 첨가한 FOA, FOC군이 대조군인 FO에 비해 유의하게 감소함을 보였다.

② 혈청 HDL-콜레스테롤 농도: 어유식이섭취에 의하여 혈청 HDL-콜레스테롤도 약간 감소하는 경향은 보이나 유의하지 않았다. 또한 혼합식품의 첨가에 의한 유의한 차이는 없었다.

③ 혈청중성지방농도: 어유식이섭취에 의하여 혈청 중성지방농도는 약간 감소하는 경향은 보이나 유의하지 않았다. 또한 혼합식품의 첨가에 의한 유의한 차이는 없었다.

(3) 지질과산화와 혈청의 총항산화능 (Fig 15)

① 혈청에서의 지질과산화물 생성 정도

혈청에서 측정된 NADPH-Fe-ADP를 첨가하여 지질과산화를 유도했을 때 생성된 지질과산화물의 양은 어유식이군이 옥수수식이군에 비하여 유의하게 많았다. 옥수수기름식이군에서는 mix A, B, C를 첨가시 혈청에서의 지질과산화물의 생성량이 약간 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다($p < 0.05$). 어유식이군에서도 mix A, B, C의 첨가에 의하여 유의한 변화는 없었다.

② 혈청 총항산화능

혈청 총항산화능은 어유식이군이 옥수수식이군보다 약간 낮은 경향을 보였으나 유의적이지는 않았다($p < 0.05$). 옥수수기름식이군에서는 mix C를 첨가한 COC 군이 대조군인 CO군에 비하여 약간 증가하였으나 유의적이지는 않았다.

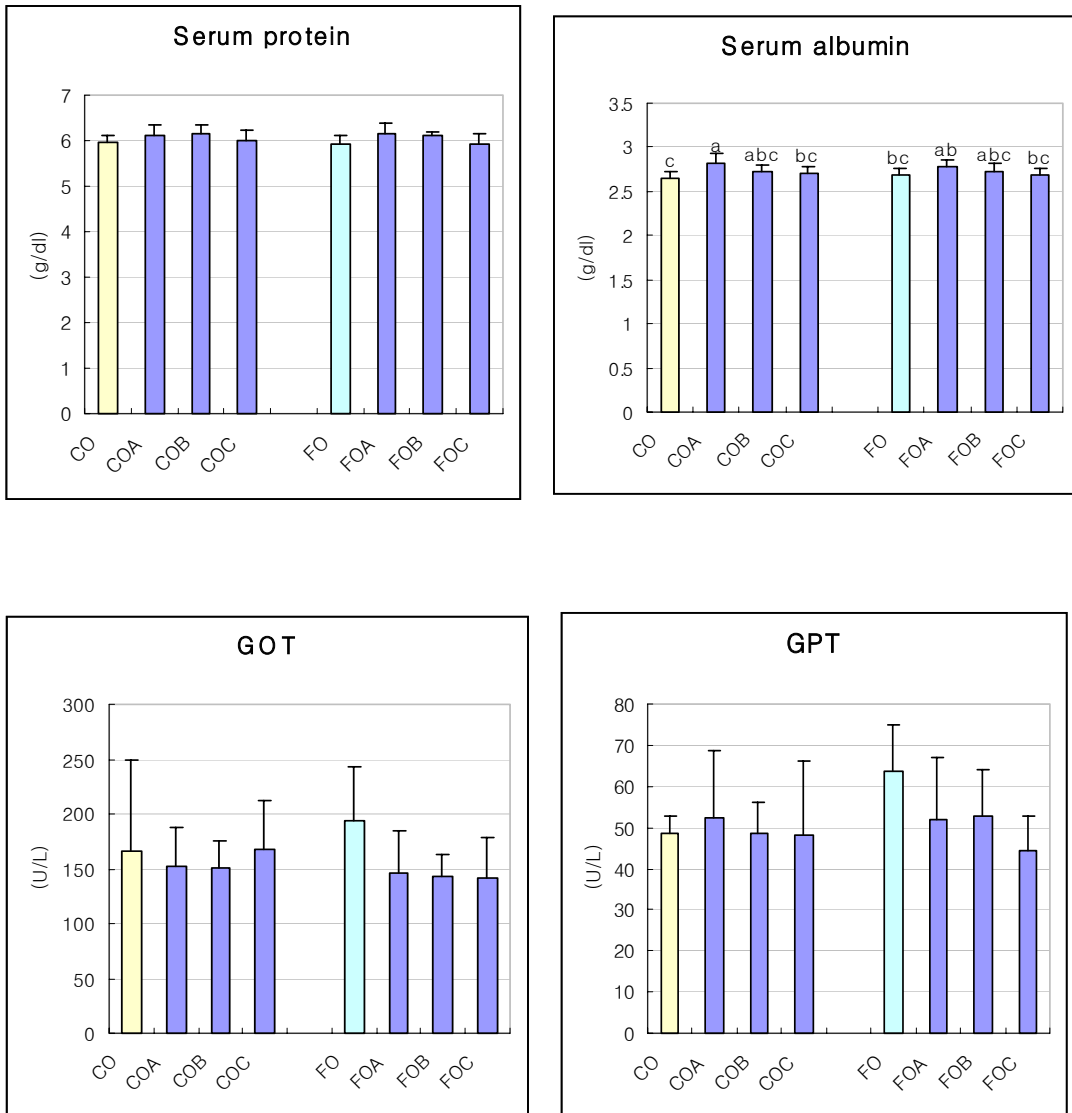


Fig 13. Serum protein, albumin, GOT and GPT levels.

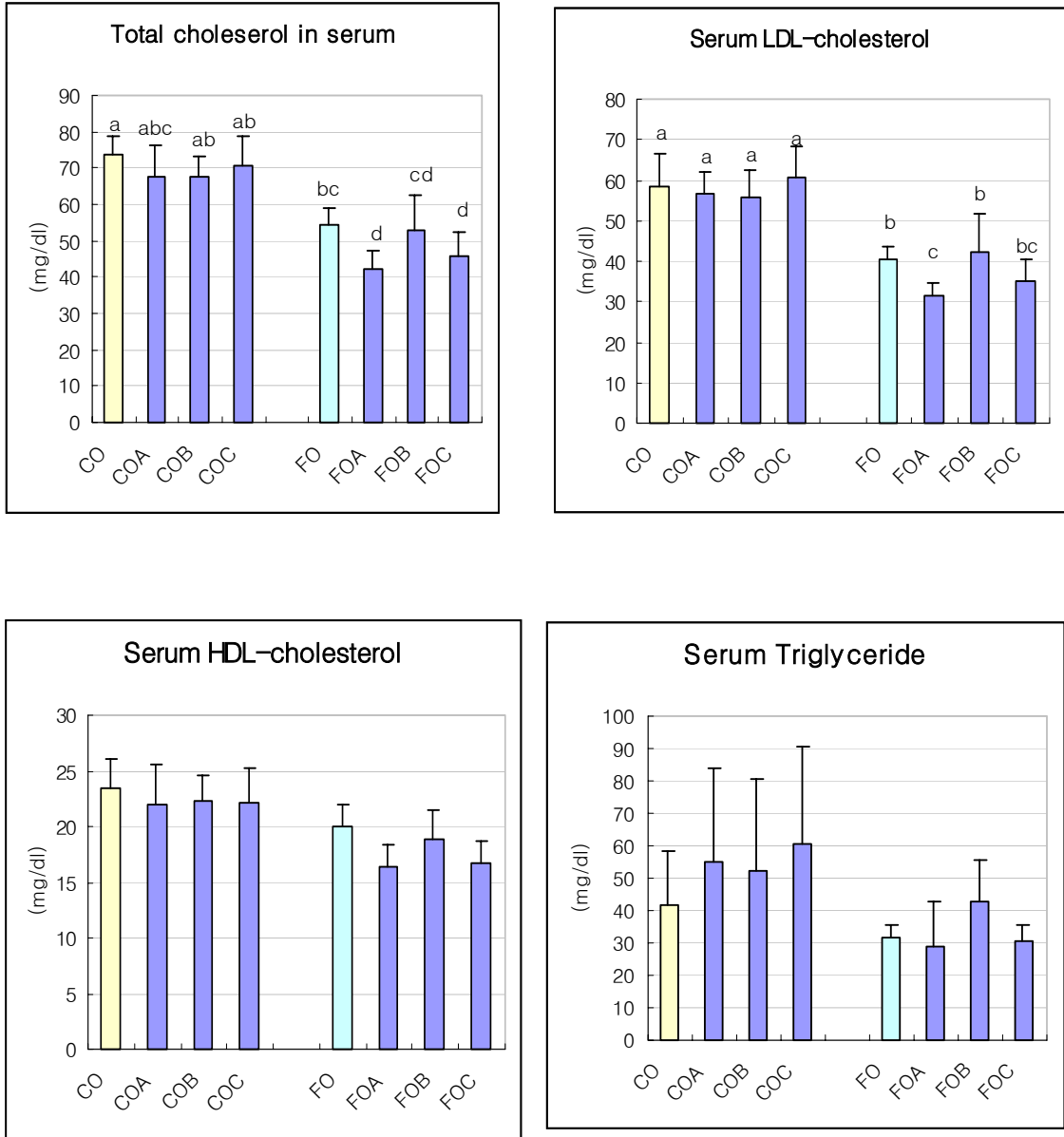


Fig 14. Serum triglyceride level and cholesterol profile.

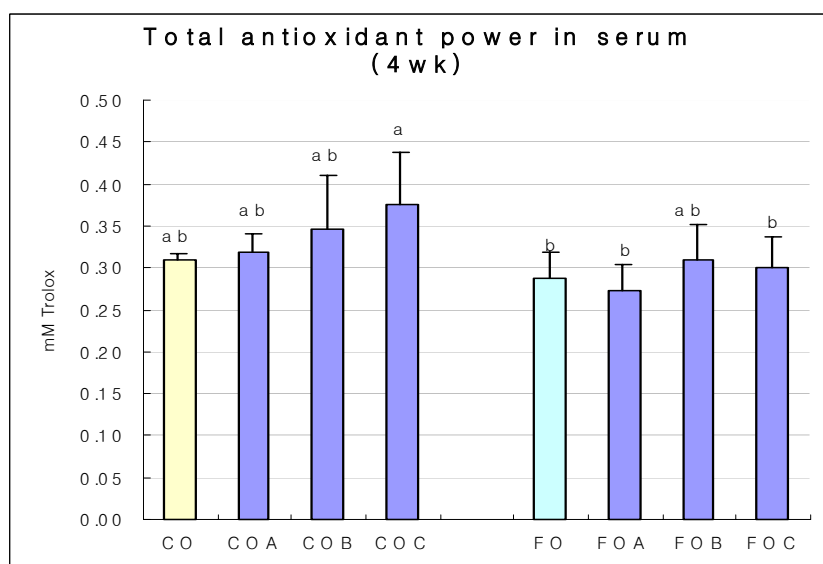
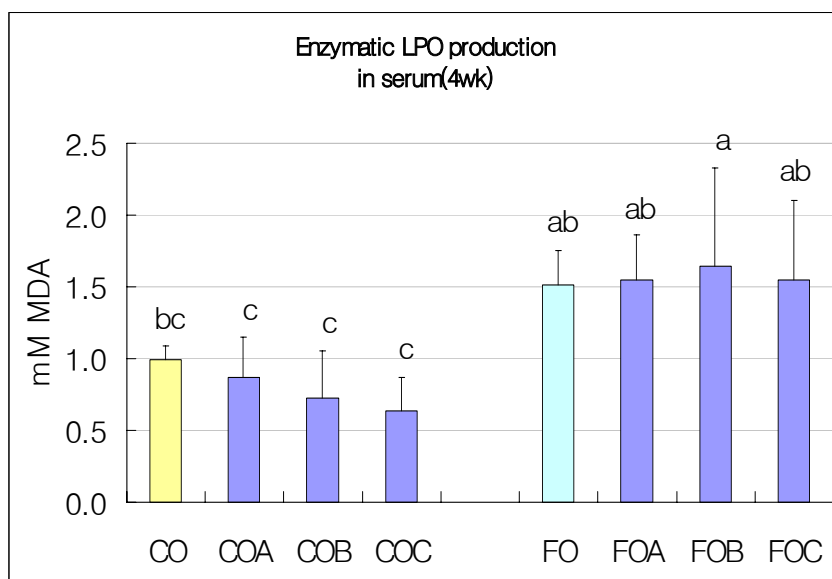


Fig 15. Serum lipid peroxide level and total antioxidant power.

<실험 2> :고콜레스테롤-포화지방산식이섭취 조건에서의 항산화효과

(1) 체중 (Fig 16)

① 4주간의 실험기간 후의 체중은 옥수수기름식이군에서는 mix A와 mix B를 보충섭취한 경우 유의하게 체중이 감소하였으나($p<0.001$), 돼지기름식이군에서는 혼합시료의 보충섭취로 인하여 유의한 변화는 없었다.

②처음체중에 대한 4주간의 체중증가비율을 살펴본 결과 역시 옥수수기름식이군에서는 mix A와 mix B를 보충섭취한 경우 유의하게 체중이 감소하였으나($p<0.001$), 돼지기름식이군에서는 혼합시료의 보충섭취로 인하여 유의한 변화는 없었다.

(2) 혈중 지질 (Fig 17)

① 중성지방 : 혈중 중성지방 수준은 옥수수기름식이군에서는 mix B 와 mix C를 보충섭취시킨 경우 유의하게 감소하였고($p<0.001$), mix A의 섭취는 유의한 변화를 주지 못하였다.

돼지기름식이군에서는 mix A 보충섭취시 혈중 중성지방 농도가 크게 감소하였다.

② 혈중콜레스테롤 농도 : 총콜레스테롤 농도는 옥수수기름식이군에서 혼합시료의 첨가에 의한 차이가 없었다. 돼지기름식이와 함께 콜레스테롤을 0.5% 먹인 돼지기름식이군이 옥수수기름식이군에 비하여 크게 상승하였는데, mix A를 보충섭취한 경우 유의하게 감소함을 보였다($p<0.01$).

(3) 지질과산화 정도 (Fig 18)

①혈중 지질과산화물 : 효소적 지질과산화 정도는 라드식이군(LC)이 옥수수식이군(CO)보다 유의하게 낮았다($p<0.001$). 옥수수기름식이군에서 mix A, B, C 첨가시 모두 유의하게 혈중 지질과산화물의 생성량이 감소하였으나, 라드식이군에서는 차이가 없었다.

② 간조직에서의 지질과산화물 : 간조직에서 측정된 지질과산화물 생성정도는 효소적인 반응이나 비효소적인 반응 모두에서 혈청에서와는 달리 라드식이군이 유의하게 옥수수식이군보다 높았다($p<0.001$). 또한, 옥수수식이군에서는 혼합식품시료의 첨가로 인한 유의적인 변화는 없었으며, 라드식이군에서는 mix A를 첨가한 경우 유의하게 지질과산화 정도가 감소하였다($p<0.001$).

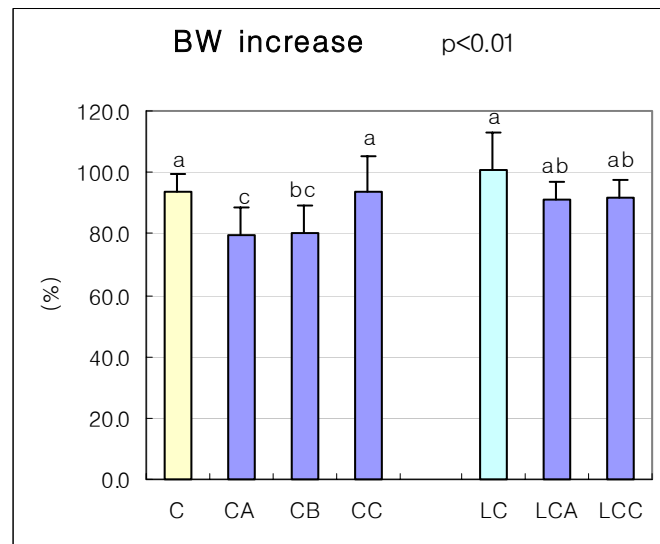
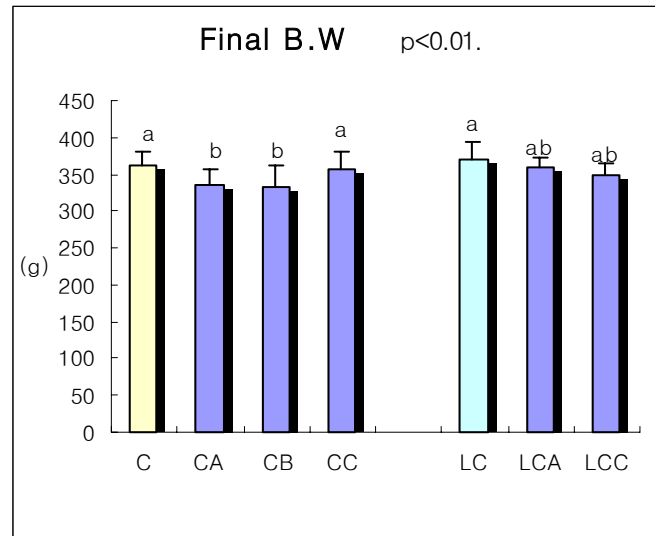


Fig 16. Final Body weight and body weight gain during the experiment.

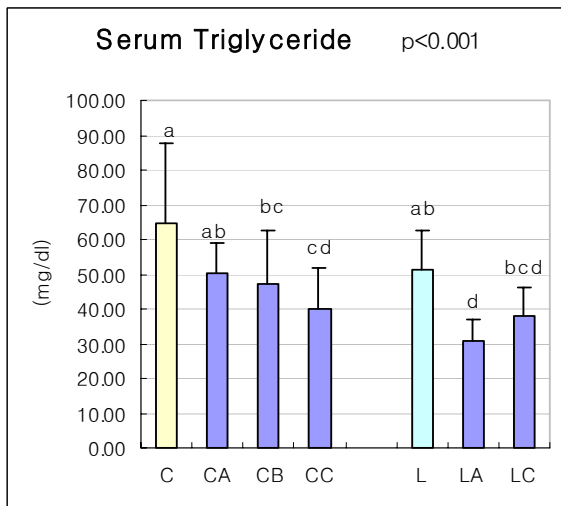
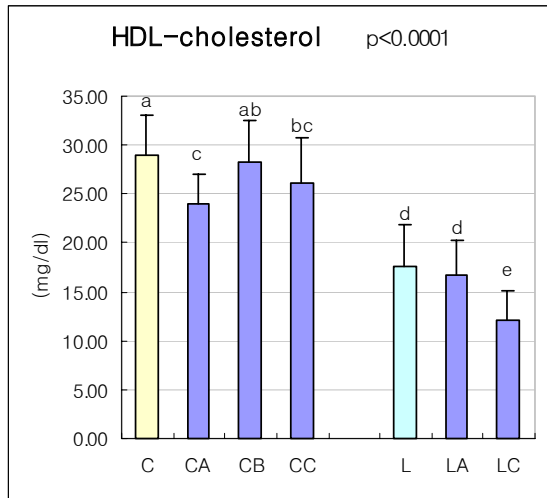
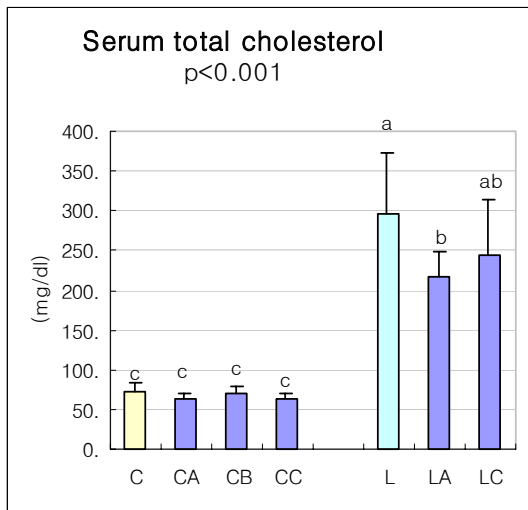


Fig 17. Serum triglyceride and cholesterol profile.

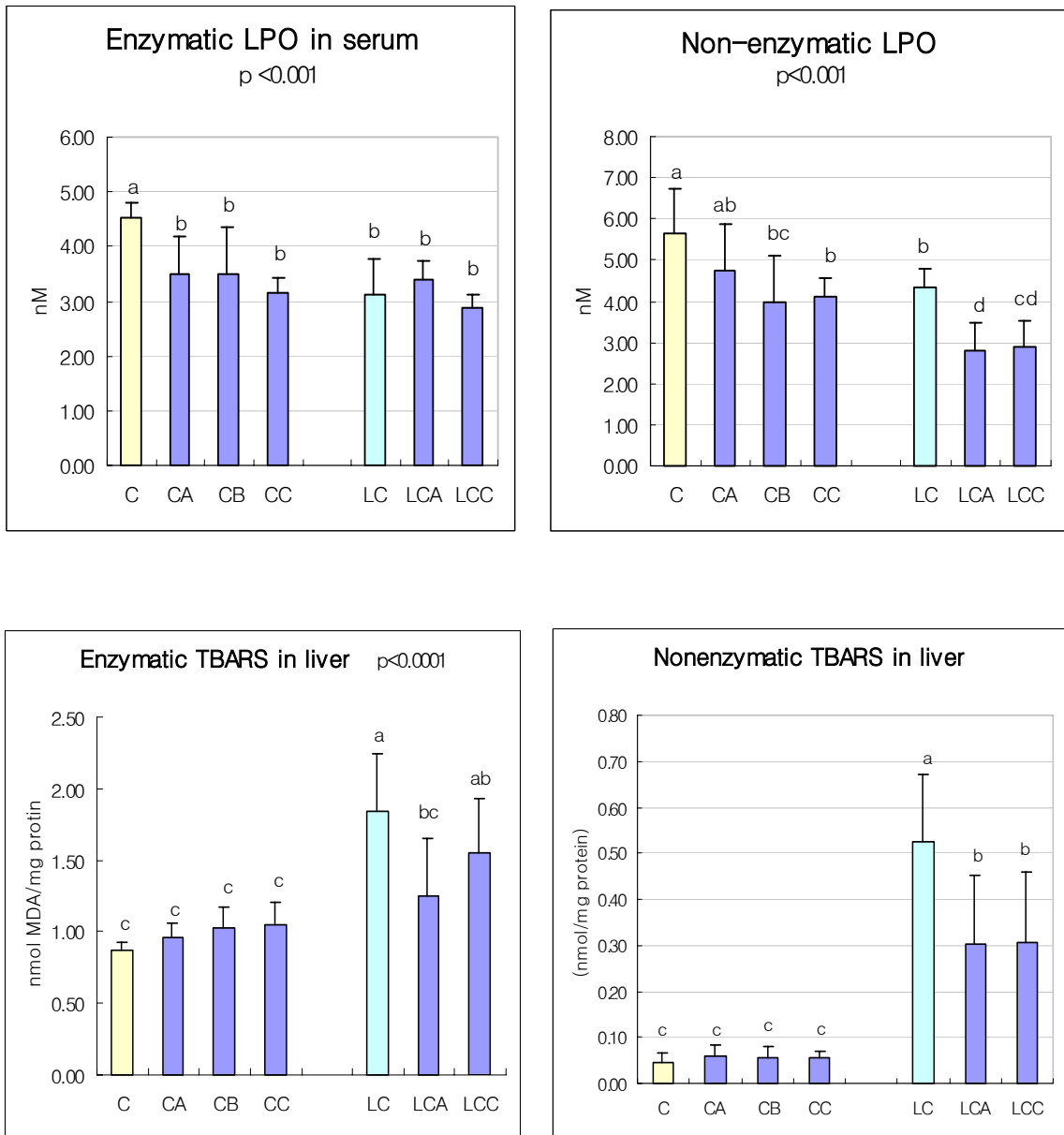


Fig 18. Lipid peroxide level in serum and liver.

<실험 3> 고지방고콜레스테롤식이를 섭취한 동물모델에서 혼합식품의 항산화효과

(1) 실험동물의 체중변화 및 간과 신장무게

실험기간 5주 동안의 체중증가는 실험군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 18). 간무게 및 체중에 대한 간무게 비율은 저지방식군(LF)에 비하여 고지방고콜레스테롤식이군(HFHC)에서 유의하게 컸으나, 고지방고콜레스테롤식이에 혼합건조시료 또는 에탄올추출시료를 섞어 먹인 경우에도 HFHC군과 비교하여 유의한 차이는 없었다(Table 19). 신장무게와 체중에 대한 신장무게 비율은 실험군간에 유의한 차이가 없었다(Table 19).

(2) 혈중 지질과산화물 생성량 및 총항산화능

혈청 중 ascorbate-Fe⁺²에 의하여 비효소적으로 생성되는 지질과산화물은 LF군에 비하여 HFHC군에서 유의하게 높았다(p<0.05). 그러나, 혼합분말시료나 에탄올추출시료의 섭취로 인한 유의한 변화는 없었다(Fig 1A). 한편, 혈액에서 측정된 총항산화능은 LF군에 비하여 HFHC군에서 유의하게 감소함을 보였는데(p<0.001), 이는 고지방식이의 섭취가 체내에서 지질과산화물을 크게 증가시켰고 이로 인한 산화적 스트레스로부터 신체를 보호하기 위하여 체내 항산화물질의 소모가 증가되었기 때문으로 보인다. 또한, P5B군에서는 HFHC군에 비하여 총항산화능이 평균 38% 정도 상승하였으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었고, P5C, E5B, E5C군에서는 HFHC군에 비하여 각각 143%, 154%, 76%씩 유의하게 상승된 결과를 보였다(Fig 19).

(3) 간과 신장에서 지질과산화물 생성 수준

간 조직에서 ascorbate-Fe⁺²로 유도된 지질과산화물의 생성은 HFHC군이 LF군의 2배 정도로 높았으며(p<0.001), 혼합식품첨가군 중 E5B군만이 HFHC군에 비하여 평균 23% 유의하게 감소시키는 효과를 보였다 (Fig 20). 신장에서도 ascorbate-Fe⁺²로 유도된 지질과산화물의 생성은 HFHC군이 LF군에 비하여 62%나 높았고(p<0.001), 혼합식품을 첨가하여 먹인 P5B, P5C, E5B, E5C군에서는 모두 HFHC군에 비하여 유의하지는 않았으나 약 20- 40% 정도 감소하는 경향을 보였다 (Fig 20).

(4) 간 조직에서의 항산화효소의 활성 및 Xanthine oxidase 활성

간에서의 catalase 활성은 HFHC군이 LF군에 비하여 유의하게(p<0.01) 감소되었으나, 혼합시료를 첨가한 실험식이군은 모두 HFHC군과 차이가 없었다 (Table 20). Cu,Zn-SOD 활성 또한 HFHC군이 LF군보다 유의하게 낮았으나, P5B, E5B군은 HFHC군보다 각각 46%, 60%가 증가하여 유의하게 높아진 변화를 보였고(p<0.05), P5C와 E5C군은 HFHC군과 유의한 차이가 없었다. Glutathione peroxidase(GPx) 활성은 모든 식이군 간에 유의한 차이가 없었고, xanthine oxidase(XO) 활성은 HFHC와 비교시 혼합분말시료나 에탄올추출시료의 섭취에 의한 유의한 변화는 없었으나, 5B, 5C 모두 에탄올 추출시료 섭취군이 분말시료를 그대로 섭취한 군보다 유의하게 낮은 활성을 보였다(Table 20).

(5) 신장조직에서의 항산화효소활성

신장조직에서 Cu,Zn-SOD의 활성은 간에서와 같이 HFHC군이 LF군에 비하여 유의하게 낮았으나 (p<0.05), P5B군은 HFHC군에 비하여 유의하게 높아져 LF군과 동일한 수준을 보

였다. P5C, E5B, E5C군은 HFHC군에 비하여 높은 경향은 보였으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었다(Table 21). 한편, 신장에서의 GPx 활성은 간 조직에서와 마찬가지로 식이군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 21).

(6)혈중지질농도 및 동맥경화지수

①혈중 중성지질농도: 저지방군에 비하여 고지방고콜레스테롤식이군에서 유의하게 증가하였다. P5B 군에서 혈중중성지방농도가 다소 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 효과는 아니었다(Fig 21).

②혈중콜레스테롤농도: 혈중 총콜레스테롤 농도는 E5B군만이 유의하게 감소하였다. LDL-콜레스테롤 농도는 E5B군과 E5C군에서 유의하게 감소하였으며, HDL-콜레스테롤 농도는 P5C, E5B, E5C군에서 유의하게 증가함을 보였다(Fig 21).

③동맥경화지수: HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤로 나타낸 동맥경화지수는 Fig 3과 같이 저지방군에 비하여 고지방고콜레스테롤식이 섭취로 동맥경화지수가 크게 상승하였으나 모든 실험식이군에서는 전혀 상승하지 않았다. (Fig 21)

Table 18. Body weight gain for 5 weeks

	Initial Wt(g)	Final BW(g)	BW gain(g)	Liver wt(g)	Liver/BW(%)
LF	158.6±6.3	364.8±16.9	206.1±13.1	12.4±0.6 ^b	3.39±0.10 ^b
HFHC	159.8±5.2	380.8±24.1	221.0±20.9	18.4±2.3 ^a	4.83±0.46 ^a
P5B	158.2±4.2	382.4±10.0	224.2±10.6	18.2±1.4 ^a	4.75±0.76 ^a
P5C	158.1±9.2	374.9±22.8	216.2±13.5	18.8±1.3 ^a	5.01±0.24 ^a
E5B	159.8±4.1	367.0±18.9	207.2±19.0	18.3±1.3 ^a	4.91±0.20 ^a
E5C	157.4±4.8	375.6±14.7	218.1±16.0	17.5±2.6 ^a	4.76±0.50 ^a

NS: no significantly different between groups

a,b: means with different letter within the same column are significantly different from each other by ANOVA, Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 19. Liver and kidney weights

	Liver wt(g)	Liver/BW(%)	Kidney wt(g)	Kidney/BW(%)
LF	12.4±0.6 ^{b***}	3.39±0.10 ^{b***}	2.72±0.30 ^{NS}	0.75±0.09 ^{NS}
HFHC	18.4±2.3 ^a	4.83±0.46 ^a	2.75±0.13	0.72±0.04
P5B	18.2±1.4 ^a	4.75±0.76 ^a	2.79±0.21	0.73±0.05
P5C	18.8±1.3 ^a	5.01±0.24 ^a	2.82±0.26	0.75±0.02
E5B	18.3±1.3 ^a	4.91±0.20 ^a	2.69±0.25	0.75±0.05
E5C	17.5±2.6 ^a	4.76±0.50 ^a	2.69±0.12	0.72±0.05

NS: no significantly different between groups.

a,b: means with different letter within the same column are significantly different from each other by ANOVA, Duncan's multiple range test at $***p < 0.001$.

Table 20. Catalase, superoxide dismutase, glutathione-peroxidase and xanthine oxidase activities in liver

	Catalase (nmol/min/ mg protein)	Cu,Zn-SOD (unit/min/ mg protein)	GPx (nmol/min/ mg protein)	XO (nmol/min/ mg protein)
LF	174.8±23.1 ^a	29.0±7.7 ^a	170.3±17.1 ^{NS}	11.20±2.92 ^{ab}
HFHC	149.3±24.7 ^b	14.9±4.4 ^c	169.7±42.5	10.93±2.81 ^{ab}
P5B	145.8±15.8 ^b	21.8±7.2 ^b	153.4±16.2	13.36±3.30 ^a
P5C	149.9±20.2 ^b	17.5±2.7 ^{bc}	174.8±23.9	13.34±2.65 ^a
E5B	130.4±22.9 ^b	22.4±5.7 ^b	157.8±35.4	9.70±3.58 ^b
E5C	135.1±13.2 ^b	19.6±2.4 ^{bc}	161.1±22.3	9.07±2.67 ^b

NS: no significantly different between groups.

a,b,ab,bc,c: means with different letter within the same column are significantly different from each other by ANOVA, Duncan's multiple range test at p<0.05.

Table 21. Superoxide dismutase and glutathione-peroxidase activities in kidney

	Cu,Zn-SOD (unit/min/ mg protein)	GPx (nmol/min/ mg protein)
LF	25.2±2.4 ^a	157.1±32.4 ^{NS}
HFHC	21.0±2.4 ^b	189.1±31.6
P5B	24.3±3.9 ^a	199.0±34.0
P5C	22.1±2.3 ^{ab}	166.8±39.8
E5B	22.5±2.2 ^{ab}	146.3±34.8
E5C	22.9±2.4 ^{ab}	192.5±18.1

a,b,ab: means with different letter within the same column are significantly different from each other at p<0.05 by ANOVA, Duncan's multiple range test.

NS: no significantly different between groups.

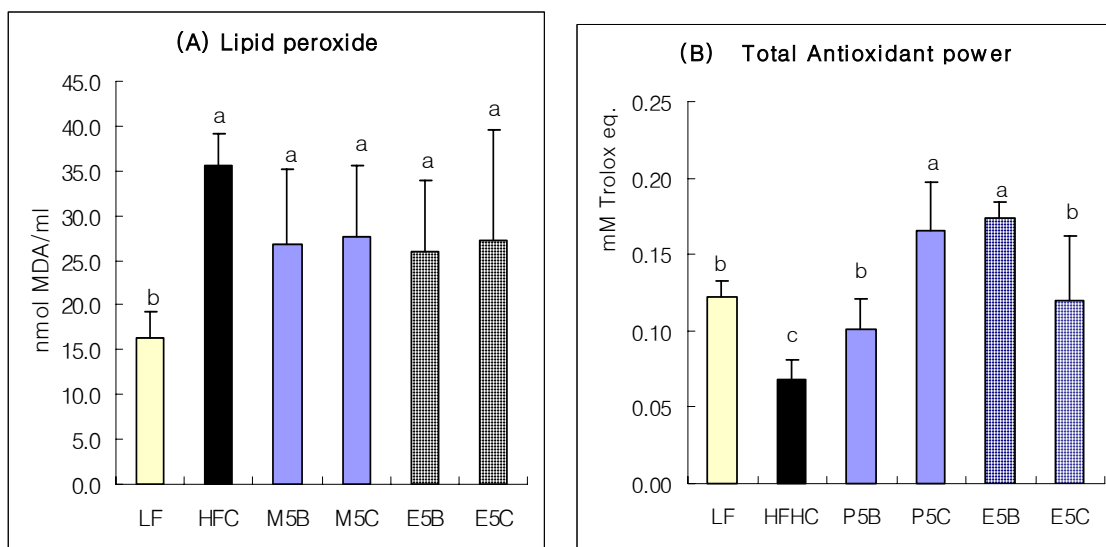


Fig 19. Nonenzymatic Lipid peroxide level(A) and total antioxidant power(B) in rat serum

a,b: means with different letter are significantly different from each other at $p < 0.05$ (A) or $p < 0.001$ (B) by ANOVA, Duncan's multiple range test.

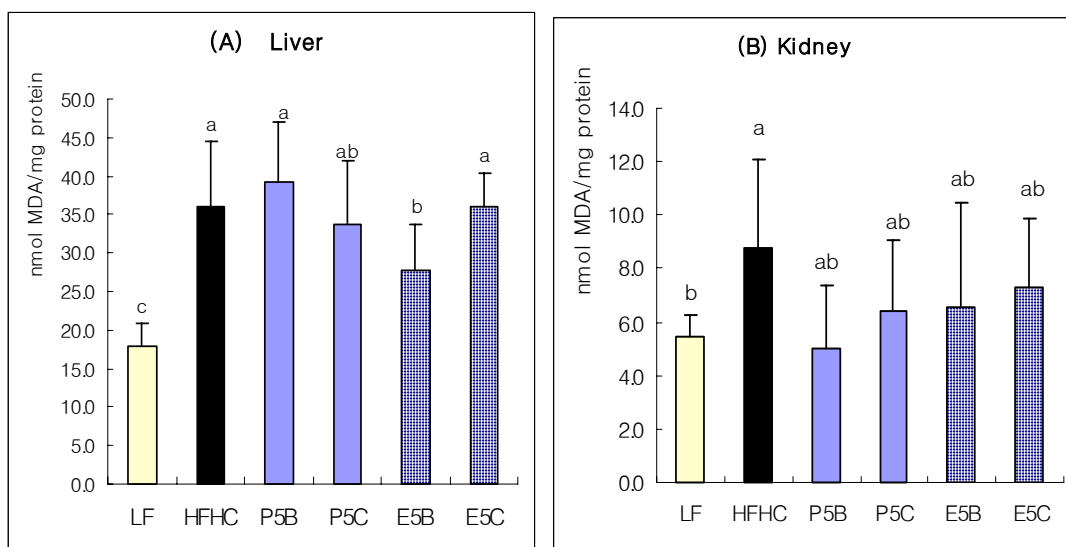


Fig 20. Nonenzymatic ascorbate- Fe^{+2} induced lipid peroxide level in rat liver(A) and kidney(B)

a,b,ab,c: means with different letter are significantly different from each other at $p < 0.001$ (A) or $p < 0.05$ (B) by ANOVA, Duncan's multiple range test.

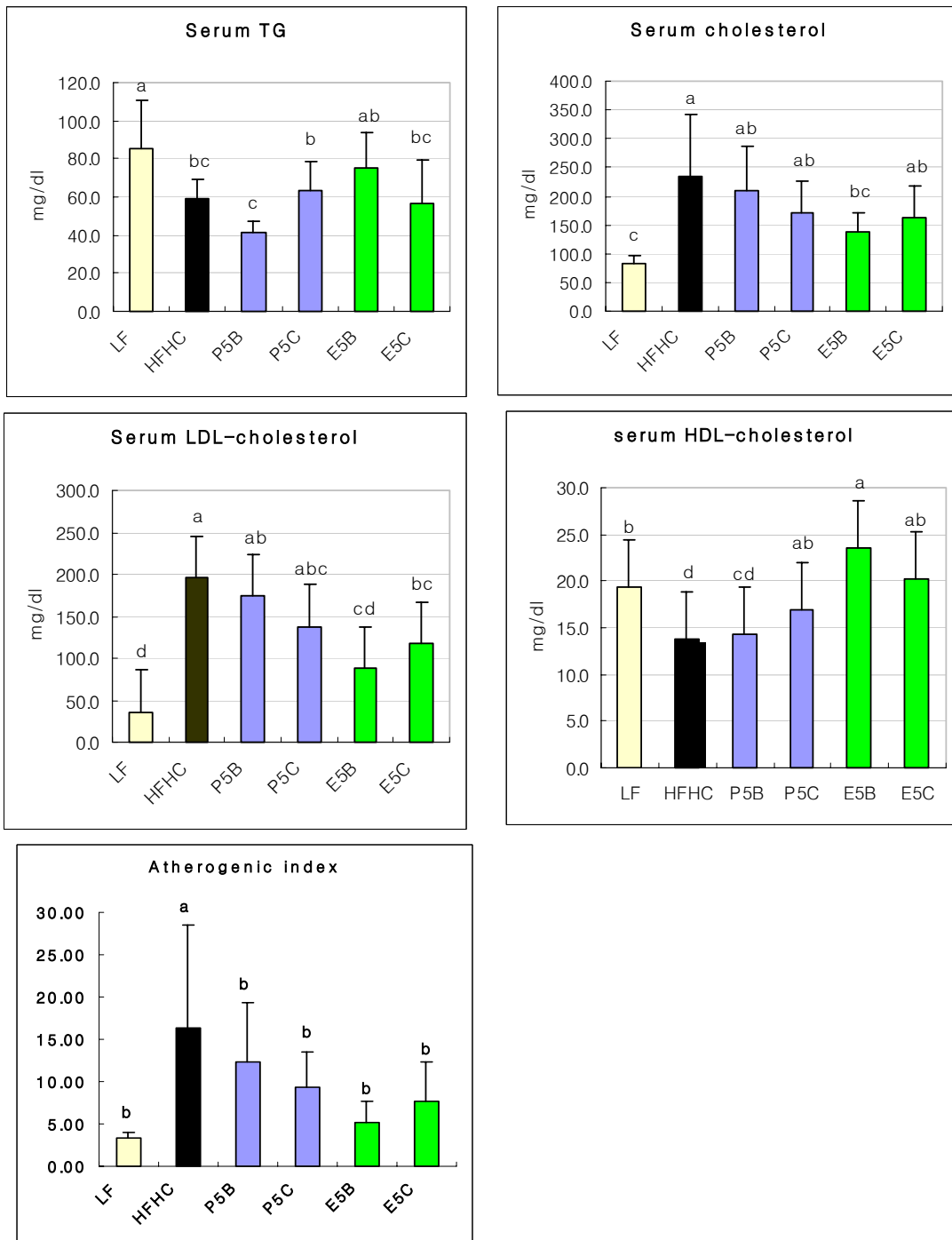


Fig 21. Serum lipid and cholesterol pattern and atherogenic index.

3) 혼합식품시료의 Ex vivo 면역기능 증진효과

※ 면역기능 증진효과 검색에 사용한 혼합시료(A,B,C,D,F) 중 다른 실험에서 사용한 혼합시료와 비교하면 **혼합D=2, 혼합F=3** 이다.

총 5가지의 서로 다른 혼합 효과가 검색되었는데 혼합 A와 B는 20가지 시료를 각각 두 군으로 나누어 동량의 비율로 혼합했을 경우 단독의 경우와 비교해 다른 효과가 나타나는지를 검색하였다. 한편, 혼합 C는 20가지 시료를 모두 섞어 검색하였으며 혼합 D는 솔잎, 메밀 등 5종, 혼합 F는 썩, 수수 등 5종을 섞어 혼합 효과를 조사하였다. 이들 시료를 4주간 격일로 50 mg/kg b.w. 0과 500 mg/kg b.w.의 농도로 마우스에 직접 경구 투여한 후 비장세포 증식능과 활성화 복강 대식세포에서 분비하는 사이토카인 분비능을 측정하여 면역기능 평가의 지표로 삼았다.

비장세포 증식능의 결과 혼합 A, B, D, F 추출물 투여군의 경우 500 mg/kg b.w. 농도에서, 혼합C 추출물 투여군의 경우에는 50 mg/kg b.w. 농도에서 비장세포의 최대 증식을 보였다. 그러나 혼합 A를 제외한 나머지 혼합 시료 추출물의 경우에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 비장세포의 IgM 항체 생성 세포수(plaque forming cell : PFC)를 측정한 결과를 보면 혼합 A, B, D, F 추출물 투여군의 경우 500 mg/kg b.w. 농도에서, 혼합C 추출물 투여군의 경우에는 50 mg/kg b.w. 농도에서 높은 IgM 항체 생성 세포수를 나타내었다. 혼합 A를 제외한 나머지 혼합 시료 추출물의 경우에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 활성화 복강 대식세포에 의한 사이토카인 분비량을 측정한 결과 IL-1 β 의 경우 혼합 A, B, D, F 추출물 투여군에서는 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었으나 혼합 A의 경우에서만 유의적인 차이를 보였다. 혼합 C 추출물 투여군의 경우에는 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었다. IL-6의 경우 혼합 A, B, D 추출물 투여군에서 500 mg/kg b.w.군, 혼합 C 추출물 투여군의 경우 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었다. 혼합 A를 제외한 나머지 혼합 시료 추출물의 경우에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. TNF- α 의 경우 또한 혼합 A, B, D 추출물 투여군의 경우 500 mg/kg b.w.군, 혼합 C 추출물 투여군의 경우 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었으나, 혼합 A를 제외한 나머지 혼합 시료 추출물의 경우에는 유의적인 차이를 보이지 않았다. IFN- γ 의 경우 혼합 A 추출물 투여군의 경우 50 mg/kg b.w.군, 혼합 B, C, D, F 추출물 투여군의 경우 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. IL-10의 경우 혼합 A, F 추출물 투여군의 경우 500 mg/kg b.w.군, 혼합 B, C, D 추출물투여군의 경우 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 분비능을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 혼합 A, B, C, D, F 추출물 투여군에서 IFN- γ 분비량과 IL-10 분비량의 비율은 0.5 ~ 3.5의 범위를 나타내었다. 이는 다른 연구에서 나타난 2.0 ~ 5.0 사이의 범위와 유사한 경향을 보였다. 따라서, 혼합 A군을 제외하고는 혼합시료를 투여했을 경우 단일 시료에서 보였던 활성화능에 비해 유의적인 차이를 보이지 않은 것으로 보아 혼합 시료의 경우 단일시료 각각의 효과가 더해지는 상승 효과는 나타나지 않은 것으로 사료 된다.

(1) 비장세포 증식능 (Fig 22)

● 혼합A 추출물을 투여한 결과, 대조군에 비해 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군이 세포 증식지수를 보였으나 유의적 차이는 없었다. 그러나 Con A 자극 시, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.농도군에서 비장세포 증식지수가 유의적으로 상승되었음을 확인할 수 있었다.

● 혼합B 추출물을 투여한 경우에 있어서는, Con A 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군과 LPS 를 첨가한 경우, 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 세포 증식지수가 높게 나타났으나, 유의적인 차는 없었다.

● 혼합C 추출물을 투여한 경우에 있어서는, 50 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 높은 수치를 보였으나 유의적인 차를 보이지 않았다. Con A 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군과 LPS 첨가군의 경우 대조군에 비해 높은 증식율을 보였으나 유의적인 차이를 보이지 않았다.

● 혼합D 추출물을 투여한 결과, 500 mg/kg b.w 농도군에서 높은 세포 증식능을 나타냈다. Con A 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w. 투여군에서 대조군보다 높은 증식능을 나타내었지만 유의적 차이는 없었다.

● 혼합F 추출물을 투여한 결과, 500 mg/kg b.w 농도군에서 미미한 세포 증식능을 나타냈다. Con A 로 자극한 경우에도, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w. 투여군에서 대조군보다 높은 증식능을 나타내었으나, 유의적 차이는 없었다.

(2) 마우스 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수 측정 (Fig 23)

혼합 추출물에 의한 B 세포 증식 효과가 ex vivo에서 나타나는지를 확인하기 위하여 마우스 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수를 측정하였다.

● 혼합A 추출물 투여에 의한 마우스 비장세포 중의 IgM 항체 생성 세포수는 대조군, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군 농도에서 500 mg/kg b.w.군에서 가장 높은 IgM 항체 생성 세포수를 나타내었다.

● 혼합B 추출물의 경구 투여 시 대조군, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 IgM 항체 생성 세포수 차이가 없었다.

● 혼합C 추출물을 투여한 경우에 있어서는, 대조군, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군 농도에서 50 mg/kg b.w.군에서 유의적으로 높은 IgM 항체 생성 세포수를 나타내었다.

● 혼합D 추출물을 경구 투여 결과 역시 농도 50 mg/kg b.w.군에서 가장 높은 IgM 항체 생성 세포수를 나타내었으나 유의적인 차는 보이지 않았다.

● 혼합F 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 높은 IgM 항체 생성 세포수를 나타내었으나 유의적인 차는 보이지 않았다.

(3) 시료별 복강 대식세포의 Cytokine 생성량 측정

① IL-1 β (Fig 24)

● 혼합A 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 IL-1 β 생성량은 500 mg/kg b.w.군에서 IL-1 β 분비량이 높았고, LPS 자극 시, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 유의적으로 높은 분비능을 보였다. LPS로 자극한 실험군에서 IL-1 β 분비가 유의적으로 상승한 것으로 보아 혼합A 경구투여는 IL-1 β 생성을 자극하여 면역반응을 촉진시키는 것으로 추측된다.

● 혼합B 추출물의 경구 투여 결과는 농도 500 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였으나

유의적인 차는 보이지 않았고, LPS 처리의 경우, 500 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다. LPS로 자극했을 시, 고농도 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 IL-1 β 분비가 상승하여 혼합B 경구투여는 IL-1 β 분비에 의한 면역반응을 활성화시키는 것으로 나타났다.

● 혼합C 추출물을 투여한 경우에 있어서는, 50 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 높은 수치를 보였으나 유의적인 차를 보이지 않았다. LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다. LPS로 자극한 실험군에서 저농도 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 IL-1 β 분비가 상승하여 혼합C 경구투여는 IL-1 β 분비에 의한 면역반응을 활성화시키는 것으로 본다.

● 혼합D 추출물을 투여한 결과, 500 mg/kg b.w. 농도군에서 높은 세포 증식능을 나타냈다. LPS 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w. 투여군에서 대조군보다 높은 증식능을 나타내었지만 유의적 차이는 없었다.

● 혼합F 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군 모두에서 효과를 나타내지 않았다.

② IL-6 (Fig 25)

● 혼합A 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 IL-6 생성량은 500 mg/kg b.w.군에서 IL-6 분비가 증가된 것으로 나타났고, LPS 처리 시, 500 mg/kg b.w.군에서 IL-6 분비가 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 따라서 500 mg/kg b.w. 농도의 경구투여가 IL-6 분비를 자극하여 면역계를 활성화에 효과가 있을 것으로 사료된다.

● 혼합B 추출물의 경구 투여 결과는 농도 500 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였으며, LPS 처리 시, 500 mg/kg b.w.군이 높은 분비능을 보였다. 이는 500 mg/kg b.w. 농도의 경구투여가 IL-6 분비를 자극하여 면역계를 활성화 시킬 수 있으리라 추측된다.

● 혼합C 추출물의 경우 농도 50 mg/kg b.w.군에서는 높고 500 mg/kg b.w.군에서 IL-6 분비량 대조군과 비슷하였고, LPS 처리군의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 IL-6 분비능이 증가하였다.

● 혼합D 추출물을 투여한 결과, LPS로 처리하지 않은 경우 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w.의 농도에서 대조군보다 높은 생성량을 보였으며, LPS 첨가 시에는 50 mg/kg b.w. 과 500 mg/kg b.w. 농도군 모두 대조군에 비해 높은 IL-6 생성능을 보였다. 그러므로 혼합D 경구투여는 IL-6 분비에 의한 면역반응을 활성화시키는 것으로 나타났다.

● 혼합F 추출물의 경우 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 높은 수치를 보여 독성이 우려되며, LPS로 자극했을 시, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 별 차이가 없어 혼합F 추출물은 IL-6 분비에 의한 면역반응에 기여 하지 못하는 것으로 사료된다.

③ TNF- α (Fig 26)

● 혼합A 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 TNF- α 생성량은, 대조군에 비해 500 mg/kg b.w.군에서 TNF- α 분비가 높았고, LPS 처리시, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 유의적으로 높은 TNF- α 분비능을 보였다.

● 혼합B 추출물의 투여 결과는 LPS를 처리한 경우, 대조군에 비해 약간 높은 TNF- α 분비능을 보였다.

● 혼합C 추출물의 투여시 LPS를 처리한 경우, 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 높은 TNF- α 분비능을 보였으나, 유의적 차이는 없었다.

● 혼합D 추출물의 투여시에는 LPS를 처리한 경우, 500 mg/kg b.w.군에서 약간의 높은 TNF- α 분비능을 보였다.

● 혼합F 추출물의 경우 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군 모두에서 효과를 나타내지 않았다.

④ IFN- γ (Fig 27)

● 혼합A 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 IFN- γ 생성량은 500 mg/kg b.w.군이 많은 양의 IFN- γ 를 분비함을 알 수 있었고, LPS 자극 시에도, 500 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 높은 분비능을 보였다.

● 혼합B 추출물의 경구 투여 결과는 농도 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였으며 LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다.

● 혼합C 추출물을 투여시 LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다.

● 혼합D 추출물을 투여 역시 LPS 처리의 경우에서 50 mg/kg b.w.군이 높은 분비능을 나타내었다.

● 혼합F 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 세포 증식능을 나타냈다. LPS 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 IFN- γ 분비가 상승하였다.

⑤ IL-10 (Fig 28)

● 혼합A 추출물 투여에 의한 복강 대식세포의 IL-10 생성량은 500 mg/kg b.w.군이 많은 양의 IL-10를 분비하였으며 LPS 자극 시에도, 500 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 높은 분비능을 보였다.

● 혼합B 추출물의 경구 투여 결과는 농도 50 mg/kg b.w.군에서 약간 높은 분비능을 보였으나 유의적인 차는 보이지 않았고, LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다.

● 혼합C 추출물을 투여한 경우에 있어서는, 50 mg/kg b.w.군이 대조군에 비해 약간 높은 수치를 보였다. LPS 처리의 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 높은 분비능을 보였다.

● 혼합D 추출물을 투여한 결과, 50 mg/kg b.w. 농도군에서 약간 높은 세포 증식능을 나타냈다. LPS 로 자극한 경우, 50 mg/kg b.w.군에서 대조군보다 높은 증식능을 나타내었지만 유의적 차이는 없었다.

● 혼합F 추출물을 투여한 결과, 500 mg/kg b.w.군에서 약간의 세포 증식능을 나타냈다. LPS 로 자극한 경우에는, 500 mg/kg b.w.군에서 대조군에 비해 높은 IL-10 분비가 나타났다.

이는 Antiinflammatory cytokine 인 IL-10 이 항상성을 유지함으로써 초기 염증 반응에서의 proinflammatory cytokine의 지나친 상승을 억제하는 것으로 사료된다.

⑥ IFN- γ 와 IL-10 비율 (Fig 29)

IFN- γ 분비량과 IL-10 분비량의 비율은 다음과 같이 나타났다.

● 혼합A 추출물에서 LPS를 처리하지 않은 경우 대조군과 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군에서는 변화를 보이지 않았으나, LPS 첨가시에는 50 mg/kg b.w.군과 500 mg/kg b.w.군에서 3.3 ~ 3.4 범위를 나타내었다.

● 혼합B 추출물에서 LPS를 처리하지 않은 경우 대조군과 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군에서 0.1 ~ 0.6 범위를 나타내었고, LPS 첨가시에는 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군

에서 1.4 ~ 1.8범위를 나타내었다.

● 혼합C 추출물에서 LPS를 처리하지 않은 경우 대조군과 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군에서 0.0 ~ 0.2 범위를 보였으며, LPS 첨가시에는 50 mg/kg b.w.군에서 1.5 범위를 나타내었다.

● 혼합D 추출물에서 LPS 첨가시에는 대조군과 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군에서 1.0의 범위로 변화를 보이지 않았다.

● 혼합F 추출물에서 LPS를 처리하지 않은 경우 50 mg/kg b.w.군, 500 mg/kg b.w.군에서 0.3 ~ 0.6범위를 보였다.

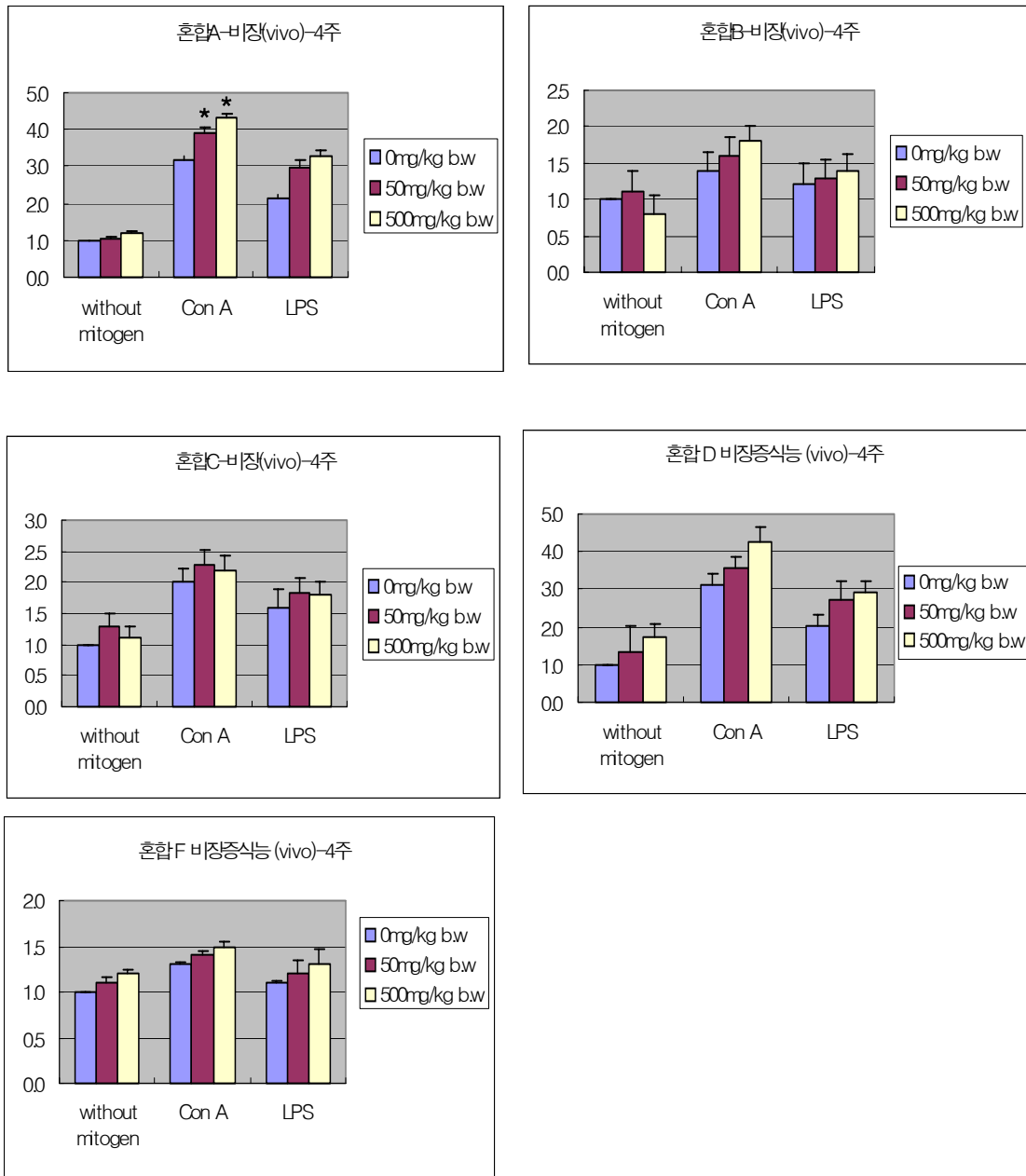


Fig 22. Proliferation index of splenocyte of mice orally administered with water extracts from different food mixtures

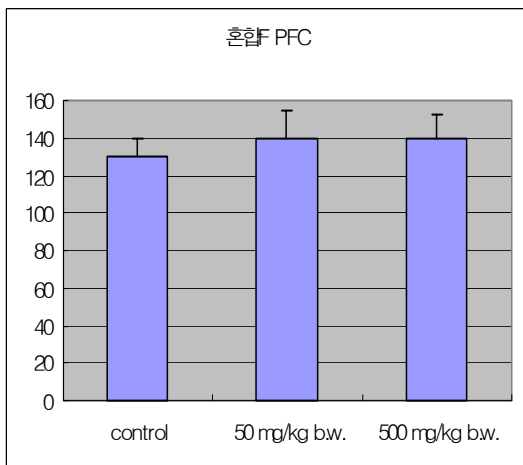
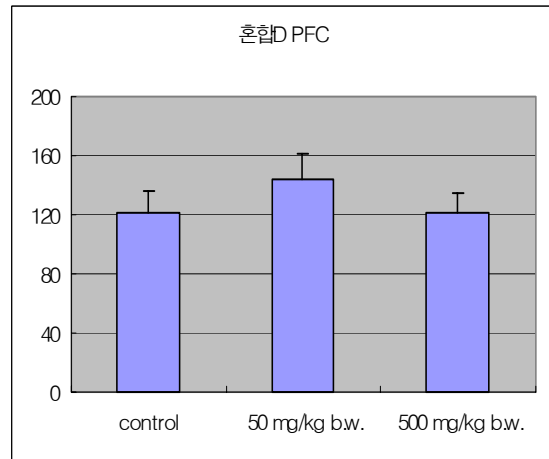
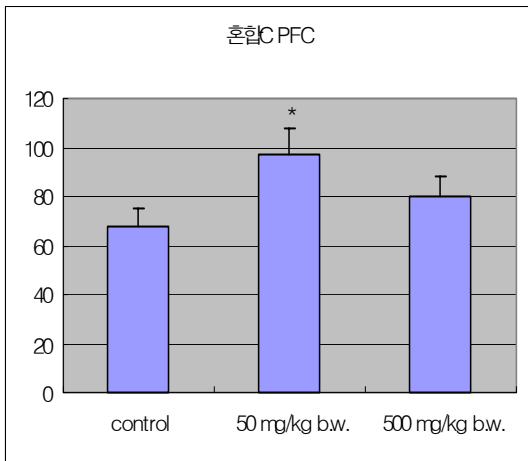
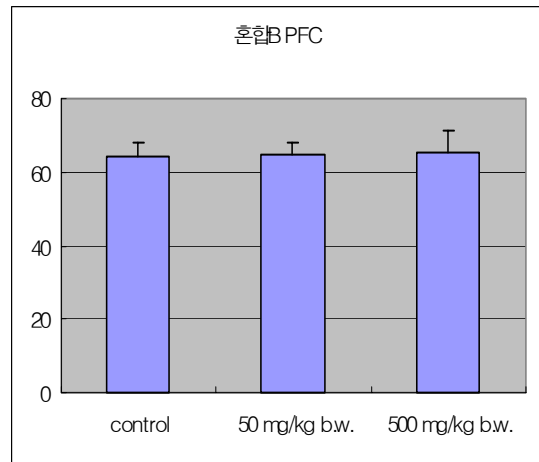
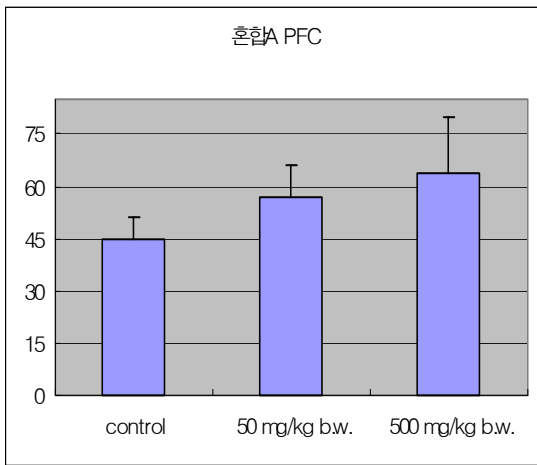


Fig. 23. The plaque forming cell number of mice orally administered with water extract from food mixtures.

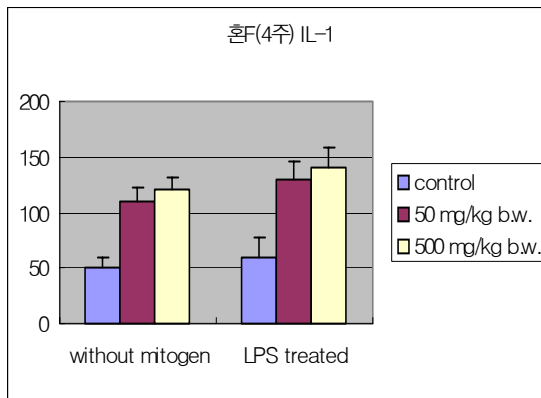
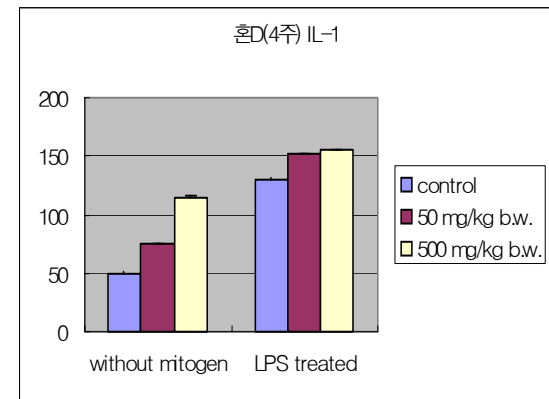
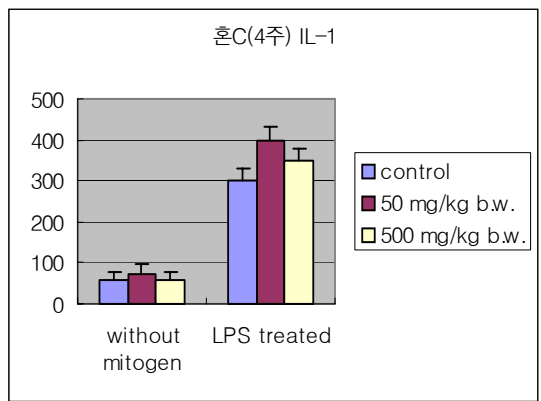
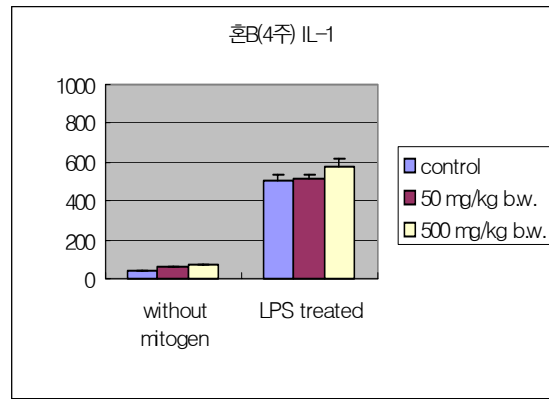
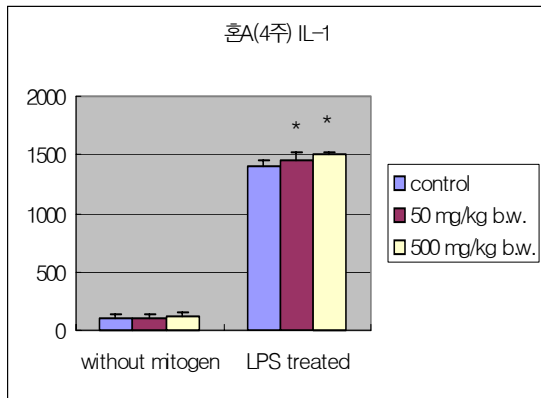


Fig 24. IL-1 β production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.

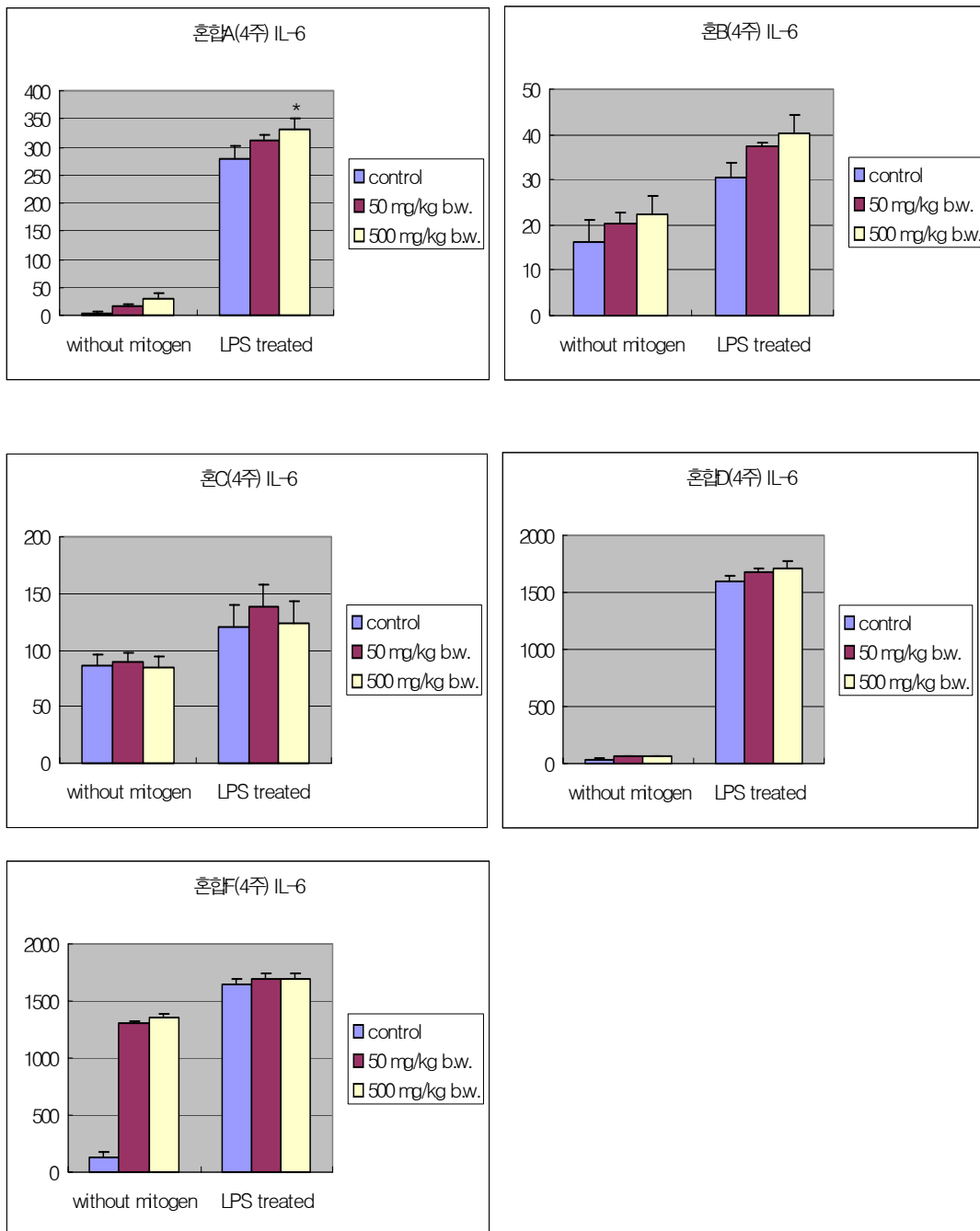


Fig 25. IL-6 production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.

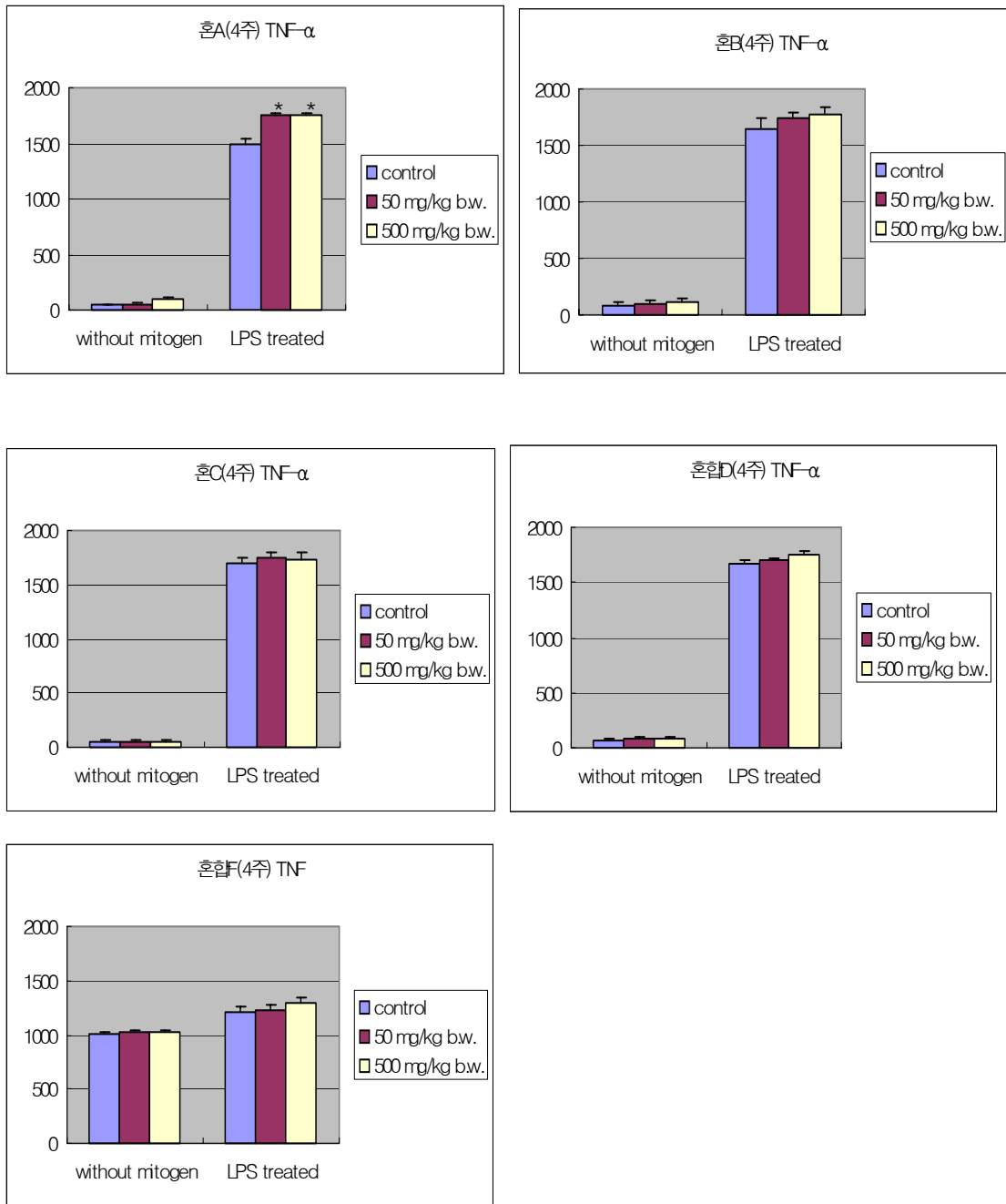
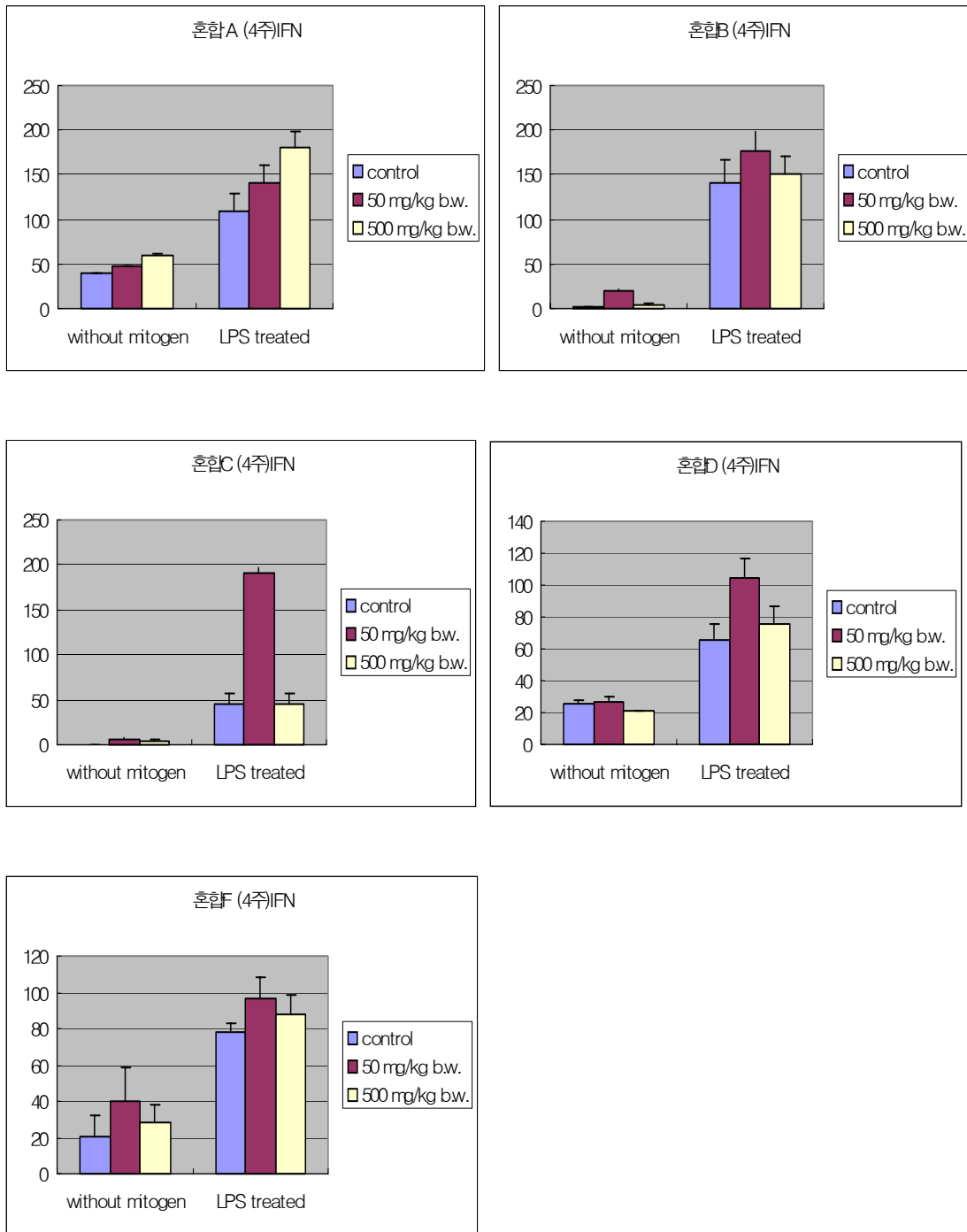


Fig 26. TNF- α production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.



fig

Fig 27. IFN- γ production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.

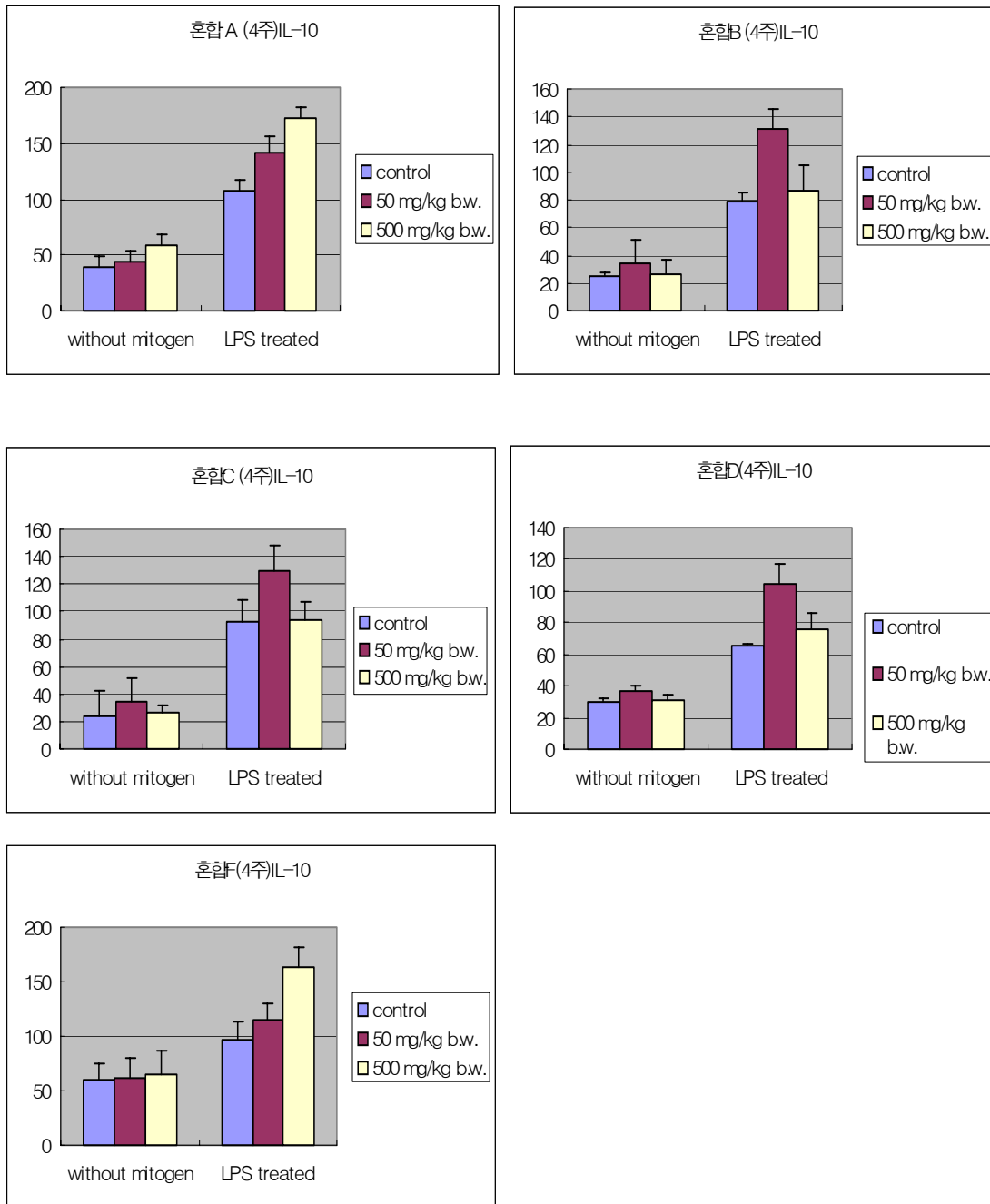


Fig 28. IL-10 production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.

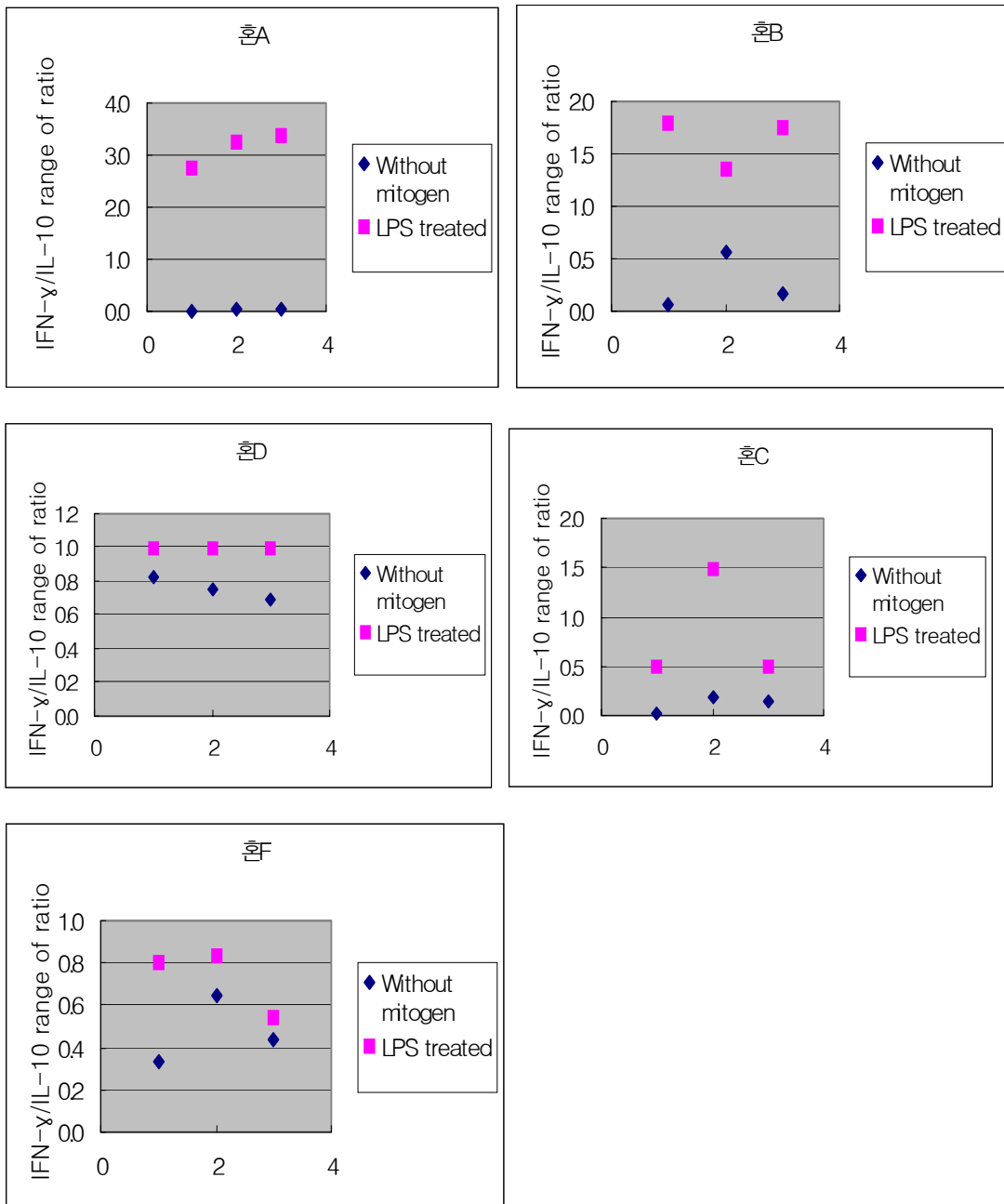


Fig 29. Ratio of IFN- γ and IL-10 production by activated peritoneal macrophage of mice administered with water extracts from food mixtures.

다. 식품 중 총 flavonoid 및 총 polyphenol 함량

1) 총 flavonoid 함량

채소의 경우 짙은녹색의 잎채소가 총 flavonoid 함량이 높았으며, 과일 및 곡류 등은 채소류에 비하여 낮은 함량을 보였다 (Table 22). 그러나, 과일피는 상대적으로 높은 함량을 나타냈다 (Table 24).

- 20mg/g dry wt 이상: 근대, 고들빼기, 돌미나리, 미나리, 시금치, 파슬리, 깻잎, 쑥, 취나물, 쑥갓, (귤피)(레몬피)(석류피)
- 10-20 mg/g dry wt: 무잎, 부추, 솔잎, 돌나물, 잣, 미역, 달래, 냉이, (유자피)
- 1-10mg/g dry wt: 브로콜리, 파, 풋고추, 우엉, 파래, 생강, 고춧가루, 양송이 버섯, 감자, 톳, 영지, 느타리버섯, 오이, 팽이버섯, 다시마, 양파, 애호박, 양배추, 메밀, 검정콩, 마늘, 배추, 흰콩, 수수, (감피), 건자두, 귤, 금귤, 딸기, 망고피, 모과, (바나나피), 방울토마토, (백도피), (보리뽕씨), (사과피), 살구, 석류, (수박피),(오렌지피),(유자피), 자몽, 자몽피, 천도복숭아, 토마토, (포도씨)(포도피)
- 1mg/g dry wt 이하: 대부분의 곡류, 뿌리채소, 색이 옅은 과일

2) 총 polyphenol 함량

석류피가 87.3mg/g dry wt으로 가장 높은 함량을 보였으며, 대부분 색이 짙은 과일의 껍질에 polyphenol의 함량이 높아 (Table 24), 과일의 껍질을 이용하여 건강보조식품 또는 향신료 등을 개발할 가치가 있다고 본다 (Table 23).

- 40 mg/g dry wt 이상: (석류피), (포도씨), 솔잎, 깻잎, 모과, (보리뽕씨), (망고피), 보리뽕, (포도피)
- 20-40 mg/g dry wt: 쑥갓, 취나물, 미나리, 고들빼기, 딸기, (백도피), 돌나물, 돌미나리, (레몬피), (사과피), 살구, 자두, (유자피),
- 20 mg/g dry wt 이하 : 생강, 근대, 우엉, 시금치, 부추, (감피), (귤피), 매실, (바나나피), 망고, 방울토마토, 백도, 석류

Table 22. Total flavonoid content in Korean foods and mixtures.

Rank		Flavonoids content (mg/g dry wt)
1	감자	3.34
2	갯	11.66
3	검정콩	1.36
4	고구마	0.59
5	고들빼기	21.72
6	고추가루	4.24
7	근대	23.14
8	기장	0.96
9	김	0.67
10	깨잎	34.29
11	냉이	10.68
12	느타리 버섯	2.49
13	늪은호박	0.86
14	다시마	1.95
15	달래	11.12
16	당근	0.60
17	돌나물	12.68
18	돌미나리	23.53
19	마	0.16
20	마늘	1.35
21	메밀	1.41
22	무	0.60
23	무잎	19.36
24	미나리	20.48
25	미역	11.30
26	배추	1.21
27	보리	0.46
28	볶은 찹쌀	0.52
29	볶은쌀	0.20
30	부추	17.44
31	브로콜리	6.80
32	생강	4.44
33	솔잎	14.99
34	수수	1.17
35	시금치	20.08
36	쌀	0.09
37	쭈	33.99
38	쭈갯	22.26
39	애호박	1.82
40	양배추	1.46
41	양송이 버섯	3.52
42	양파	1.84

Mixture	Flavonoid content (mg/g dry wt)
M10A	12.41
M10B	16.96
M5A	1.23
M5B	5.39
M5C	6.59
M5D	6.17

43	연근	0.64
44	영지	2.68
45	오이	2.46
46	우영	5.08
47	울무	0.66
48	참쌀	0.82
49	취나물	30.35
50	톳	2.69
51	파	6.25
52	파래	4.65
53	파슬리	38.96
54	팽이 버섯	2.06
55	표고	0.92
56	꽃고추	5.96
57	현미	0.91
58	흰콩	1.20

Table 23. Total polyphenol content in Korean foods and mixtures.

순위		polyphenol content (mg/g dry wt)
1	감자	4.56
2	갓	7.34
3	검정콩	4.53
4	고구마	2.17
5	고들빼기	32.98
6	고추가루	7.23
7	근대	12.62
8	기장	1.09
9	김	3.82
10	깻잎	52.51
11	냉이	7.63
12	느타리 버섯	6.00
13	늪은호박	0.63
14	다시마	1.17
15	달래	1.23
16	당근	0.35
17	돌나물	23.77
18	돌미나리	22.53
19	마	0.43
20	마늘	1.09
21	메밀	3.71
22	무	0.63
23	무잎	3.05
24	미나리	33.63

Mixture	polyphenol content (mg/g dry wt)
M10A	27.28
M10B	23.02
M5A	9.29
M5B	43.49
M5C	35.84
M5D	9.33

25	미역	2.43
26	배추	2.92
27	보리	2.00
28	볶은 찹쌀	2.03
29	볶은쌀	1.00
30	부추	10.49
31	브로콜리	9.33
32	생강	19.16
33	솔잎	57.71
34	수수	1.76
35	시금치	10.91
36	쌀	1.50
37	썩	48.44
38	썩갓	38.83
39	애호박	2.52
40	양배추	3.48
41	양송이 버섯	1.76
42	양파	0.74
43	연근	0.91
44	영지	5.09
45	오이	0.24
46	우엉	11.63
47	율무	1.70
48	찹쌀	1.70
49	취나물	33.92
50	툇	1.45
51	파	3.46
52	파래	8.91
53	파슬리	7.84
54	팽이 버섯	9.83
55	표고	2.27
56	풋고추	7.99
57	현미	1.17
58	흰콩	2.49

Table 24. Total flavonoid and polyphenol contents in fruits. (mg/g dry wt)

		flavonoid	polyphenol
1	감	0.44	4.31
2	감피	1.49	10.17
3	건대추	0.74	5.69
4	건자두	2.56	7.02
5	골드키위	0.37	4.65
6	굴	6.72	4.28
7	굴피	28.79	18.17
8	금굴	1.84	3.45
9	딸기	1.84	34.65
10	레몬	0.23	7.10
11	레몬피	24.90	23.42
12	망고	0.63	10.72
13	망고피	1.30	49.70
14	매실	0.64	18.55
15	모과	2.51	55.90
16	모과씨	2.08	4.16
17	무화과	0.41	4.02
18	바나나	0.59	7.63
19	바나나피	1.46	10.35
20	밤	0.21	1.82
21	방울토마토	2.10	12.81
22	백도	0.85	17.06
23	백도피	1.79	30.92
24	보리똥	0.64	43.14
25	보리똥씨	2.09	59.54
26	사과	0.62	7.78
27	사과피	3.75	28.52
28	살구	1.13	24.51
29	석류	1.21	17.08
30	석류피	29.70	87.33
31	수박	0.23	1.69
32	수박피(겉)	6.87	0.23
33	수박피(속)	0.39	1.04
34	오렌지피	2.88	7.67
35	유자	0.22	4.15
36	유자피	16.60	23.87
37	자두	0.51	26.26
38	자몽	3.23	3.92
39	자몽피	5.26	9.52
40	천도복숭아	1.17	6.18
41	키위	0.32	1.66
42	토마토	1.42	4.44
43	포도	0.41	2.44
44	포도씨	3.04	63.27
45	포도피	7.65	44.63

라. 실험대상 식품의 잔류농약 검사

풋고추, 쪽갓, 갓, 취나물, 돌나물, 돌미나리, 시금치, 고들빼기, 근대, 깻잎 22종에 대한 농약잔류검사 결과 standard A 37항목, standard B 41항목, standard C 42항목에 대하여 전혀 검출되지 않았다.

마. 한국의 상용 식품 및 약용식품의 생리활성기능에 대한 Data Base 구축 및 상호 검색 시스템 개발

개발된 시스템은 PC를 이용하여 [http:// www.apcri.re.kr](http://www.apcri.re.kr) 상에 <한국인의 상용식품 Data base> 배너를 클릭하면 식품군별, 생리활성별, 유효성분별, 활성성분별로 관련 문헌의 목록 및 초록을 찾을 수 있으며, 만성질환 및 식이요법 기본에 대한 식단의 예를 검색할 수도 있으며, 식품의 종류와 중량에 따른 열량을 확인할 수 있는 내용과 함께 식품사진을 올려 놓았다. (Appendix).

1) 관련 학술발표 초록 입력

이미 본 연구진이 구축해 놓았던(창간호부터 2000년 상반기까지) 생리활성을 갖는 식품과 관련된 자료 Database에 2004년 상반기까지의 관련 논문 및 발표자료를 추가 삽입하여 총 6235건(영문과 국문 중복계산)의 초록이 수록되었다.

① 국내 학술지 : 42종

학 회 지 명
1. 고려인삼학회지
2. 농산물저장유통학회지
3. 당뇨병학회지
4. 대한간호학회지
5. 대한면역학회지
6. 대한암학회지
7. 대한 암예방학회지
8. 대한약리학회지
9. 대한위생과학회지
10. 대한임상건강증진학회지
11. 대한지역사회영양학회지
12. 생약학회지
13. 식품과학과 산업
14. 식품산업과 영양
15. 약학회지

16. 약제학회지
17. 응용약물학회지
18. 한국미생물생명공학회지
19. 한국생물공학회지
20. 한국생화학학회지
21. 한국식생활문화학회지
22. 한국식품영양학회지
23. 한국식품영양과학회지
24. 한국식품과학회지
25. 한국영양학회지
26. 한국동물자원과학회지
27. 한국식품위생안전성학회지
28. 한국위생과학회지
29. 한국실험동물학회지
30. 한국약용작물학회지
31. 한국조리학회지
32. 한국조리과학회지
33. 한국임상수의학회지
34. 한국농화학회지
35. 한국식품저장유통학회지
36. Agric. Chem. Biotechnol
37. Food Sci. Biotechnol
38. J. Food Sci. Nutr
39. J. Korean Soc Food Sci. Nutr
40. Journal of Biochemistry and Molecular Biology
41. Korean J. Nutr
42. Nutritional Sciences

② 학술발표

- ▷ 건강보조식품 심포지움
- ▷ 제 2회 국제 녹차 심포지움
- ▷ 제 3회 국제 녹차 심포지움
- ▷ 전통 콩 발효식품의 기능 및 생리적 활성
- ▷ Non-nutritive health factors for future foods
- ▷ Probiotic researches on lactic acid bacteria
- ▷ International symposium on tea science
- ▷ Proceeding of INFOST '96 regional symposium on Non-nutritive health factor for future Foods

- ▷ Proceeding of international symposium on soybean peptides and human health
- ▷ Functional and physiological activities of korean traditional soybean fermented food
- ▷ Progress in clinical and biological research
- ▷ Polyphenols 96
- ▷ Flavonoids and bioflavonoids, 1985
- ▷ Antinutrients and phytochemicals in food
- ▷ 식품천연보존료

2) 식품군 및 약재류의 분류 및 code

코드	분류	코드	분류
01001-	곡류 및 그 제품	11001-	어패류
02001-	감자 및 전분류	12001-	해조류
03001-	당류 및 그 제품	13001-	우유 및 유제품
04001-	두류 및 그 제품	14001-	유지류
05001-	종실류 및 그 제품	15001-	음료 및 주류
06001-	채소류	16001-	조미료류
07001-	버섯류	17001-	조리가공식품류
08001-	과실류	18001-	기타
09001-	육류 및 그 제품	19001-	약재류
10001-	난류		

3) 식품군 및 유효성분, 생리활성별로 구분하여 검색할 수 있도록 하였다.

식품의 생리활성을 다음과 같이 크게 9가지로 분류하고 각각을 다시 세분류하였다 (Appendix).

- ① 노화억제(Aging delaying activity)
 - ▷항산화성(Antioxidative activity),
 - ▷Scavenger enzyme 활성 증가(Increment of scavenger enzyme activity),
 - ▷콜레스테롤 저하(Decrement of cholesterol),
 - ▷노화관련 대사(Metabolism related to the aging)
- ② 생체방어(Body protection activity)
 - ▷간기능개선(Improvement of liver function),
 - ▷해독작용(Detoxification function),
 - ▷면역작용(Immunity function),
 - ▷항미생물활성(Antimicrobial activity),
 - ▷심장보호작용(Protective activity of the heart),
 - ▷효소활성조절 (Regulation of enzyme activity),

- ▷조혈작용(Hematogenesis),
 - ▷지질과산화 억제 (Suppression of lipid peroxidation),
 - ▷항스트레스성(Antistress activity),
 - ▷DNA 수복능력 증진(Increment of DNA regenerative ability)
- ③ 성인병예방(Chronic disease prevention activity)
- ▷지질대사조절(Regulation of lipid metabolism),
 - ▷당뇨병 조절(Regulation of diabetes melitus),
 - ▷동맥경화 조절(Regulation of arteriosclerosis),
 - ▷신경안정 작용(Nervous sedative function),
 - ▷장기능 개선 (Improvement of intestinal function)
- ④ 신체리듬조절(Regulation of metabolism)
- ▷지질대사(Metabolism of lipids),
 - ▷단백질대사 (Metabolism of proteins),
 - ▷당질대사(Metabolism of carbohydrates),
 - ▷비타민대사 (Metabolism of vitamins),
 - ▷무기질대사(Metabolism of minerals),
 - ▷골격대사(Metabolism of skeletons),
 - ▷에너지대사(Metabolism of energy),
 - ▷간보호작용(Protective activity of the liver),
 - ▷심장기능 개선(Improvement of the heart functions),
 - ▷신장기능 보호 (Protective activity of the kidney),
 - ▷대장자극활성(Stimulative activity of the large intestine),
 - ▷세포의 성장과 손상(Growth and damage of the cell),
 - ▷효소활성(Regulation of enzyme activity),
 - ▷항궤양(Antiulcer activity),
 - ▷항암효과(Anticancer activity),
 - ▷항혈전 (Antithrombosis),
 - ▷혈압강하(Reduction of blood),
 - ▷신경세포 작용(Regulation of nervous cell function pressure),
 - ▷독성 및 중독 완화(Alleviation of toxicity),
 - ▷호흡, 수면, 체온조절(Control of the breath, sleep and body temperature and poisoning)
- ⑤ 항돌연변이성(Antimutagenic activity)
- ▷발암물질 소거기능(Scavenging of the carcinogen),
 - ▷항돌연변이성(Antimutagenicity)
- ⑥ 항미생물활성(Antibacterial activity)
- ▷구충작용(Extermination of insects),
 - ▷단백질 합성 저해능(Inhibition of the protein synthesis),
 - ▷미생물 생존 억제(Inhibition of microbial survival),
 - ▷세포의 lysozyme 활성화(Activation of the cellular lysozyme),
 - ▷위장의 자극 완화제(Alleviation of the gastrointestinal stimulation),

- ▷해열작용(Defervescence activity)
- ⑦ 항산화성(Antioxidative activity)
 - ▷ 간기능 회복(Regulation of the hepatic function),
 - ▷금속이온 봉쇄능(Blocking of the metallic ion),
 - ▷노화억제(Inhibition of the aging),
 - ▷적혈구 hemolysis 감소(Reduction of the erythrocyte hemolysis),
 - ▷지질과산화 억제(Inhibition of the lipid peroxidation),
 - ▷항산화성(Regulation of antioxidative activity)
- ⑧ 항암성(Antitumor activity)
 - ▷ DNA 손상억제(Inhibition of DNA damage),
 - ▷면역활성증강효과(Increment of the immune activity),
 - ▷수명연장효과(Prolongation of life),
 - ▷암세포증식 억제(Inhibition of the cancer cell proliferation),
 - ▷장내균총 개선(Improvement of the intestinal microflora),
 - ▷충치예방(Prevention of the dental caries),
 - ▷칼슘흡수 촉진 Acceleration of the calcium absorption),
 - ▷ 혈전저해(Inhibition of the thrombosis),
 - ▷ 다제내성 조절(Regulation of the multidrug resistance)
- ⑨ 기타(Others)
 - ▷빈혈과 현기증 치료(Alleviation of anemia and dizziness),
 - ▷식이효율(Regulation of diet efficiency),
 - ▷체내대사(Regulation of internal metabolism),
 - ▷체중과 장기 무게(Regulation of body weight),
 - ▷혈액 성분 변화(Change of blood composition),
 - ▷행동 발달(Behavior development),
 - ▷기타

4) 식사요법과 식품선택에 관한 자료를 조사, 정리

임상의학 자료와 각종 식품영양학 자료를 검토하여 질병의 병태생리를 이해하고 질병의 치료와 합병증 발생 그리고 질병의 진행을 막는데 도움을 주는 식사요법과 식품선택에 관한 자료를 조사, 정리하였다(Appendix).

① 일반치료식(15종), 질환별 치료식(36종), 소아식(14종), 검사식(5종) 등을 각 주제별로 11항목으로 정리하였다. 한국인 1일 영양권장량을 기준으로 한 식사 구성을 구체적인 식단과 함께 제시하였으며, 식품교환표를 작성하여 실생활에서 이용 가능하게 하였다.

② 식품 목측량과 음식 재료 및 식사 조리 예에 관한 사진 자료는 한국인 영양권장량에 따라 식품군을 분류하였으며 식품의 양은 식품교환단위와 영양권장량 1인 1회 분량을 기준으로 이해하기 쉽게 제시하였다. 입력한 사진자료의 내용은 가공류 5가지, 감자 및 그 제품 13가지, 곡류 및 그 제품 141가지, 과일류 51가지, 난류 3가지, 당류 및 그 제품 7가지, 두류 및 그 제품 45가지, 버섯류 8가지, 병식 6가지, 어패류 80가지, 외식류 54가지, 유제품 15가지, 육류 및 그 제품 81가지, 음료 및 주류 18가지, 조미료류 16가지, 채소류 70가지, 해조류 4가지이다.

제 3 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- 1) 한국인 상용식품 중 식물성식품인 채소류, 곡류, 버섯, 해조류 중 생리활성효능이 있다고 알려진 식품을 중심으로 총 43종과 과일류 28종(껍질 및 씨 포함)에 대하여 성인병의 발병과 관련이 있을 가능성이 있는 돌연변이 억제효과, 항암효과, 항산화효과, 면역기능증진효과를 *in vitro* 검색하여 기초적이고도 매우 중요한 자료를 제공하였다.(달성도 100%)
- 2) 한국인 상용식품 중 채소류와 곡류 및 버섯, 해조류를 포함하여 54종의 식품과 45종의 과일(껍질 및 씨 포함)을 대상으로 총 flavonoid 및 polyphenol 함량을 분석하여 자료를 제공하였다.(달성도 100%)
- 3)특히 항산화효과를 검색하는 방법으로 기존의 지질과산화억제효과 및 DPPH 라디칼 소거능 이외에 MDA와 BSA를 이용한 전기영동법으로 이미 생성된 지질과산화물과 단백질과의 결합을 억제하는 효과를 알아볼 수 있는 새로운 방법을 개발하였다.(달성도 100%)
- 4)암세포에 대한 세포독성효과를 알아보기 위하여 3가지 암세포주인 SNU-638(인간위암세포주), HeLa(자궁암세포주), 유방암세포주(MCF-7)에 대한 MTT를 측정하여, 항암효과에 대한 기초자료를 제공하였다. 그러나, 과일류에 대하여는 실험하지 못하였다 (달성도 90%).
- 5) 면역기능증진효과를 검색하기 위하여 *in vitro*, *Ex vivo* 방법으로 Balb-C mouse의 비장세포 및 복강대식세포를 primary culture 하여 증식능과 비장세포에서의 IgM 항체 생성 세포수 및 cytokine(IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, IFN- γ) 분비량을 측정하였고, IFN- γ /IL-10의 비율을 구하였다(달성도 100%).
- 6)각 효능별로 우수한 식품들을 선정한 후 이들로 구성된 우수한 식품조합을 찾고자 13종에 대한 서로 다른 혼합식품을 구성하여 이들의 효능을 다시 검색함으로써 성인병을 예방할 수 있는 바람직한 한국식의 식단 구성과 기능성식품 및 건강보조식품의 개발을 위한 복합적인 자료와 근거를 제공하였다. 다만 13종 모두에 대한 *in vivo* 실험을 수행하지 못하고, 사전 실험결과를 바탕으로 선별적으로 동물실험을 수행한 점이 미흡하였다(달성도 90%).
- 7)국내에서 발간된 42종의 학술지에서 한국식품의 생리활성과 관련된 학술발표와 논문을 찾아 창간호부터 2004년도 상반기까지 총 6235건의 초록(국문과 영문 중복)을 입력, Database를 구축하였고, 식품별, 생리활성별, 유효성분별로 과학적인 근거자료를 누구나 찾아보기 쉽게 시스템을 개발하였으며, 이를 이용하여 건강한 식생활관리에 도움이 되도록하였다(달성도 100%).

제 4 장. 연구개발결과의 활용계획

- 1) 돌연변이억제효과, 항암효과, 항산화효과, 면역기능증진효과가 우수한 식품조합을 중심으로 성인병을 예방하고 국민건강을 위한 계절별 모델식단을 작성하여 국민이 쉽게 활용할 수 있도록 할 예정이다.
- 2) 솔잎은 총 polyphenol 함량이 매우 많으며, 항암작용 및 돌연변이억제효과가 뛰어나고, 생강은 항암 및 돌연변이억제효과, 항산화효과, 면역기능증진작용이 매우 뛰어나며, 매실, 살구, 망고, 딸기는 항산화효과가 뛰어나므로 이들 식품을 활용한 음료수 및 차를 개발하거나 농축하여 제품화하여 소스나 향신료로 다양하게 이용하도록 할 예정이다.
- 3) 혼합식품 중 항암효과가 우수하였던 혼합식품, 항산화효과가 우수하였던 혼합식품, 면역기능증진효과가 우수하였던 식품조합을 활용한 개인별 신체 기능에 따른 맞춤 식품선택안 및 식단을 작성 제공하는데 도움을 줄 수 있으며, 이들 혼합구성을 활용한 건강보조식품 및 음식 조리 과정에서 맛과 생리활성을 증강시키는 첨가제로 개발할 예정이다.
- 4) 본 연구에서 구축한 Database를 실제로 건강한 삶을 위한 식생활관리 측면에서 더욱 효율적으로 활용할 수 있도록 보완 수정하여 널리 보급할 예정이다.

제 5 장. 참고문헌

- Adom KK, Liu RH. Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem* 50: 6182-6187, 2002
- Aebi. Catalase in vitro. In: *Methods in Enzymology*. 105:121-126, 1984
- Andrea TB, Robert M H, Carl LK, Judith SS, and Gershwin ME. Complementary medicine : a review of immunomodulatory effects of Chinese herbal medicine. *Am J Clin Nutr*. 66: 1303. 1997.
- Annual report on the cause of death statistics. 1996. National statistical office. Republic of Korea
- Antonella S, Mario S, Maria L, Daniela M, Francesco B, and Francesco C. Flavonoids as antioxidant agents : Importance of their interaction with biomembranes. *Free Rad Bio Med* 19(4) : 481-486, 1995.
- Arai S. studies on Function Foods in Japan-state of Art Biosci. *Biotechnol. Biochem*. 60:9-15, 1996
- Augusti KT. Hypocholesterolemic effect of garlic. *Ind J Exp Biol* 15: 489-490, 1997
- Azhar S, Cao L, Reaven E. Alteration of adrenal antioxidant defence system during aging in rats. *J Clin Invest* 96:1414-1420, 1995
- Bae JT, Chang JS, Lee KR. Effect of Saecodon asparatus extract on expression of cell cycle-associated proteins in HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31(2):329-332, 2002
- Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 239:70-76, 1996
- Block G, Patterson B, Subar A. Fruit, vegetables and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 18:1-29, 1992
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable radical. *Nature* 26: 1199-1200, 1958
- Bodia A, Verma SK, Srivastava KC. Effect of garlic on platelet aggregation in humans: a study in healthy subjects and patients with coronary artery disease. *Prostaglandins Leukot Essent fatty acids* 55(3): 201-205, 1996
- Bompart GJ, Prevot DS, Bascands JL. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 23(6):501-504, 1990
- Boulain DJ. Garlic as a platelet inhibitor. *Lancet* 1: 776-777, 1981
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72: 248-254, 1976.
- Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAACS* 52: 59
- Bray TM. Nutrition Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. 16:578-581, 2000

- Bunzel M, Ralph J, Martia JM, Hatfield RD, Steinhart H. 2001. Diferulates as structural components in soluble and insoluble cereal dietary fiber. *J Sci Food Agri* 81(7): 653-660
- Carmella, S. G, Borukhova, A., Akerkar, S. A, Hecht, S. S. Analysis of human urine for pyridine-N-oxide metabolites of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, a tobacco-specific lung carcinogen. *Cancer Epidemiol.* 6 : 2. 1997.
- Carroll G, Bell M, Wang H, Chapman H and Mills J, Antagonism of IL-6 cytokine subfamily- a potential strategy for more effective therapy in rheumaoid arthritis, *Inflamm. res.* 47 : 1-7, 1998.
- Cassidy A. Physiological effects of phytoestrogens in relation to cancer and other human health risks. *Proc Sym On Physiologically Active Substances in Plant Foods.* Cambridge University Press, London, 1996
- Ceruti PA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 227:375-381, 1985
- Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh MW, Oh SH. *Standard Food Analysis.* Jigu-moonwha Sa. 381-382, 2002
- Chandra, R. K. Cell-mediated immunity in nutritional imbalance. *Federation. Proc.* 39 : 3088, 1980.
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K, Nokihara K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 49-53, 1988.
- Cho SY, Han YB, Shin KU. Screening for antioxidant activity of edible plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(1): 133-137, 2001.
- Choe M, Kim JD, Park KS, Oh SY, Lee SY. Effect od Buckwheat supplementation on blood glucose levels and blood pressure in rats. *J Kor Soc Food Nutr* 20(4):300-305, 1991
- Choi JH, Byun DS. Studies on anti-aging action of garlic, *Allium sativum* L. (1)Comparative study of garlic and ginseng components on anti-aging action. *Korean Biochem J* 19(2): 140-146, 1986
- Choi, M., Kim J. D., Park, K. S., Oh. S. Y and Lee, S. Y. Effect of buckwheat supplementation on blood glucose levels and blood pressure in rats. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 20. 1991.
- Chung S, Cho S, Lee H, Kim G, Ha T. Effect of millet powder and methanol extract on lipid synthesis-related enzymes or glucose-6-phosphatase activity in rats. Poster session in Annual meeting, *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 1998
- Colditw GA, Branch LG, Lipnick RJ, Willett WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. Increased green and yellos vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32. 1985
- Cook CY. Antioxidative effect of ethanol extract of ginger on Markerel Pike(*Cololabis Saira*) flesh. *J Korean Oil Chemist's Soc* 12(1): 43-36, 1995
- Cutler RG. Antioxidants and aging. *Am J Clin Nutr* 53(1suppl):373s-379s, 1991
- Deforge LE, Kenney JS, Jones ML, Warren JS, and Remick DG. Biphasic production of IL-8 in lipopolysaccharide(LPS) stimulated human shole blood. *J Immunol.* 148 : 2133. 1992.

- Ding AH, Nathan CF, and Stuehr DJ. Release of reactive mitogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol.* 141 : 2407. 1998.
- Farag RS, Ali MN, Taka HS. Use of some essential oils as natural preservatives for butter. *JAOCs* 68: 188, 1990
- Farag RS, Badei AZMA, Baroty GSA. Influence of thyme and clove essential oils in cotten seed oil oxidation. *JAOCs* 66: 800, 1989
- Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human plasma. *Acad Sci USA* 85:9748-9752, 1988
- Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M. Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr* 130(5): 1124-1131, 2000.
- Gomez-Sanchez A, Hermonsin I, Mayo I. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28: 4077-4080, 1990.
- Gomita Y, Ichimaru, Moriyama M, Fukamachi K, Uchikado A, Araki Y, Fukuda T, Koyama T. 1981. Behavioral and EEG effects of coixol(6-methoxy benzoxazolone), one of the components in *Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf. Folia Pharm Japan* 77: 245
- Gottfried H and Dunkley WL. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation : Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Res* 10: 555-560, 1969
- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarker of tissue damage. *Clin Chem* 41(pt 2):1819-1826, 1995
- Haase G, Dunkley WL. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation. I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *Journal of Lipid Research* 10: 555-560, 1969
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathion-S-transferase. *J Biol Chem* 249:7130-7139, 1974.
- Havsteen B. 1983. Flavonoids a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharm* 32:1141-1148, 1983
- Hayashi T, Sawa K, Kawasaki M, Arisawa M, Shimisu M, Morita M. Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J Natural Products* 51:345-348, 1988
- Hong JH, Lee TK, Yang HC. Crude gingerol extraction and its antioxidant effect. *J Korean Agric Chem Soc* 33(2): 143-146, 1990
- Huh K, Shin US, Lee SI. Effect of heat-treated ceruloplasmin on the hepatic xanthine oxidase activity and type conversion. *Arch Pharm Rec* 18(1):56-59, 1995
- Hwang EJ, Cha YU, Park MH, Lee JW, Lee SY. Cytotoxicity and chemosensitizing effect of *Camelia(Camelia japonica)* tea extraxt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33(3): 487-493, 2004
- Hwang YJ, Nam HK, Chang MJ, Noh GW, Kim SH. Effect of *Lentinus edodes* and *Pleurotus eryngii* extracts on proliferation and apoptosis in human colon cancer cell

- lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 32(2):217-222, 2003
- Hyun KW, Kim JH, Song KJ, Lee JB, Jang JH, Kim YS, Lee JS. Physiological functionality in Geumsan perilla leaves from greenhouse and field cultivation. *Korean J Food Sci Technol* 35(5):975-979, 2003
- Ikuo Saiki. A kampo Medicine "Juzen-taiho-to" Prevention of Malignant progression and metastasis of tumor cells and the mechanism of action. *Biol Pharm Bull*. 23 : 6. 2000.
- Im KJ, Lee SK, Park DK, Rhee MS, Lee JK. Inhibitory effects of garlic extracts on the nitrosation. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 43(2): 110-115, 2000.
- Jacobs DR, Marquart L, Slavin J, Kushi LH. Whole grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis. *Nutr Cancer* 30(2): 85-98, 1998
- Jeong IY, Lee JS, Oh H, Jung U, Park HR, Jo SK. Inhibitory effect of hot-water extract of *Paeonia japonica* on oxidative stress and identification of its active components. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(5): 739-744, 2003
- Jeong-Ok Kim, Yeong-Sook Kim, Jong-Ho Lee, Moo-Nam Kim, Sook-Hee Rhee, Suk-Hee Moon, Kun-Young Park. Antimutagenic Effect of the Major Volatile Compounds Identified from Mugwort(*Artemisia asiatica nakai*) Leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21(3): 308-313, 1992
- Ji WD, Jeong MS, Chung HC, Lee SJ, Chung YG. Antimicrobial activity and distilled components of garlic(*Allium Sativum* L.) and ginger(*Zingiber officinale* Roscoe). *Agricultural chemistry and biotechnology* 40(6): 514-518, 1997.
- Jo HJ, Choi MJ. Effect of 1% garlic powder on serum and liver lipid and plasma amino acid concentration in rats fed cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31(1): 98-103, 2002.
- Jung SW, Kim MK. Effect of dried powdered of Chamomile, Sage and Green tea on antioxidative capacity in 15-month-old rats. *Korean J Nutr* 36(7):699-710, 2003
- Kang JO. Antioxidative activity of Mugwort extract on human low density lipoprotein. *Kor J Soc Food Sci* 16(6):623-628, 2000
- Kang MY, Choi YH, Nam SH. 1996. Screening of antimutagenic activities from cereals and beans including rice. *Agri Chem Biotec* 39(6): 419-423
- Kendler BS. Garlic(*Allium sativum*) and onion(*Allium cepa*): A review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev Med* 16: 670-685, 1987
- Kim EH. Comparison of Dietary fiber content in Korean foods and determining methods. Ph D thesis, Korea University, 1991
- Kim EJ, Ahn MS. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J Soc Food Sci* 9(1): 37-42, 1993
- Kim ES, Kim MK. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of Persimon, Green tea and Pine needle on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32(4):337-352, 1999
- Kim HJ, Lee IS, Lee KR. Antimutagenic and anticancer effects of *Ramaria botrytis* Rick extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28(6):1321-1325, 1999
- Kim JK, Lee HS. 2000. Tyrosinase-inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. *Lor J Food Sci Tech* 32(6):1409-1413
- Kim SH, Park KY, Suh MJ, Chung HY. Effect of garlic(*Allium sativum*) on glutathione

- s-transferase activity and the level of glutathione in the mouse liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 23: 436-442, 1994
- Kim SK, Lee HJ, Kim MK. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats. *Korean J Nutr* 34(5):499-512, 2001
- Kuby. Immunology. Freeman. 3rd ed. 1997.
- Kwak CS, Lim SJ, Kim SA, Park SC, Lee MS. Antioxidative and antimutagenic effects of Korean Buckwheat, Sorghum, Millet and Job's tears. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 33(6):921-929, 2004
- Kwak HJ, Kwon YJ, Jeong PH, Kwon JH, Kim HK. Physiological activity and antioxidative effect of methanol extract from Onion (*Allium cepa* L). *Korean J Nutr* 29(2):349-355, 2000
- Lee HS. Dietary fiber intake of Korea. *J Korean Soc Food Sci Nut* 25(2): 540-548, 1997
- Lee JS, Lee MH, Chang YK, Ju JS, Son HS. Effects of Buckwheat diet on serum glucose and lipid metabolism in NIDDM. *Kor J Nutr* 28(9): 809-817, 1995
- Lee JS, Son HS, Maeng YS, Chang YK, Ju JS. Effects of Buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 27(8): 819-827. 1994
- Lee JW, Shin YJ, Cho DJ, Lim HJ, Choi WE, Lee YK. Antitumor and antimutagenic effect of proteinpolysaccharides from *Polyporus umbellatus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33(3): 475-479, 2004
- Lee KI, Rhee SK, Park KY, Kim JO. 1992. Antimutagenic compound identified from perilla leaf. *J Korean Soc Food Nutr* 21(3): 302-307, 1992
- Lee MS, Lim SJ, Kim SA, Woo MK, Kwak CS, Park SC. Antimutagenic and antioxidative effects of ethanol extracts from Garlic, Ginger, Green onion and Red pepper. *Kor J Gerontology* 13(1):8-16, 2003
- Lee YC, Hwang KH, Han DH, Kim SD. Compositions of *Opuntia ficus-medica*. *Korean J Food Sci Technol* 29(5) : 847-853, 1997
- Lloyd BJ, Siebenmorgen TJ, Beers KW. Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chem* 77: 551-555, 2000
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Rndall RJ. Protein mesurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275, 1951
- Lrson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 27: 969, 1988
- Maillard MN, Berset C. Evolution of antioxidant activity during kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *J Agri Food Chem* 43: 1789-1793, 1995
- Maron DM and Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res* 113:173-180, 1983
- Mattson MP. Mother's legacy: mitochondrial DNA mutations and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 20:373-280, 1997
- Miller DM, Aust SD. Studies of ascorbate-dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 271:113-120, 1989
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Miller A. A novel method for

- measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84:407-412, 1993
- Misra HP and Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 247: 3170-3175, 1972.
- Mo JQ, Hom DG, Anderson JK. Decreases in protective enzymes correlates with increased oxidative damage in the aging mouse brain. *Mech Aging Dev* 81:73-80, 1995
- Monnier VM(1990) Nonenzymatic glycosylation, the Maillard reaction and aging process, *J. Gerontol.*, 45(4): B105-111.
- Moon SH, Park KY. Antimutagenic effects of boiled water extract and tannin from persimon leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 24:880-886, 1995
- Mun SI, Ruv HS, Lee HJ, Choi JS.(1994) Further screening for antioxidant activity and vegetable plants and its active principles from *Zanthoxylum schinifolium*. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 466-471.
- Munoz, C., Schlesinger, L. Interaction between cytokine, nutrition and infection, *Nutr. Res.*, 15 : 1815, 1995.
- Mutsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. Factors modulating mutagenicity in microbial test, In "Short-term test, systems for detecting carcinogens". Norphth, K. H. and Garner, R. C.(eds.), Springer, Berlin, p. 273-280, 1980
- Numata M, Yamamoto A, Moribayash A, Yamada H. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix Lachryam-Jobi*. *Planta Medicine* 60: 356-358, 1994
- Oh SI, Lee MS. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(8): 1344- 1350, 2003
- Otamari T, Sjedahl R. Increased lipid peroxidation in malignant tissues of patients with colorectal cancer. *Cancer* 64: 422-425, 1989
- Otsuka H, Hirai Y, Nagao T, Yamasaki K. Anti-inflammatory activity of benzoxanoids from roots of *Coix Lachryam-Jobi var. ma-yuen*. *J Natural Products* 51: 74-79, 1988
- Parfitt VJ, Rubba P, Bolton C, Marotta G, Hartog M, Mancini M. A comparison of antioxidant status and free radical peroxidation of plasma lipoproteins in healthy young persons from Naples and Bristol. *Eur Heart J* 15:871-876, 1994
- Park J, Yang M, Jun HS, Lee JH, Bae HK, Park T. Effect of raw brown rice and Job's Tear supplemented diet on serum and hepatic lipid concentrations, antioxidative system and immune function of rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(2):197-206, 2003
- Park JC, Ha JO, Park KY. Antimutagenic effect of flavonoids isolated from *Oenanthe javanica*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25:588-592, 1996
- Park KY, Baek KA, Rhee SH, Cheigh HS. Antimutagenic effect of Kimchi. *Foods Biotech* 4: 41, 1995.
- Park KY, Cho EJ, Rhee SH. Increased antimutagenic and anticancer activities of Chinese cabbage Kimchi by changing and levels of sub-ingredient. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27(4):625-632, 1998

- Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in Salmonella assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149
- Park Y, Lee YS, Suzuki H. 1998. Effect of Coix on plasma cholesterol and lipid metabolism in rats. *Kor J Nutr* 21(2): 88-98, 1998
- Park YH. Effect of polyamine on modification of biomodics by aldehydes. Seoul National University. Ph. D in Medicine, thesis. 2000
- Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 63: 1035-1042, 2000
- Ra KS, Chung SH, Suh HJ, Son JY, Lee HK. Inhibitor of xanthine oxidase from onion skin. *Korean J Food Sci Technol* 30(3):697-701, 1998
- Ramarathanam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S, Ohshima K. Chemical studies on novel rice hull antioxidants. *J Agric Food Chem* 36: 732-737, 1988
- Ramunans. Z., Ian S. Z., Robert. H.B., C. Max L., and Patricia. J. M., In vivo effects of chronic treatment with [met5]-enkephalin on hematological values and natural killer cell activity in athymic mice. *Life Sci.* 66(9) : 829-834. 2000.
- Report on 2001 National Health and Nutrition Survey. Ministry of Health and Welfare, 2002.
- Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, Spiegleman D, Stampfer MS, Willet WC. 1996. Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA* 275: 447-457, 1996
- RLee SJ, Choi JH. Effects of green tea catechins on the superoxide dismutase, glutathione peroxidase and xanthine oxidase activities of kidney in diabetic rats. *Korean J Nutr* 34(7):734-740, 2001.
- Roitt I., Brostoff J., and Male D. Immunology, 4th ed., Mosby, 1996.
- Rosa A, Deiana M, Casu V, Paccagnini S, Appendino G, Bellerio M, Dessi MA. Antioxidant activity of capsinoids. *J Agric Food Chem* 50(25): 7396-7401, 2002.
- Sa YS, Kim KA, Choi HS. Purification and characterization of anti-coagulant activity fraction from Persimon stem. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(8): 1323-1327, 2003
- Saija A, Scalese M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology & Medicine* 19(4): 481-486, 1995.
- Senter SD, Horvat RJ, Forbus WR. 1983. Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. *J Food Sci* 48: 798-803, 1983
- Sheo HJ. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 18(1): 94-99, 1999
- Shin DK, Park CH, Lee YJ, Lee YO. The effect of Job's tear diet on change of body lipid and tissue in rat. *Kor J Oil Chem* 7(2): 83-90, 1990
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299:152-178, 1999
- Sohal RS, Sohal BH, Brunk UT. Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech Aging Dev* 53:217-227. 1990
- Sohn HE, Lee JY, Kim DC, Hwang WI. Enhancement of anticancer activity by

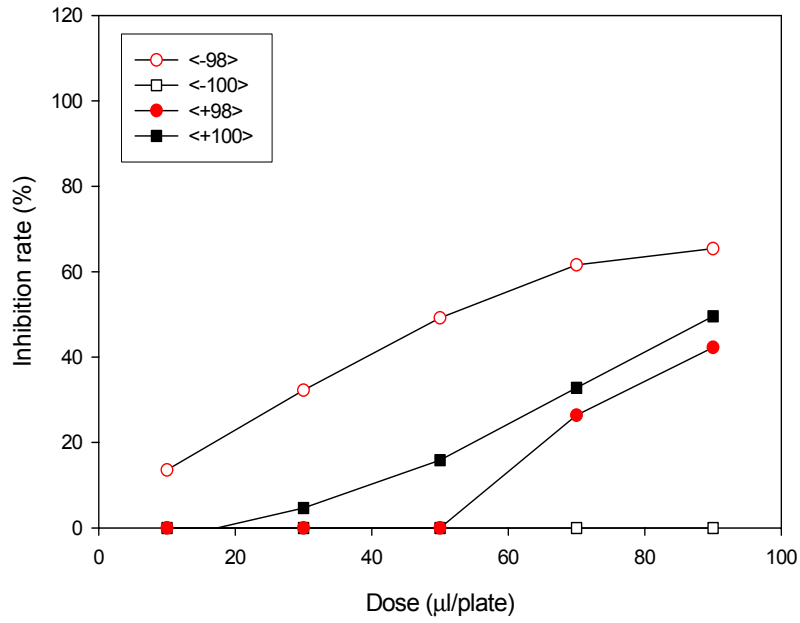
- combination of garlic(*Allium Sativum*) extract and Vitamin C. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30(2): 372-376, 2001.
- Son HS, Hwang WI. A study on the cytotoxic activity of garlic(*Allium Sativum*) extract against cancer cells. *Korean J Nutrition* 23: 135-147, 1990.
- Sosulski F, Krygier K, Hogge L. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J Agric food Chem* 30: 337-340, 1982
- Stirpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase(type O). *J Bio Chem* 244(14):3855-3863, 1969
- Tada M, Matsumoto R, Yamaguchi H, Chiba K. Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var. crisp(Thunb.). *Biosci Biotech Biochem* 60(8): 1093-1095, 1996
- Takahashi M, Konno C, Hikino H. Isolation and hypoglycemic activity of *Coixans* A, B, C, glycans of *Coix lachyma-jobi* L. var. *ma-yuen* seeds. *Planta Medicine* 52: 64-65, 1986
- Tappel AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxides. *In methods in Enzymology* 52:506-513, 1978
- Tappel AL. Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed Proc* 32:1870-1974, 1973
- Terada LS, Leff A, Repine JE. Measurement of xanthine oxidase in biological tissues. In: *Methods in enzymology*. vol 186, Academic Press, pp 651-652, 1990
- Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, ALnaqeeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger(*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent fatty acids* 67(6): 475-478, 2002.
- Toshiaki M, Takahiko O, Eri M, and Gisho H. Inhibitory effect of perilla frutescens and its phenolic constituents on cultured murine mesangial cell proliferation. *Planta Medica*. 64 : 541. 1998.
- Watanabe M. Catechines as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. *J Agric Food Chem* 46: 839-845, 1998
- Wattenberg LW. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 45:1-8, 1985
- Wei Z, Lau BHS. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutr Res* 18: 61-70, 1998.
- WHO. 1996. 1990 World health statistics. Annual
- Yokozawa T, Fujii H, Kosuna K, Nonaka G. Effects of Buckwheat in a renal Ischemia-Reperfusion Model. *Biosci Biotechnol Biochem* 65(2): 396-400, 2001
- Yu JH, Cho CM, Oh DH. Antioxidant properties of red pepper peel extracts on margarine. *Korean J Appl Microbiol Bioeng* 9: 21-27, 1981.
- Zielinski H, Kozłowska H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J Agric Food Chem* 48: 2008-2016, 2000
- 고무석, 신길만, 이명렬. 톳 에탄올 추출물이 알코올을 투여한 항산화효소활성에 미치는 영향.
- 김성혜. 속단 에탄올 추출물이 마우스 비장세포증식능과 복강 대식세포에 의한 cytokine 분비능에 미치는 영향. 숙명여자대학교 석사학위논문. 2000.

- 김재영, 오세원, 고진복. 고들빼기가 흰쥐의 성장률, 단백질 및 지질농도에 미치는 영향. J Korean Soc Food Sci Nutr. 27(3) : 525-530. 1998.
- 김주희, 김미경. 깻잎, 쑥, 참취의 건분 및 에탄올 추출물이 흰쥐의 지방대사와 항산화능에 미치는 영향. 한국영양학회지 32(5): 540-551, 1999
- 김태영. B-16 흑색종세포와 Mycoplasma pneumoniae 항원이 마우스 정상세포의 IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α 생성에 미치는 영향. 고신대학교 박사학위논문, 2000.
- 김한수, 김군자 ; 톳이 식이성 고지혈증 흰쥐의 혈청 지질성분에 미치는 영향. J. Korean Soc. Food Sci, Nutr. 27(4). 178-723. 1998.
- 김혜경. 메밀 껍질의 항미생물 활성물질 탐색에 관한 연구. 전남대학교 석사학위논문. 2000.
- 노현정. 돌미나리로부터 ACE 저해제의 분리. 정제 및 특성 규명. 충남대학교 석사학위논문. 2001.
- 문숙희, 박건영. 감잎 열수추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과. 한국영양식량학회지 24(6): 880-886, 1995
- 문은이, 박승용, 박은규, 조성기, 윤연숙. 당귀 추출물이 면역계에 미치는 영향. Kor J of Immunol. 13(1) : 71-77. 1991.
- 박건영, 이경임, 이숙희. 녹황색 채소류의 돌연변이유발 억제 및 AZ-521 위암세포의 성장 저해효과. 한국영양식량학회지 21(2): 149-153 , 1992
- 박용훈. 알데히드성 물질이 초래하는 생체분자의 변형에 대한 폴리아민의 영향. 서울대학교 의학박사 학위논문, 2000
- 박종철, 하정옥, 박건영. 미나리에서 분리한 플라보노이드 화합물의 아플라톡신 B₁에 대한 항돌연변이 효과. 한국식품영양과학회지 25(4): 588-592, 1996
- 염정열, 은재순, 사물당이 임신말기 생쥐의 면역능에 미치는 영향. 생약 학회지. 31(2) : 142-148. 2000.
- 이경임, 이숙희, 김정옥, 정혜영, 박건영. 들깻잎 추출물의 항돌연변이 및 항산화 효과. 한국 영양식량학회지 22(2): 175-180, 1993
- 이상일, 박용수, 조수열. 미나리추출물이 사염화탄소에 의한 마우스 간손상에 미치는 영향. 한국영양식량학회지 22(4): 392-397, 1993
- 이성태, 정영란, 하미혜, 김성호, 변명우, 조성기. 일부 한약재의 생쥐 대식세포 일산화질소와 TNF- α 생산유도. J Kor Soc Food Sci Nutr. 29 : 342. 2000.
- 이정화. Inhibitory effects of Godulbaegi extracts on the proliferation of human cancer cells. 부산대학교 석사학위논문. 2002.
- 조세연, 한용봉, 신국현. 식용식물의 항산화효과 검색. 한국식품영양과학회지 30(1): 133-137, 2001
- 최승은. 솔잎추출물이 마우스 비장세포 증식능과 복강 대식세포의 cytokine 분비능에 미치는 영향. 숙명여자대학교 석사학위 논문. 2000.
- 최윤희. 돌미나리의 뇌신경세포 보호활성 flavonoids. 서울대학교 석사학위논문. 2002.

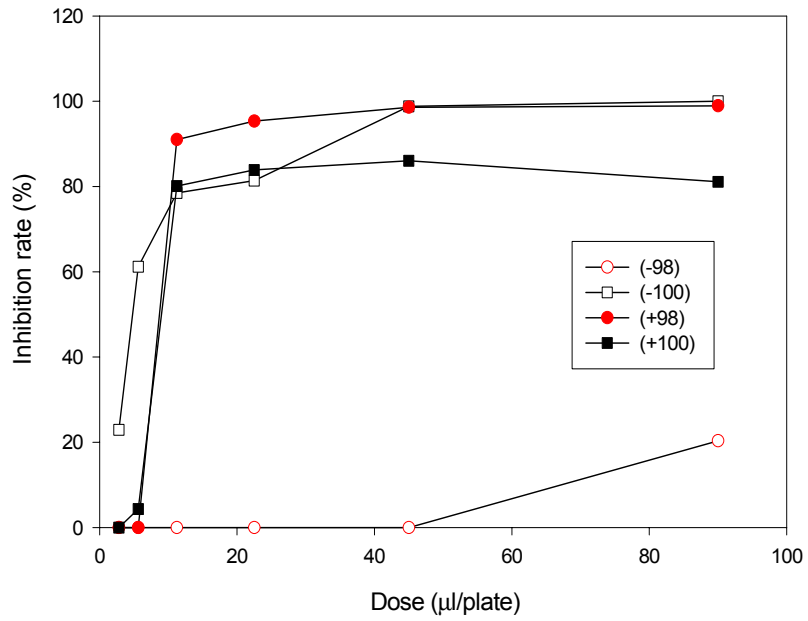
Appendix

Appendix 1. Antimutagenic effect of ethanol extract from some Korean foods.

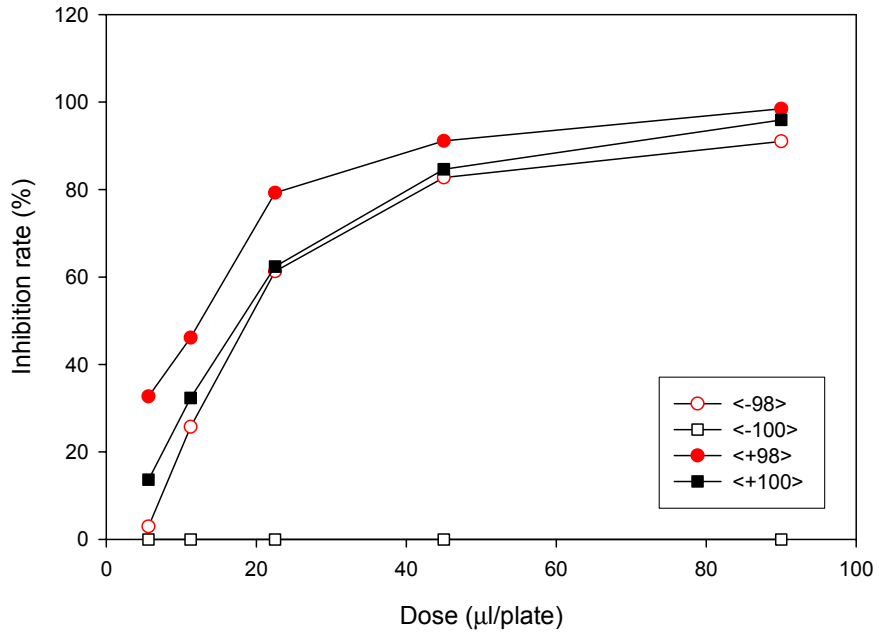
3-고들빼기



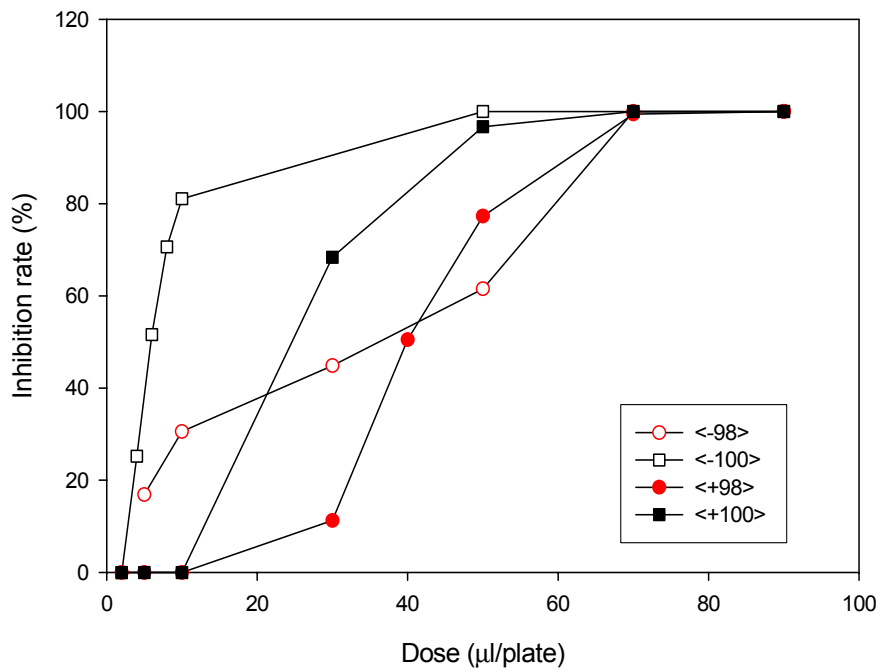
5-기장



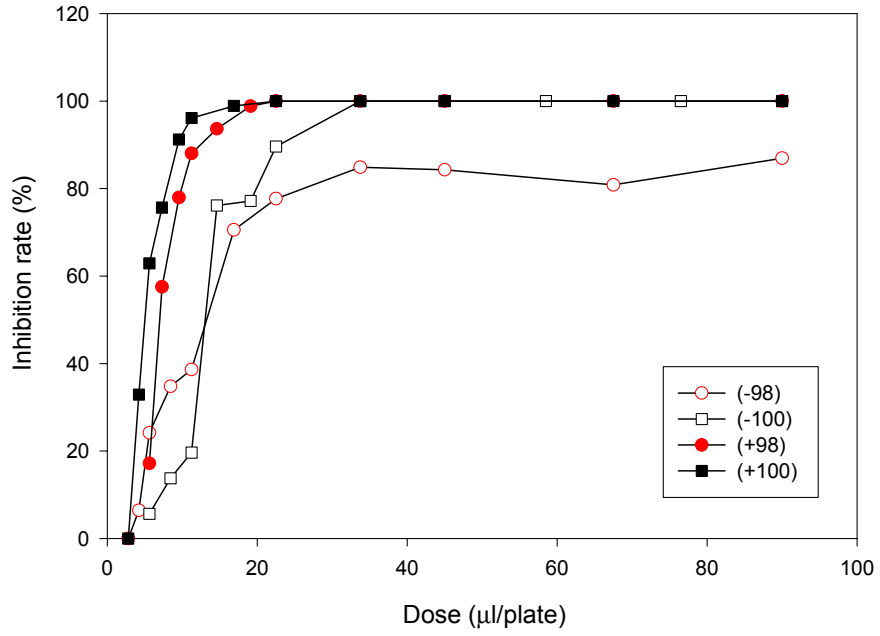
6-젯잎



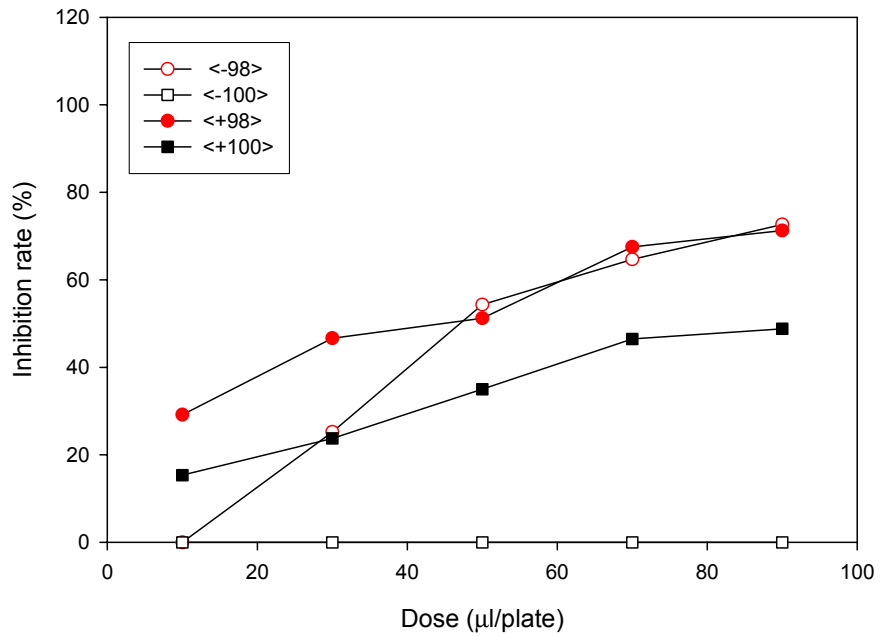
20-생강



21-솔잎

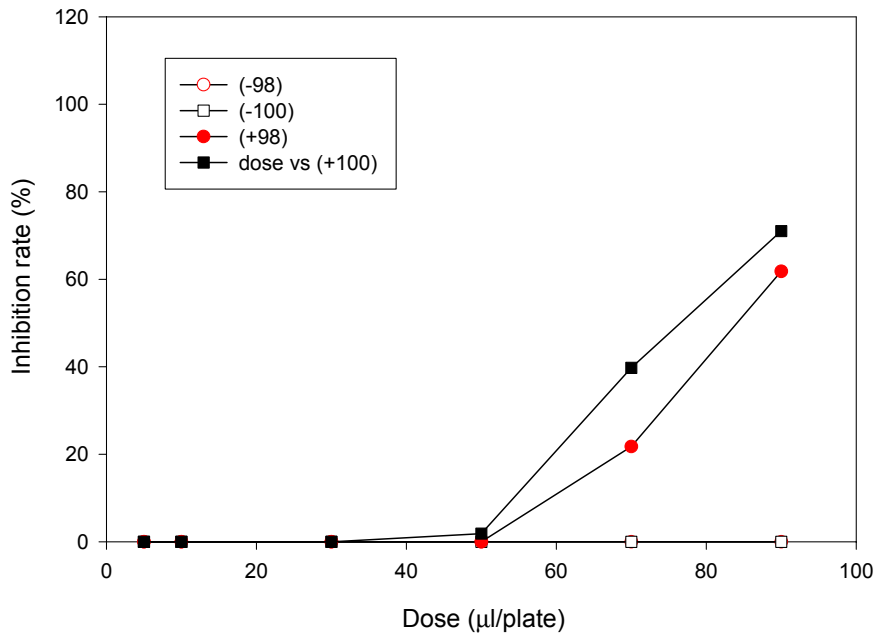


32-취나물

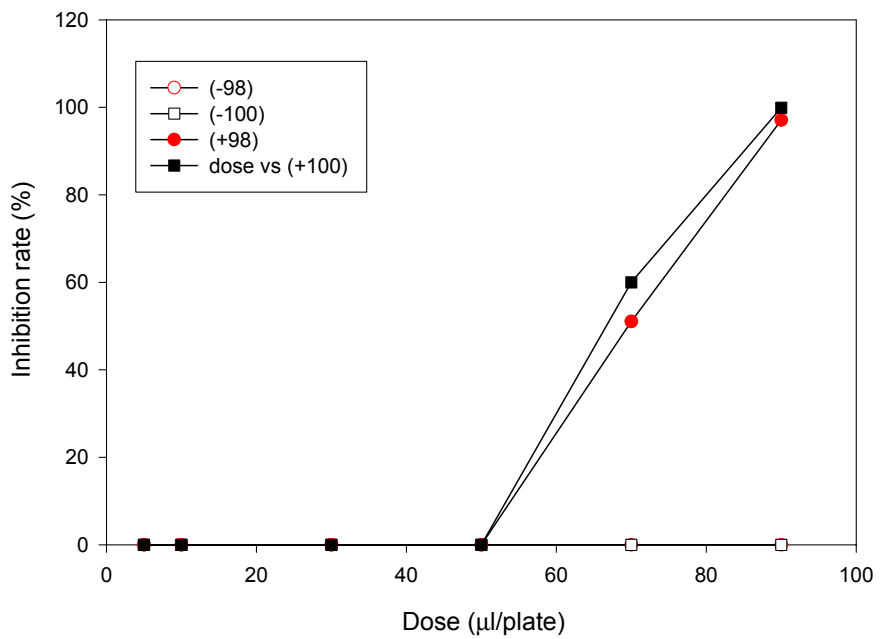


Appendix 2. Antimutagenic effect of ethanol extract from some fruits.

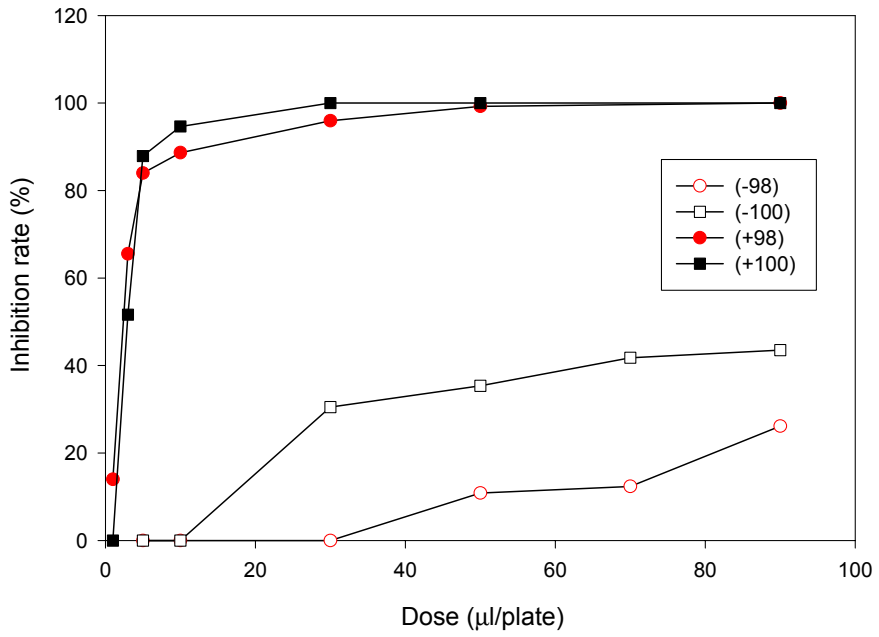
Fruit-1-딸기



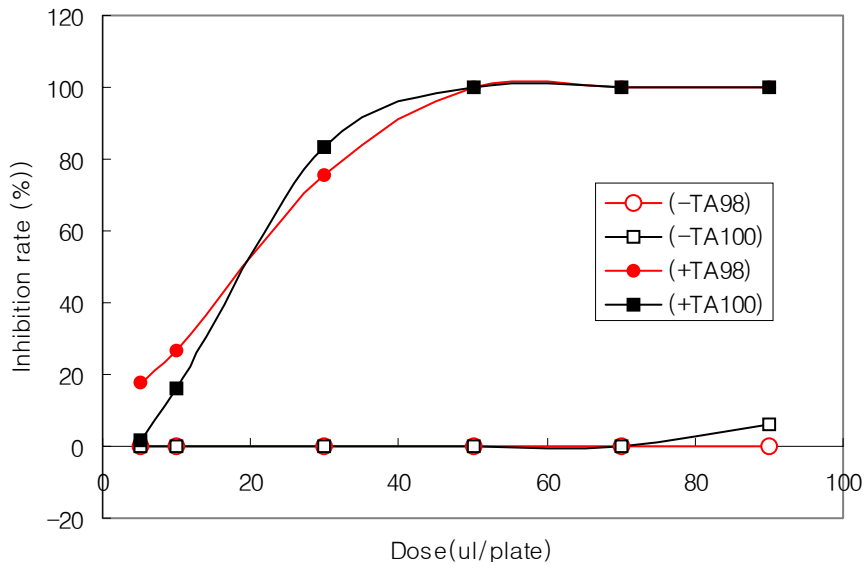
Fruit-2-망고



Fruit-3-망고피

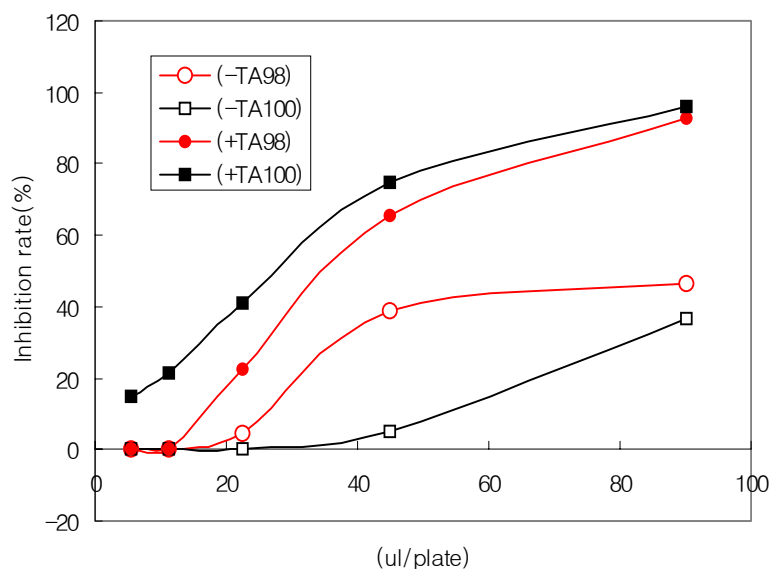


Fruit-22-매실

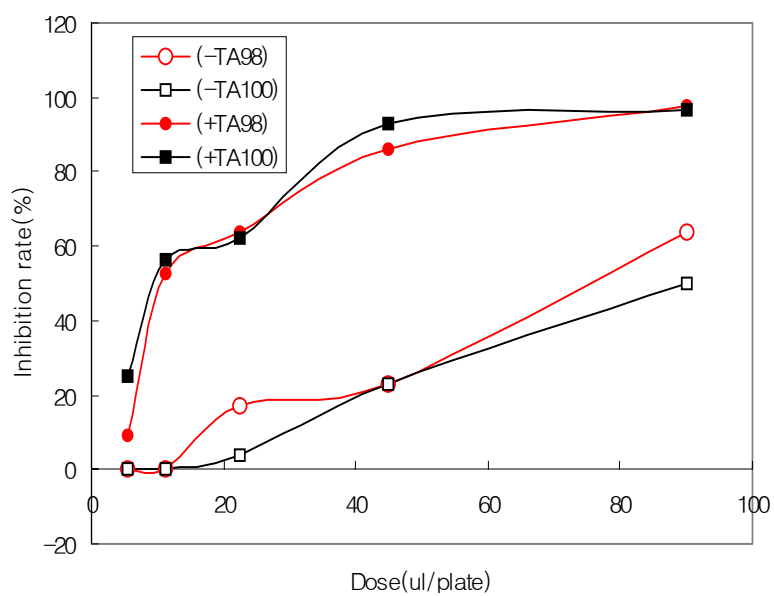


Appendix 3. Antimutagenic effect of Korean food mixtures.

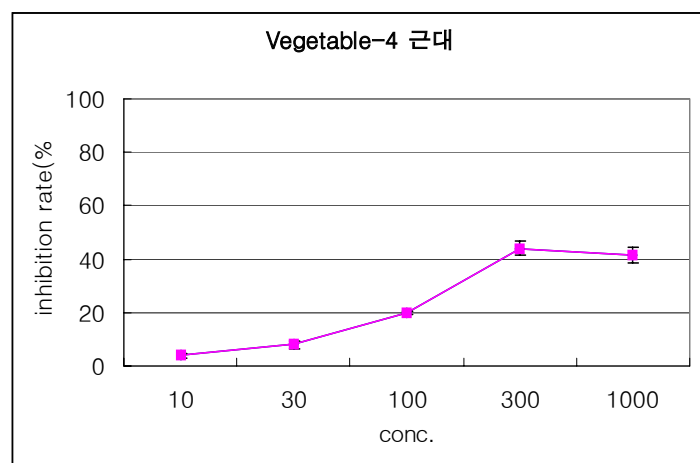
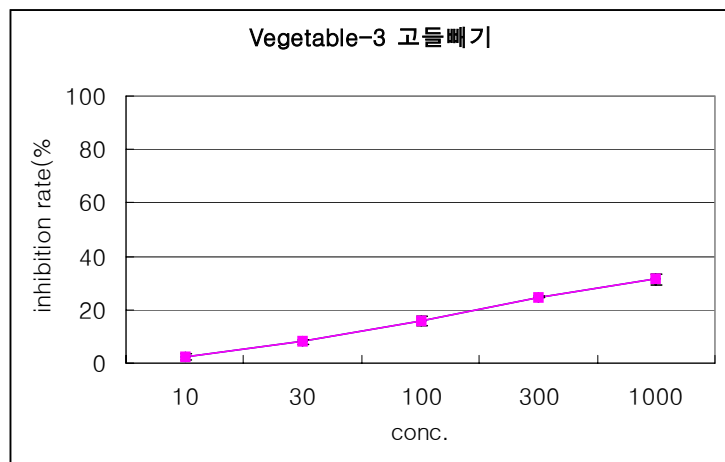
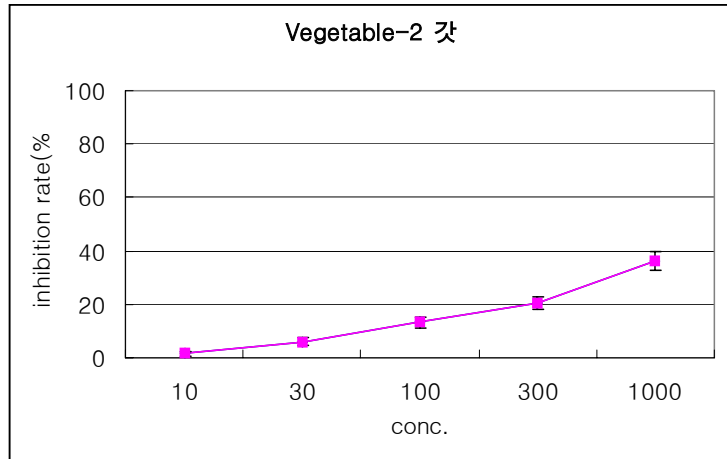
Mix 10A

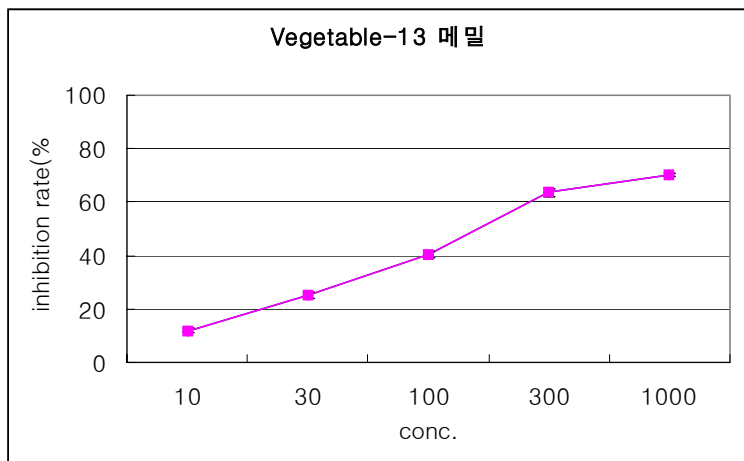
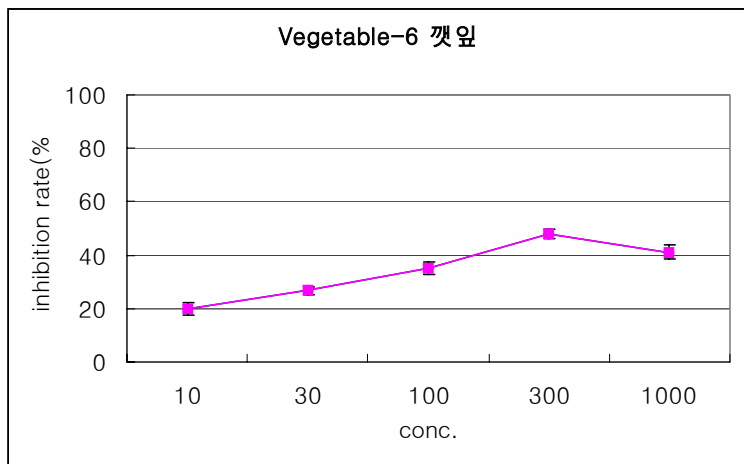
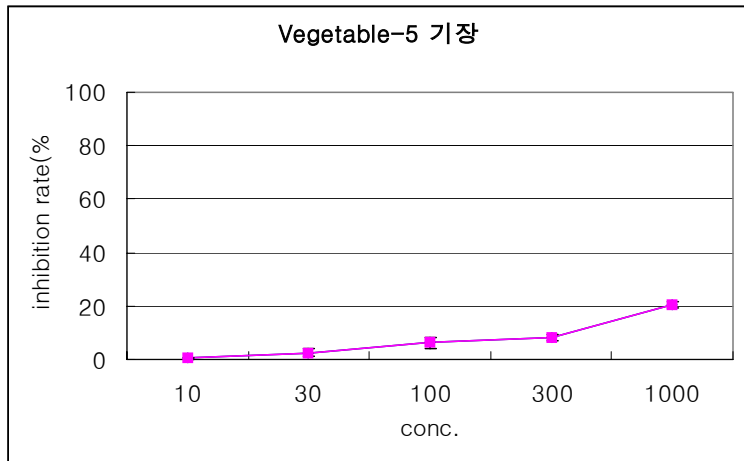


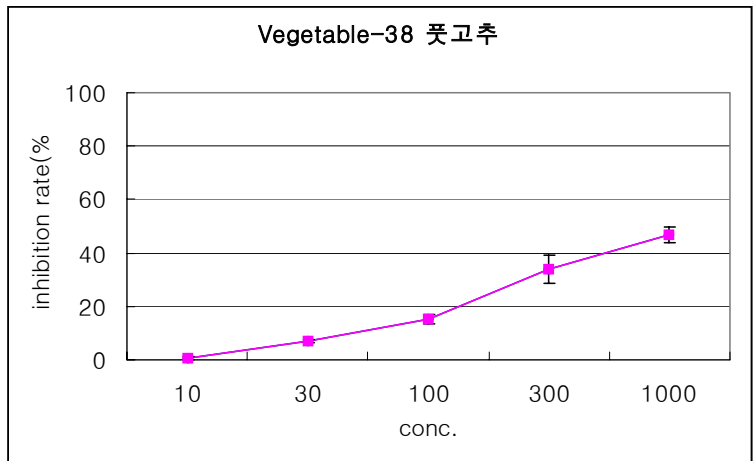
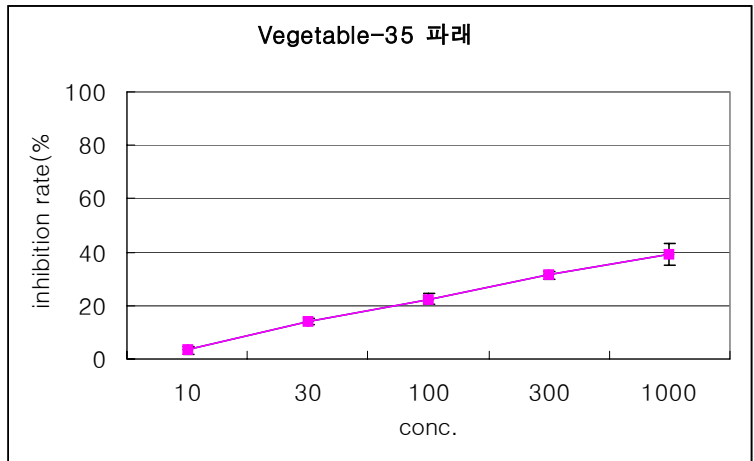
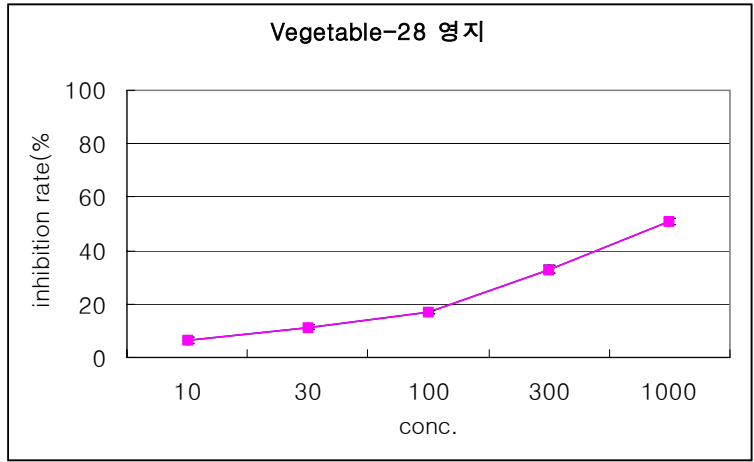
Mix 10B



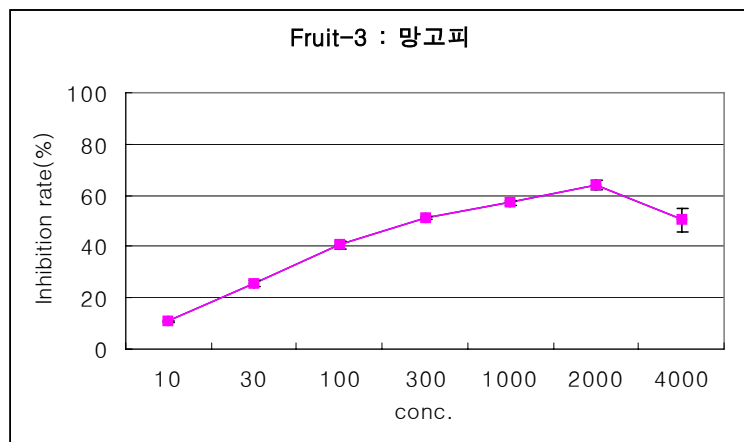
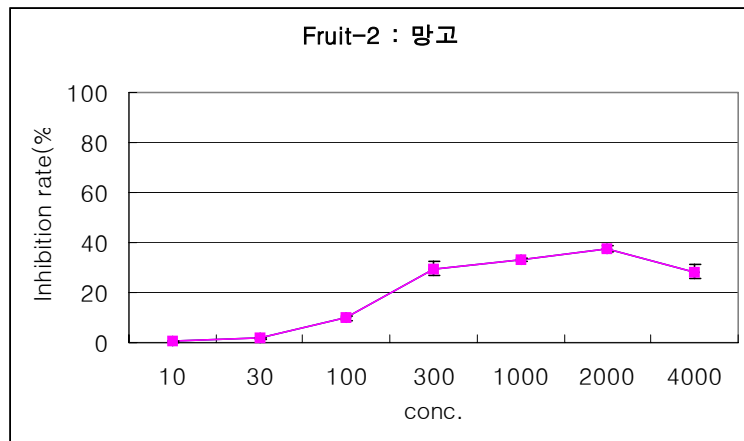
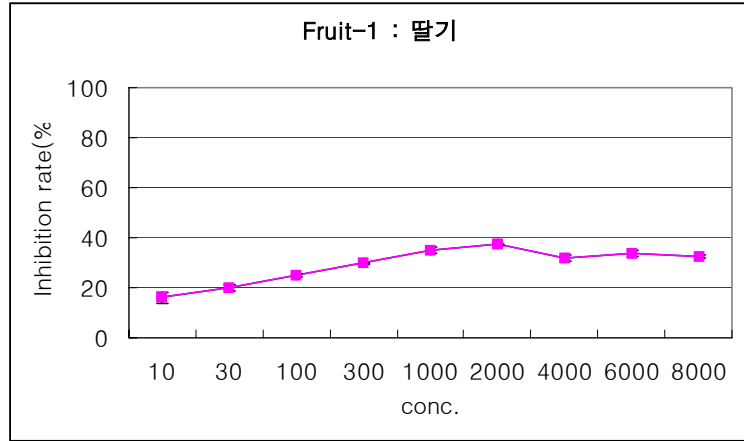
Appendix 4. Lipid peroxidation inhibition effect of ethanol fraction from Korean vegetables, cereals, mushrooms and seaweeds.



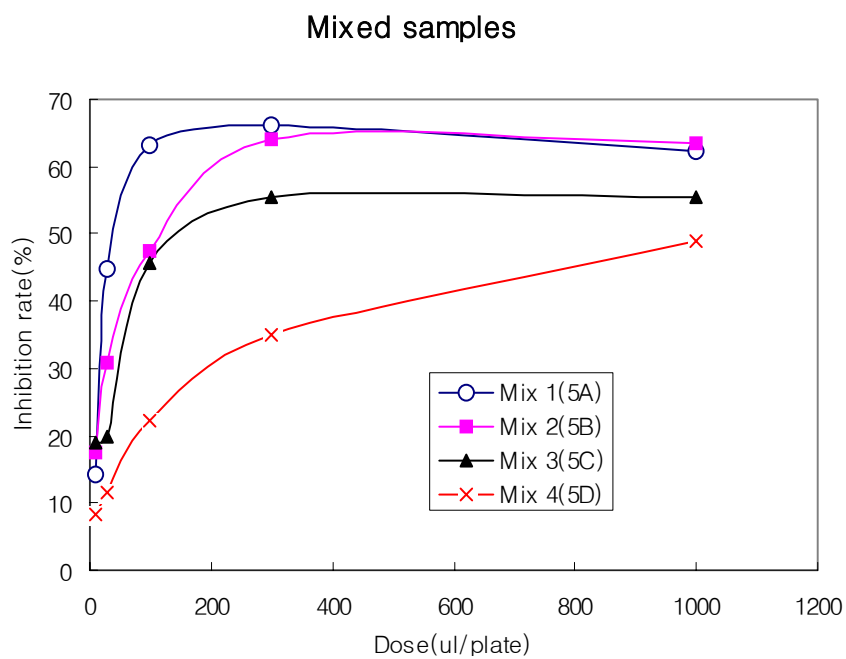
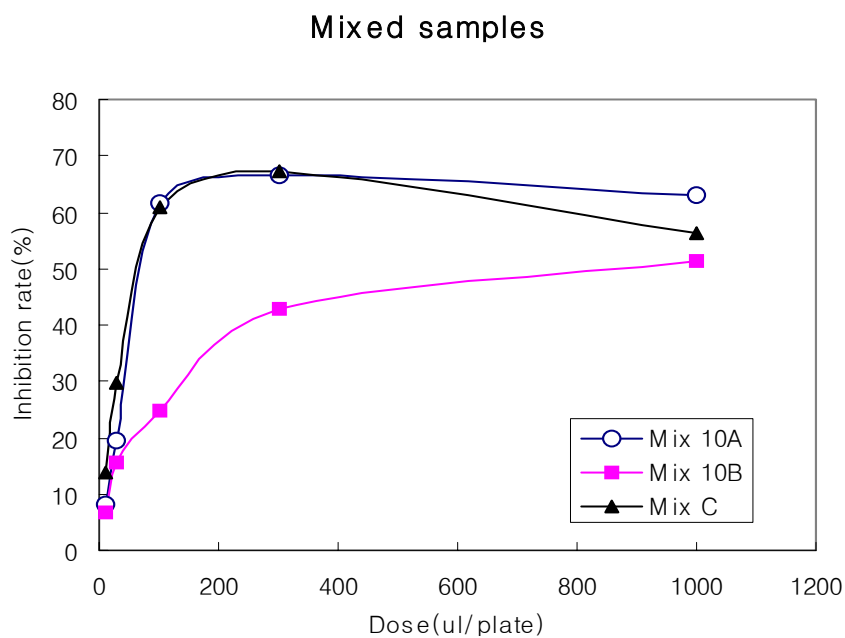




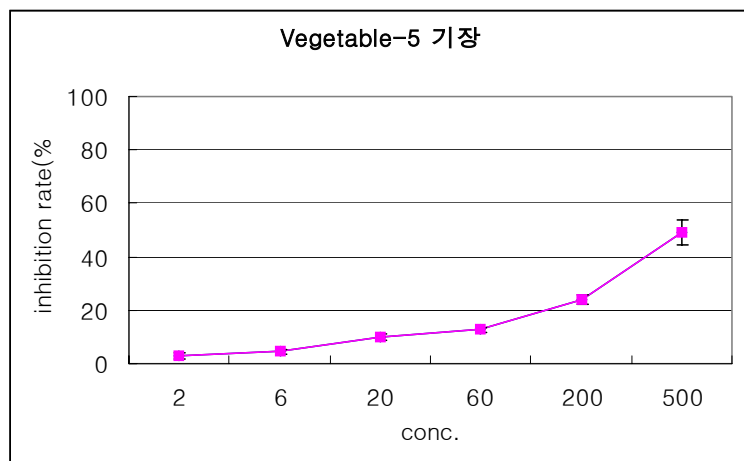
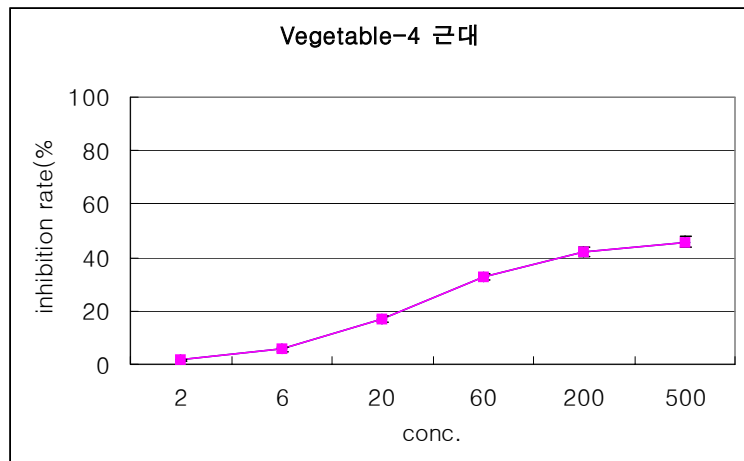
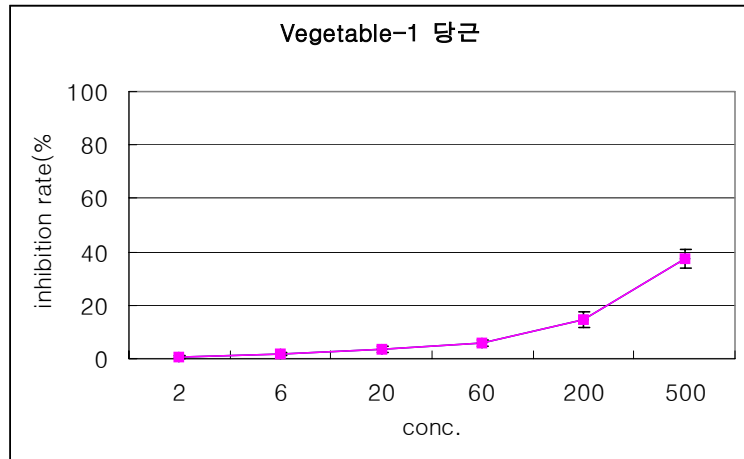
Appendix 5. Lipid peroxidation prevention effect of ethanol fraction from fruits.

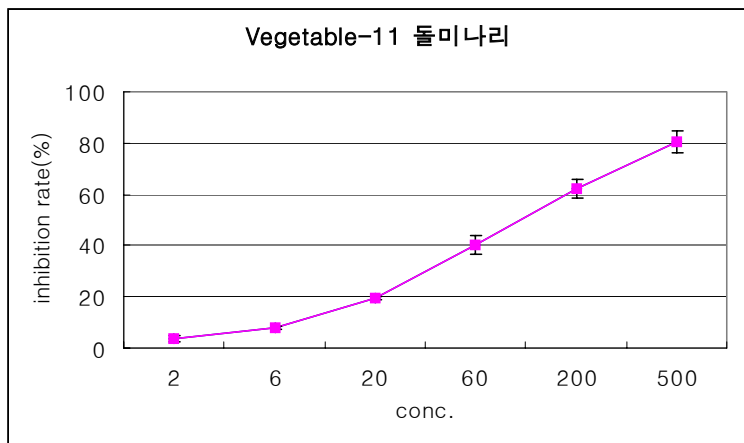
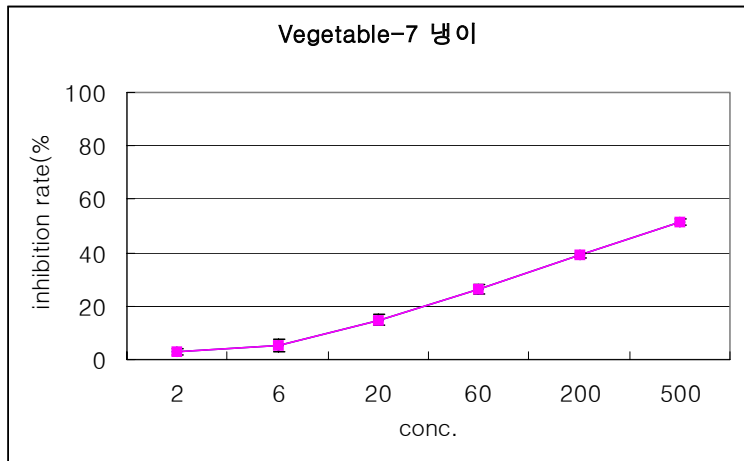
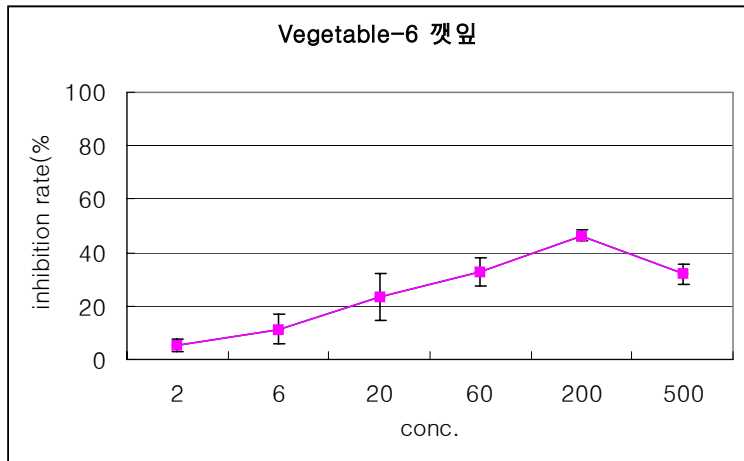


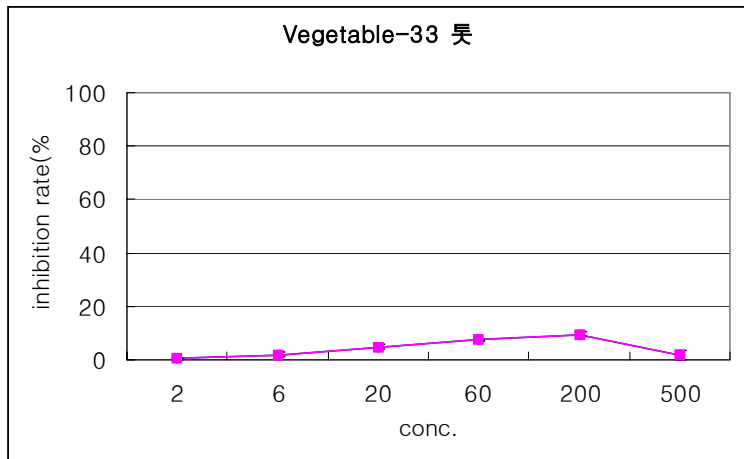
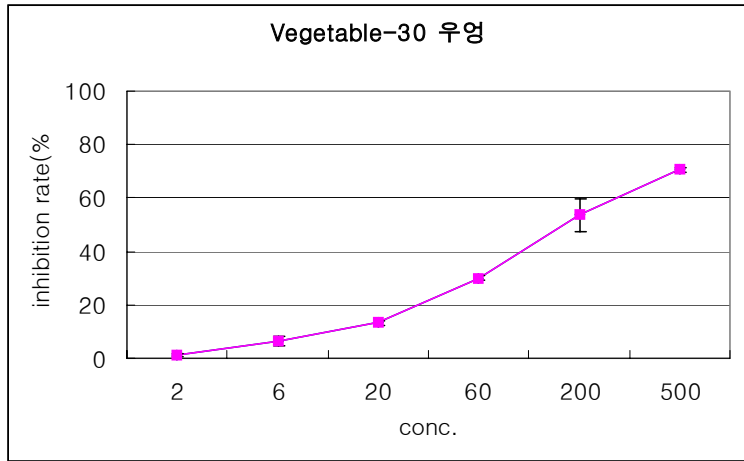
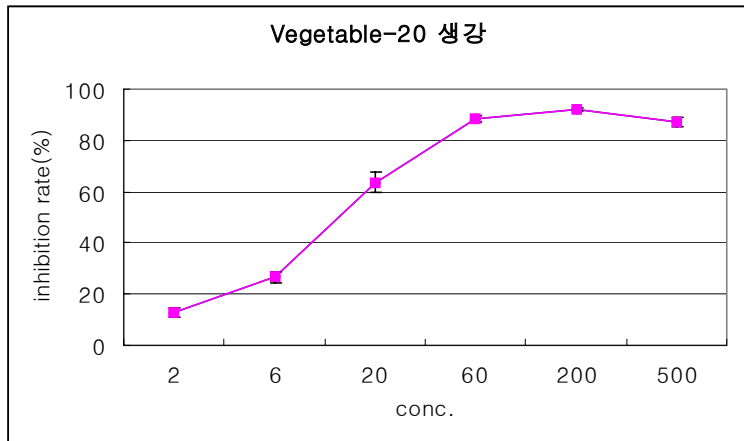
Appendix 6. Lipid peroxidation inhibition effect of ethanol fraction of Mixed food samples.



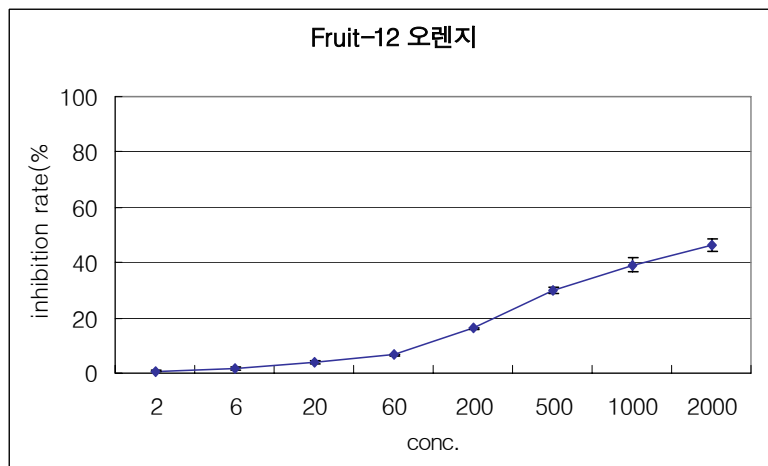
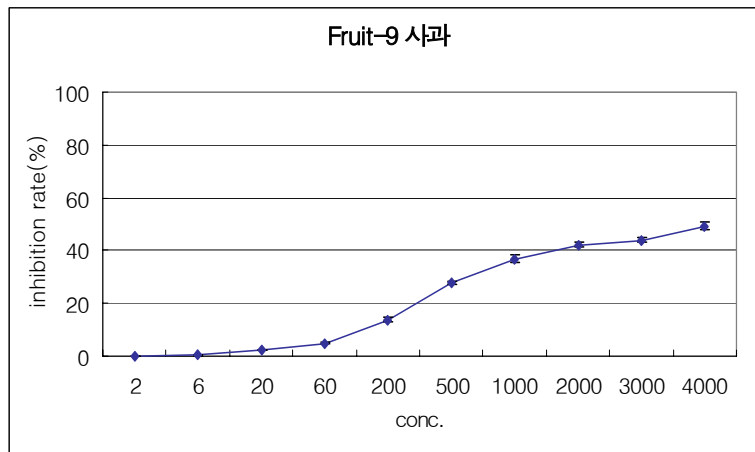
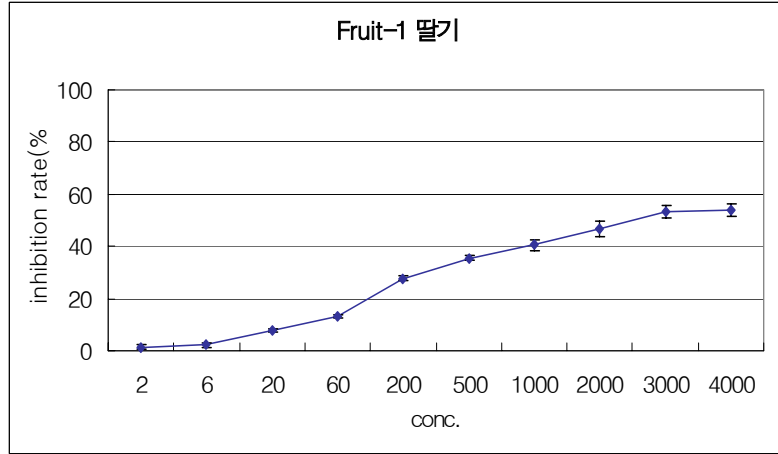
Appendix 7. DPPH radical scavenging effect of ethanol fraction of Korean vegetable, cereals, mushrooms and seaweeds.

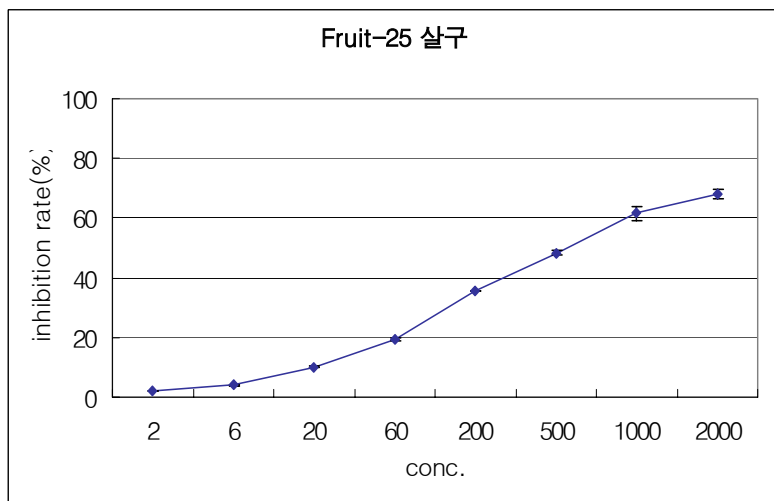
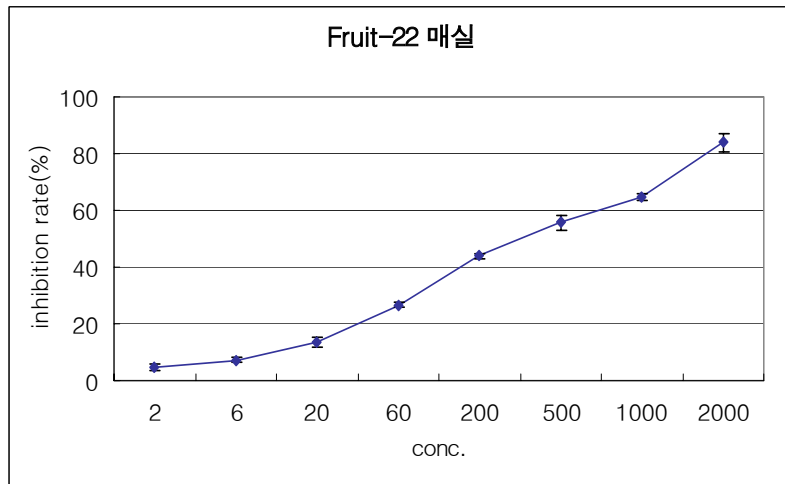
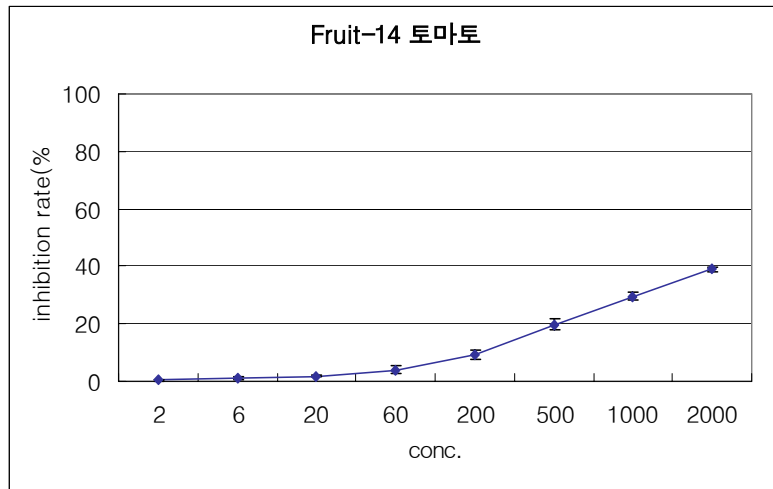




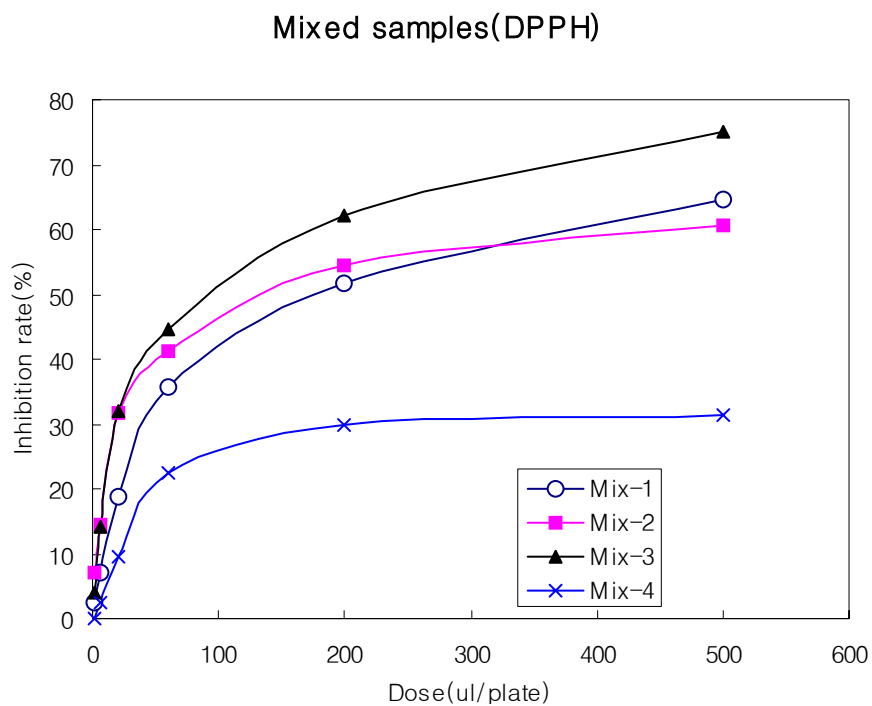
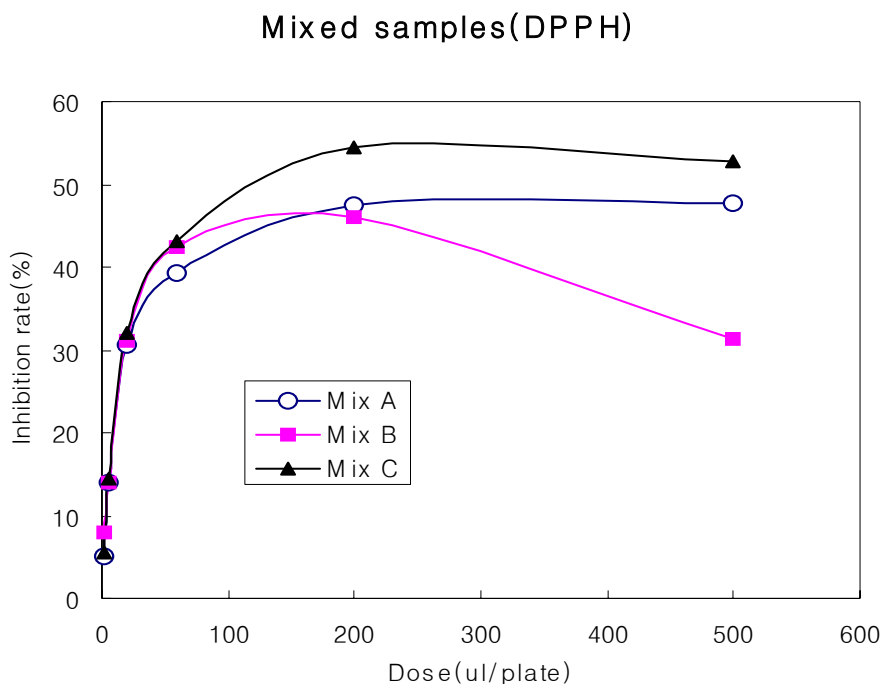


Appendix 8. DPPH radical scaveing effect of ethanol fraction of fruit



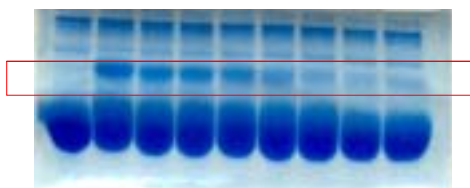


Appendix 9. DPPH radical scavenging effect of ethanol fraction of Korean food mixtures.

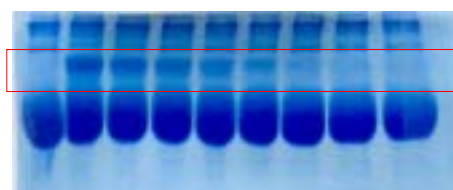


Appendix 10 . Inhibition effect of 80% ethanol extract from Korean foods on
MDA & BSA conjugation reaction

	conc. (mg/assay)	Inhibition rate(%)	IC ₅₀	Dry Sample w.t.(g)	Sample w.t.(g)
1-당근	2.5	12.10±3.86	54.06	0.08	0.68
	5.0	14.43±3.78			
	10	20.68±1.38			
	20	34.10±0.61			
	40	47.20±0.84			
	80	55.48±4.53			
	100	61.13±5.43			

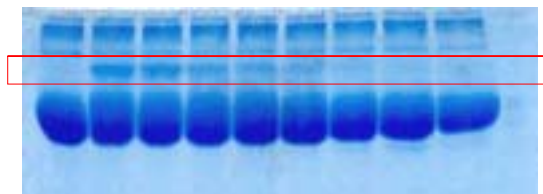


	conc. (mg/assay)	Inhibition rate(%)	IC ₅₀	Dry Sample w.t.(g)	Sample w.t.(g)
2-갓	2.5	12.24±1.20	28.50	0.10	1.38
	5.0	17.43±3.09			
	10	36.39±1.89			
	20	45.49±1.60			
	40	53.35±1.57			
	80	59.99±2.45			
	100	77.20±1.05			

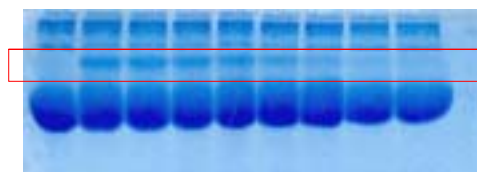


Appendix 11. Inhibition effect of 80% ethanol extract from Korean food mixtures on MDA & BSA conjugation reaction

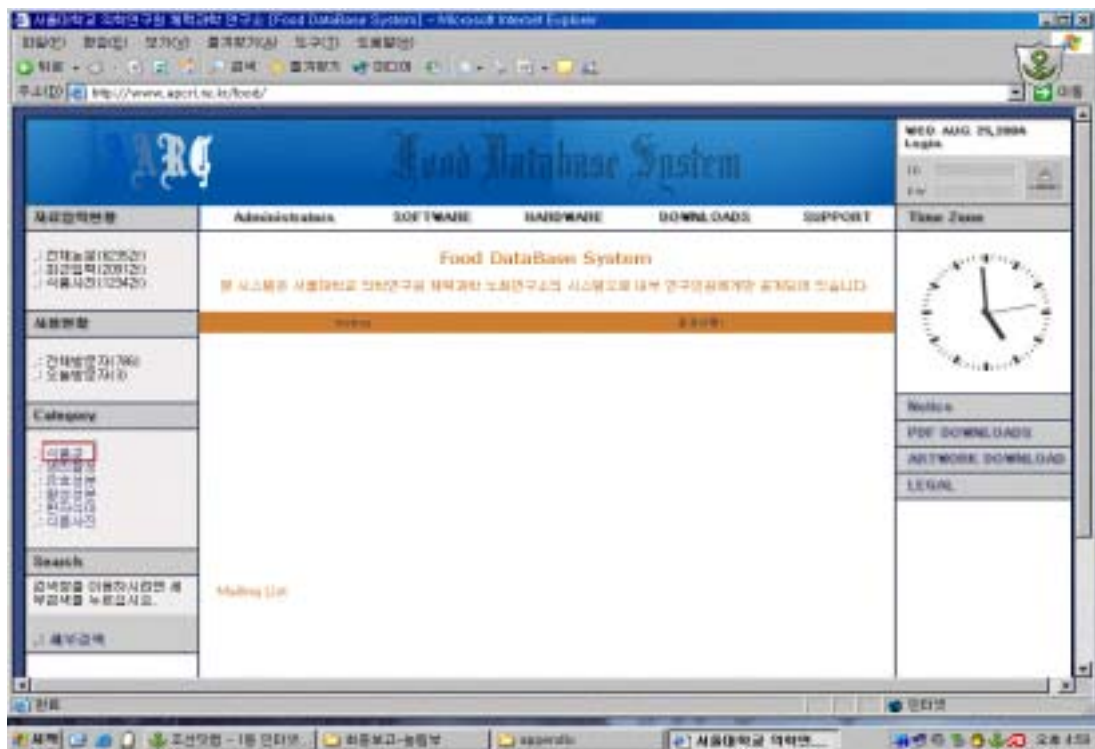
	conc. (mg/assay)	Inhibition rate(%)			Mean±S.E.
		1차	2차	3차	
Mix 10A	2.5	3.41	6.73	6.25	5.46±1.04
	5	8.11	15.85	15.08	13.01±2.46
	10	35.07	35.00	39.30	36.46±1.42
	20	40.28	43.94	44.08	42.77±1.24
	40	44.69	51.09	49.60	48.46±1.93
	80	49.65	52.61	49.18	50.48±1.07
	100	55.26	55.35	55.42	55.34±0.05
IC ₅₀	53.79				
Dry Sample w.t.(g)	0.27				
Sample w.t.(g)					

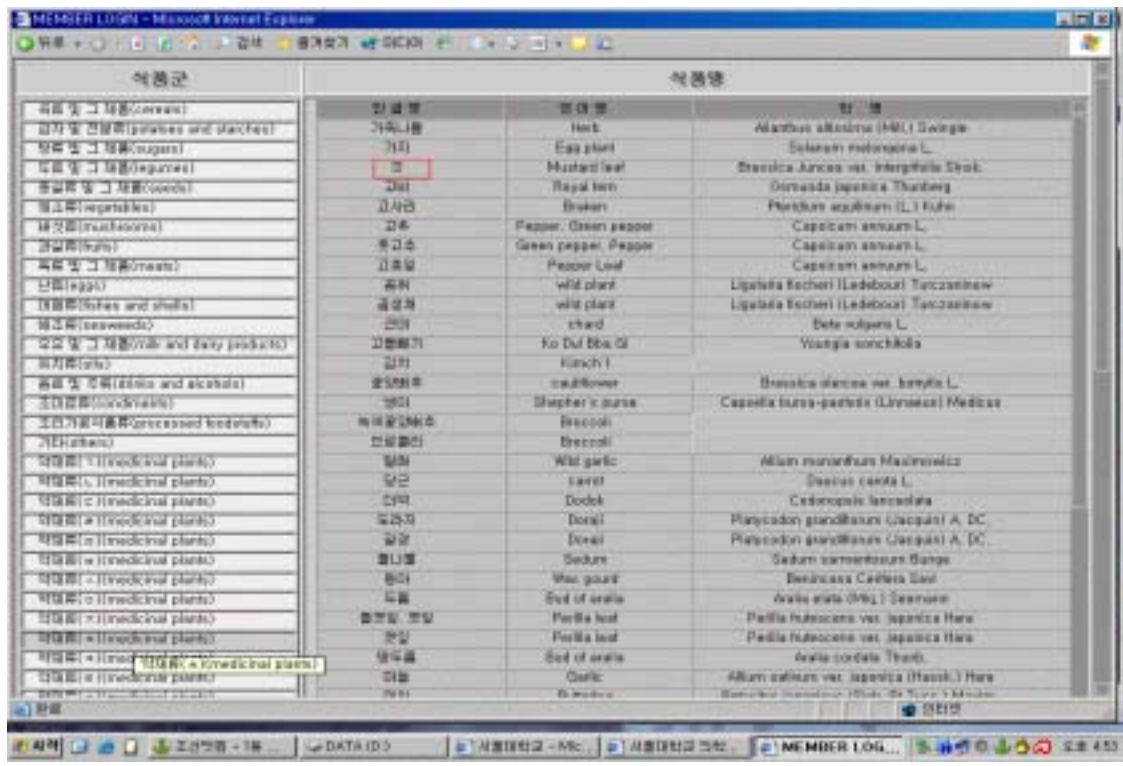


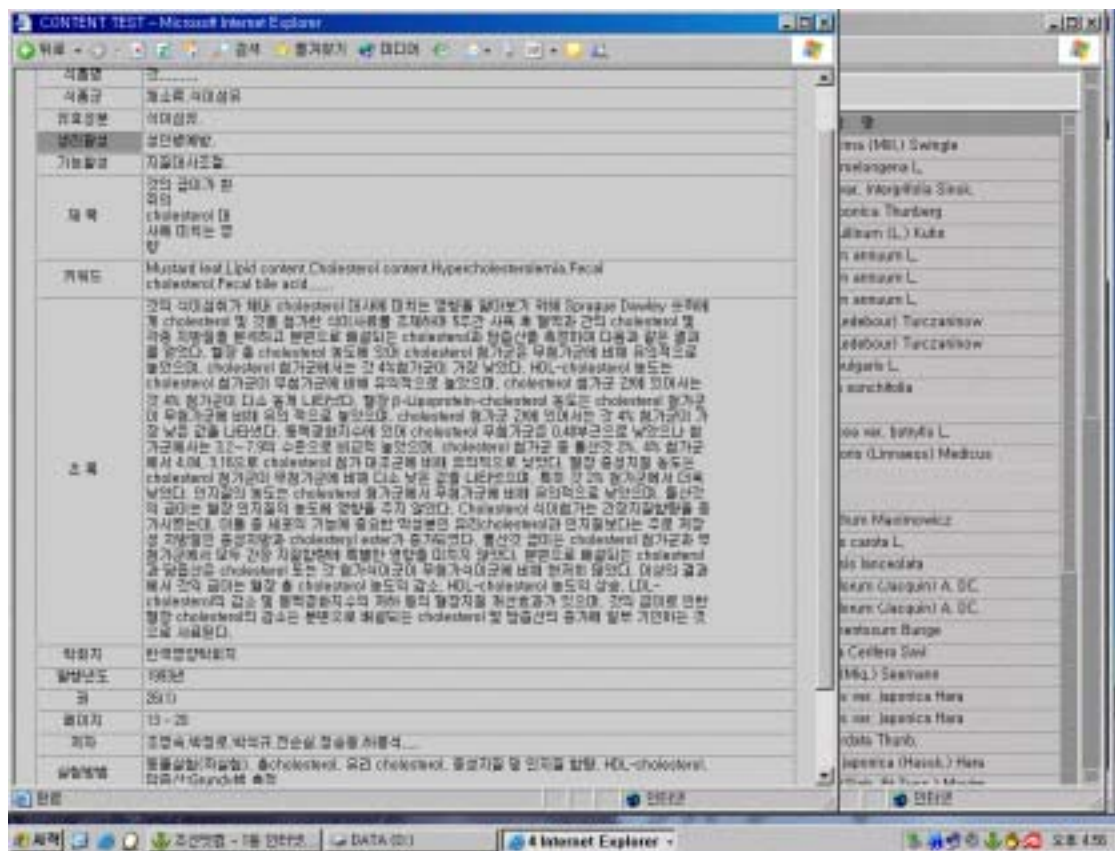
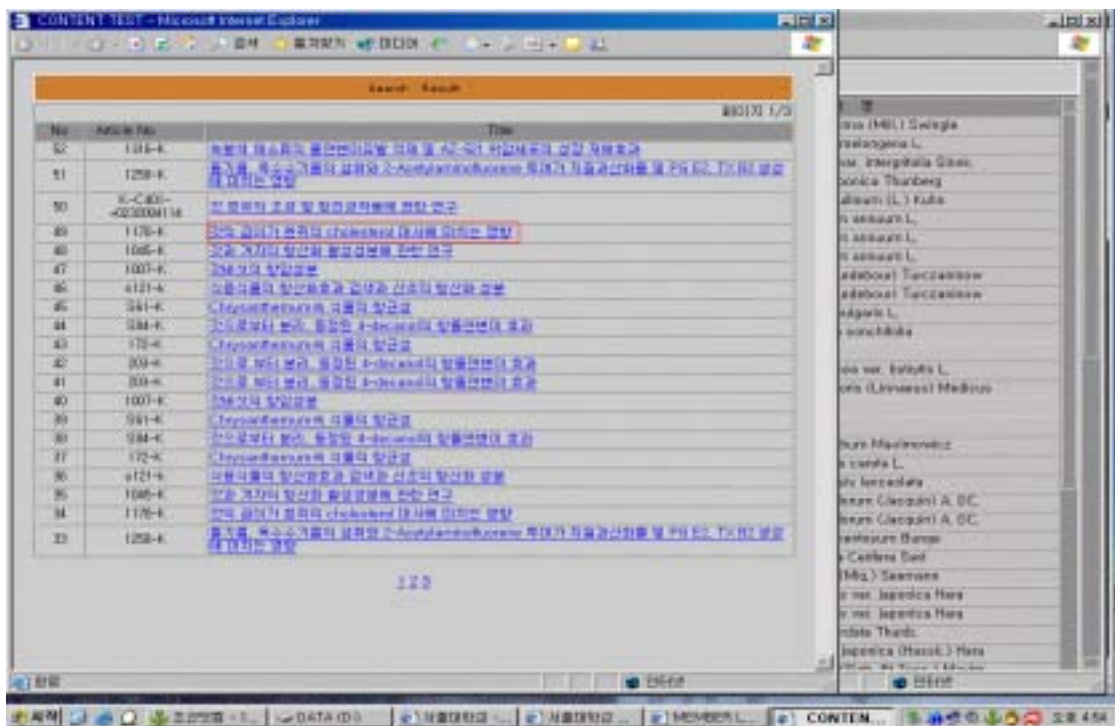
	conc. (mg/assay)	Inhibition rate(%)			Mean±S.E.
		1차	2차	3차	
Mix 10B	2.5	7.93	9.30	11.60	9.61±1.07
	5	10.06	18.78	15.23	14.69±2.53
	10	27.90	23.01	22.30	24.40±1.76
	20	42.98	34.36	37.67	38.34±2.51
	40	49.00	49.98	48.25	49.08±0.50
	80	57.10	54.18	58.68	56.65±1.32
	100	54.77	51.21	55.68	53.89±1.36
IC ₅₀	48.41				
Dry Sample w.t.(g)	0.21				
Sample w.t.(g)					



Appendix 12. Actual Flow to use the database system.









Microsoft Internet Explorer

상기 열기

한글명	영문명
간기능개선	Improvement of liver function
해독작용	Detoxification function
면역기능	Immunity function
항암작용	Anticarcinogenic activity
항산화작용	Protective activity of the liver
항소염작용	Inhibition of enzyme activity
조혈작용	Hematopoiesis
지방산산화억제	Inhibition of lipid peroxidation
항산화작용	Antioxidant activity
DNA 손상을억제	Inhibition of DNA recombination activity
간기능개선	Improvement of liver function
해독작용	Detoxification function
면역기능	Immunity function
항암작용	Anticarcinogenic activity
항산화작용	Protective activity of the liver
항소염작용	Inhibition of enzyme activity
조혈작용	Hematopoiesis
지방산산화억제	Inhibition of lipid peroxidation
항산화작용	Antioxidant activity
DNA 손상을억제	Inhibition of DNA recombination activity

이전 화면

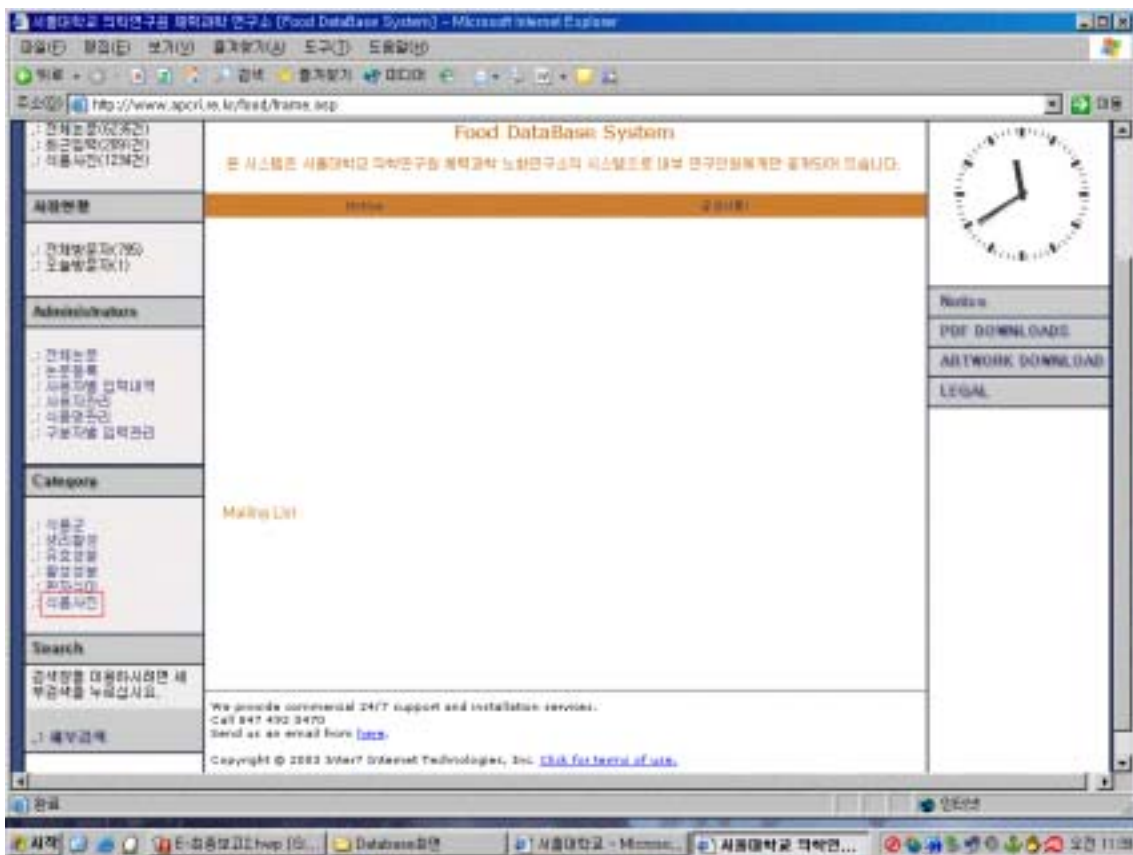
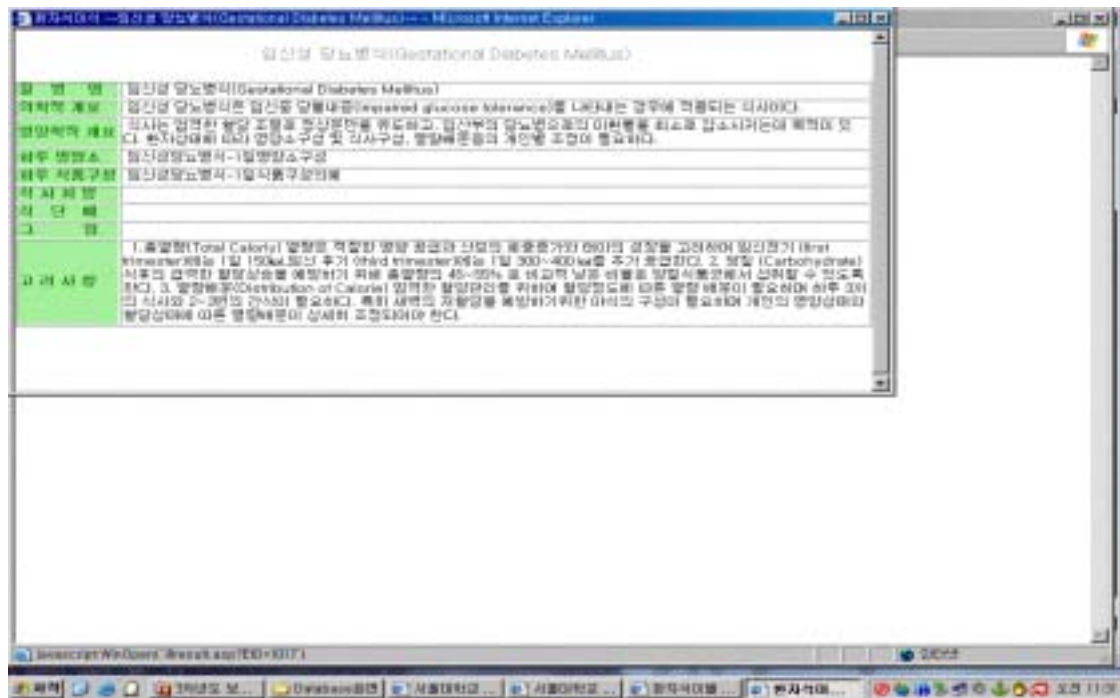
Microsoft Internet Explorer

[생리활성 논문 검색 결과]

페이지 1/3

번호	논문번호	논문명
114	1000-E	Purification and characterization of atypical protein(AAP29) from the leaves of <i>Anacardium mangostanum</i>
113	1001-E	항암작용, 항염증, 면역증진, 항산화작용, 항당뇨병 활성물질의 분리 및 분석
112	1006-E	Dependent and inhibitory effect of natural antibacterial agent on <i>Vibrio vulnificus</i> in fish
111	1009-K	천연항균성 물질인 <i>Verbena officinalis</i> 의 잎과 잎 추출물의 항생효과
110	1449-E	Inhibition of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 by clove (<i>Eugenia Caryophyllata</i> Thunb.)
109	1021-E	Antimicrobial activity of water extract of green tea against cooked rice <i>aureofaciens</i> microorganisms
108	1001-E	항암작용, 항염증, 면역증진, 항산화작용, 항당뇨병 활성물질의 분리 및 분석
107	1029-K	김치에서 분리한 호기성 세균의 생육에 대한 인체의 영향
106	1026-E	Effects of garlic extracts on the aerobic bacteria isolated from street
105	1029-E	Antibacterial activities of extracts from <i>Chrysanthemum boreale</i> M
104	1000-K	인삼의 잎의 항암작용 및 항당뇨병 활성
103	1039-K	천연물 <i>Anacardium mangostanum</i> 에서 항H2O2 활성 단백질(AAP29)의 분리 및 분석
102	1449-E	Inhibition of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 by clove (<i>Eugenia Caryophyllata</i> Thunb.)
101	1495-F	천연항균성 물질인 <i>Albizia julibrissin</i> 의 잎과 잎 추출물 <i>Escherichia coli</i> O157:H7와 <i>Staphylococcus aureus</i> 1962의 억제효과
100	1495-E	Inhibition of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 and <i>Staphylococcus aureus</i> 1962 by <i>Albizia julibrissin</i> leaves during cold storage
99	1047-E	Extraction yields of <i>Helleborus</i> and <i>Alcea rosea</i> from by supercritical carbon dioxide and antimicrobial activity of their extracts
98	1096-K	인삼의 항당뇨병 및 항암작용 활성
97	1054-E	Chemical composition and antimicrobial activity of <i>Houttuynia cordata</i> Thunb
96	1000-E	Substrate fractionation of fig leaves and its antimicrobial activity
95	1021-K	천연 항암작용물질의 분리 및 분석 활성물질의 항당뇨병 활성

123456



Microsoft Internet Explorer

서 품 사 전



식품명	전래부	과 격 노 보
중량(g)	50g	
포장부 중량(g)	20g (비닐팩)	
영양소	영 양	57 kcal
		CIPIF(%)
		6.3 : 11 : 1
비고	1교차 50g 무게변화 50 -> 30g (60%)	

이전 화면

시계 Database 화면 서울대학교 - 비... 서울대학교 - 비... 서울사관 - 비... 11:42