

계란에서 분리한 생리활성 물질을 이용한  
기능성 식품 및 용품 개발  
PERSONAL PRODUCT USING  
BIOACTIVE MATERIAL FROM EGG

엔바이오주식회사

농림부 도서실



0008551

농림부

계란에서 분리한 생리활성 물질을 이용한  
기능성 식품 및 용품 개발  
PERSONAL PRODUCT USING  
BIOACTIVE MATERIAL FROM EGG

엔바이오주식회사

2002-183

|                   |
|-------------------|
| 농림부 자료실           |
| 등록번호: 8551        |
| 등록일: 2003년 2월 12일 |
| 기증:               |

농림부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “계란에서 분리한 생리활성물질을 이용한 기능성 식품 및 용품개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2002년      월      일

주관연구기관명 : 엔바이오(주)

총괄연구책임자 : 서 정 인

세부연구책임자 : ○ ○ ○

연 구 원 : ○ ○ ○

연 구 원 : ○ ○ ○

연 구 원 : ○ ○ ○

협동연구기관명 : 호서대학교

협동연구책임자 : 이 기 영

협동연구기관명 : ○ ○ ○

협동연구책임자 : ○ ○ ○

## 요 약 문

### I. 제 목

계란에서 분리한 생리활성물질을 이용한 기능성 식품 및 용품개발

### II. 연구개발의 목적 및 필요성

식생활 수준의 향상과 식생활의 다양한 변화와 더불어 사람이 음식 섭취에 대한 욕구는 영양과 에너지 측면 뿐만 아니라 기호성 향상과 생체의 항상성 유지 및 생리기능 조절작용에 까지 이르렀다<sup>1)</sup>. 식품의 가공 및 저장중에 일어나는 지방질의 산화는 식품에 있어서 영양가의 저하 등 품질저하 요인 뿐만 아니라 산화에 의해 생성되는 각종 산화 생성물은 DNA를 손상시키거나 암을 유발하며 인간의 노화와도 관계가 있는 것으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 지난 수십년간 항산화 효과가 뛰어나 널리 사용되어 오던 BHA, BHT등의 합성 항산화제들이 항산화력은 뛰어나나 일정 이상 섭취시 안전성과 유해성 여부에 문제가 제기되고<sup>6)</sup>, 과용은 간, 위장점막, 폐, 신장, 순환계등에 심각한 독성작용을 일으키는 등 합성 항산화제에 대한 소비자의 기피 성향과 합성 항산화제가 대량으로 투여된 동물실험에서 발암성이 보고되어 있어 현재는 그 사용량이 격감되는 실정이다<sup>7)8)9)10)</sup>. 최근에는 비타민 E 및 비타민 C와 같은 천연 항산화제의 사용<sup>14)15)16)</sup>이 급격히 증가하는 추세에 있으며 이러한 증가 추세는 앞으로도 지속될 전망이다. 이들 비타민류 이외에 천연 항산화제는 대부분 식물기원의 항산화성 화합물로서 나무, 수피, 줄기, 잎, 뿌리, 열매, 씨앗 등 모든 부분에 존재하고 있으며<sup>17)18)</sup> 이러한 생약제는 우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜동안 질병치료와 예방 목적으로 사용되어 왔으며 또한 생약제의 2차 대사산물이 생체에 대한 생리활성 효과를 이용한 천연재료로서 경험적으로 가공, 이용되면서 인체에 대한 안전성은 대체적으로 많은 검증 연구가 행해져 오고 있다<sup>19)</sup>. 본 연구에서 연구하고자 하는 기능성 중 항산화능과 항균능은 모든 생체를 구성하는 유기물질을 산화와 미생물에 의한 부패로부터 보호하는 중요한 역할을 한다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 실험에서는 항균·항산화 능을 갖는 생물자원으로서 우리나라에서 재배되고 있는 오미자, 초피, 구기자, 계피, 소목, 감초, 어성초, 천궁, 마두령 등 9가지의 생약소재를 선별하여 추출방법을 공정하고 추출방법에 따른 페놀함량을 정량하여 추출법에 따른 차이점을 알아본다. 이들 추출물의 산화효과는 linoleic acid를 기질로 하여 POV가를 측정 비교하고 MDA를 이용하여 TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances)가를 DPPH용액을 이용하여 전자공여 효과를 비교한다.

식품보존제로서 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>40)</sup>. 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 중에 존재하는 2급 및 3급 아민 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하는 것으로 보고되고 있는데<sup>41)</sup> 본 실험에서는 pH 조건을 달리하여 각 추출물의 아질산염 소거작용을 측정하여 식품보존제로서 이용 가능한 조건을 확립하고자 한다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

이 연구를 통하여 대부분의 생약 추출물들은 항산화 및 항균 특성을 가지고 있으며 특히 초피, 계피, 소목은 페놀 함량 및 항산화 항균 특성이 다른 것들과 달리 매우 우수하여 식품 보존제로서, 합성 항산화 제품인 BHA를 대체, 이용할 수 있는 가능성이 충분함을 알 수 있었다.

## SUMMARY

### (영문요약문)

The ethanol and methanol extracts from 9 oriental medicinal herbals screened through preliminary test from over hundred ones, were compared for antioxidative and antimicrobial activity, and were investigated Nitrite Scavenging.

Total phenolic content of each extract was determined as chlorogenic acid for standard concentration. Each extract,  $\alpha$ -tocopherol and BHA was added to 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl and linoleic acid ester, and the antioxidative activity was evaluated by measuring O · D reduce rate of an extracts additive sample and non-additive and also POV after conduction of accelerated peroxidative condition. TBARS value was utilization MDA standard. Nitrite Scavenging activity was evaluated by pH 1.2, 3.0, 4.2, 6.0 condition, and synergism of each extracts at pH 1.2.

The extracts were also tested for the antimicrobial activity against several pathogenic microorganisms on human skins and Food, Such as *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphyrococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger*.

Antimicrobial activity of extracts was measured by diameter of clear zone of disc diffusion method.

*Zanthoxylum piperitum* extract showed the strongest antioxidative effect. Also, *Caesalpinia sappan* and *Cinnamomum cassia* extracts showed the stronger antioxidative than another six extracts. *Cinnamomum cassia* extract showed the strongest antimicrobial activity as well as high antioxidative effect.

CONTENTS

(영 문 목 차)

## 목 차

### 제 1 장 연구개발과제의 개요

- \* 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술

### 제 2 장 국내의 기술개발 현황

- \* 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내·외 기술개발현황에서 차지하는 위치 등을 기술

### 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

- \* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술

### 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

- \* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전예의 기여도 등을 기술

### 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- \* 추가연구의 필요성, 타연구에의 응용, 기업화 추진방안을 기술
- \* 연구기획사업 등 사업별 특성에 따라 목차는 변경 가능함

### 제6 장 참고문헌



## 제1장. 연구개발 과제의 개요

### 1. 개발기술의 필요성

■ 최근 한국의 농축산업계의 가장 큰 문제 중의 하나인 계란의 과잉생산으로 인해 계란가격은 폭락하고 양계농가의 도산이 줄을 잇고있다. 현재 남아도는 계란을 북한에 보내고있는 실정이며 이러한 상황이 장기화되면 양계축산의 기반이 허물어질 수 있고 이를 예방할 수 있는 방법은 계란을 가공하여 그 부가가치를 높이는 길일 것이다.

■ 계란흰자는 인간의 양수와 같이 노른자를 보호하기 위해 각종 항균제나 항산화제 또는 면역 단백질 등의 많은 생리활성물질들을 함유하고 있다. 따라서 이들을 분리하여 항균 또는 항산화력을 갖는 고가의 기능성 식품이나 각종 고급 천연소재 화장품, 또는 피부 보호용 세정제의 원료로 이용할 수 있다. 계란 단백질의 경우 다양한 생화학적 기능을 가지고 있음에도 불구하고, 용도 개발이 제대로 이루어지지 않아 국내 생산 기반이 전무하다. 특히, 우유 단백질의 락토페린(lactoferrin)과 유사한 철분 결합능이 있다고 보고되어 지고 있는 콘알부민, 용균 작용이 있는 라이소자임, 바이오틴 결합능이 있는 아비딘, 세린푸로테아제의 저해능이 있는 오브뮤코이드는 항균 및 용균의 목적으로 조제 분유, 이유식, 경구·경관영양식, 환자 회복식, 단백질 음료등의 다양한 용도가 있을 것으로 사료되어 진다. 현재, 이의 목적으로 주로 이용되는 락토페린의 경우 kg당 50만원이상의 고가로 전량 수입되어 지고 있으며, 그 사용량은 매년 30%이상 증대되고 있고 있는 국내 환경에서 비추어 보면, 이의 대체적인 식품 소재의 개발은 매우 의미 있는 것이라 사료된다.

한편 최근에는 천연물을 주원료로 한 많은 건강보조식품이나 기능성 생활용품들이 산업에 도입되고 있으며 이러한 생산품들은 국민들의 건강에 대한 욕구를 충족시켜 줄뿐만 아니라 의료보건 정책을 간접적으로 보완해 줄 수 있는 하나의 대안으로 인식되고 있다. 또한, 식품의 과학 기술적 측면에서도 우리 고유의 전통 발효식품들을 비롯한 많은 식물성 식용·약용자원 등 고유의 천연 소재들과 전래되어 오고 있는 다양한 민간 요법들을 이용하여 국제적으로 경쟁력 있는 생활용품 및 식품용 신소재의 창출이 가능한 것이다.

■ 본 연구에서 연구하고자 하는 기능성 중 항산화능과 항균능은 모든 생체를 구성하는 유기물질을 산화와 미생물에 의한 부패로부터 보호하는 중요한 역할을 한다. 이들의 산업적 이용분야는 식품의 산패억제나 부패방지의 차원을 넘어 인체의 노화방지나 류마티스성 관절염, 세균성 혹은 바이러스성 감염, 심장병, 암 등 각종 질환의 치료용으로도 연구되고 있다. 특히, 지금까지 이용되어 온 합성 항산화제들이 생세포의 돌연변이나 대사에 각종 문제를 일으켜 만성위염이나 암 등의 원인을 제공하는 것으로 알려지면서 천연 항산화제 및 항균제의 개발제품은 차세대 식의약품 점유율에 선두주자로 떠오르고 있다.

■ 본 연구에서 개발하려는 기술 및 제품은 계란에서 분리한 항산화, 항균력 및 면역증강효과를 갖는 천연물질을 주원료로 기능성 식품이나 피부보호용품을 상품화하는데 그 목적을 두고 있다. 여기에 이들

기능성을 촉진해주는 계피, 오미자, 구기자, 숙지황, 천궁, 감초, 당귀, 인삼, 황기 등의 각종 한약재나 갈변물질들을 포함하고있는 커피 등의 추출물들을 혼합 첨가하여 음료나 빵 류 등의 노화방지 및 면역성을 증진시켜주는 기능성 식품이나 피부 보호용 기초화장품, 바디클렌저 또는 여성용 인체 세정제 등을 생산하는데 있다.

## 제 2장 국내외 기술개발 현황

### 1) 국외 기술개발 현황

■ 일본이나 미국 등지에서도 생리활성 선도물질에 관한 탐색연구가 이미 시작되어 여러 생명공학연구소에서 천연자원으로부터 신규 항산화물질을 탐색하는 연구가 본격적으로 이루어지고 있다. 미국 NIH를 비롯하여 대학 및 제약회사 등에서 비스테로이드성 항염증제, 허혈, 뇌질환 치료제, 항암제, 피부보호제, 안구보호제 등 각종 질병치료제 개발을 목적으로 활발히 연구가 진행중에 있다. 최근, 프랑스 보르도지방 남부에 생육하고 있는 프랑스 적송의 수피에서 추출한 수용성 식물성분인 pycnogenol 은 강력한 항산화 활성을 나타내는 물질로서 식품첨가물, 화장품원료 등의 목적으로 개발, 판매되고 있으며 점차 거대한 시장규모를 형성하고 있고, 음료와 화장품원료로도 이용되고 있다.

■ 국내 생명공학연구소·천연물 연구소 및 각 대학에서도 염증치료제, 뇌세포보호제, 피부보호제, 화장품 및 식품첨가물로 이용하기 위하여 다양한 항산화제 개발연구가 수행되고 있다. 1992년 G7 생리활성 선도물질 탐색 연구가 본격적으로 시작되어 다수의 신규항산화제를 개발하는 등 연구기술이 활발히 축적되고 있으며, 현재 항염증제, 뇌신경세포 보호제, 피부노화방지제 및 식품첨가물의 개발을 목적으로 제약회사 등의 기업과 대학 및 연구소등에서 연구가 진행되고 있다. 그러나 국내의 연구는 항산화제를 개발하는 등의 상당한 기술과 연구결과는 축적되어 있으나 이들 개발된 항산화제를 응용하기 위한 생물학적 기능 연구 및 질병모델계에서의 효능평가체계 등을 갖추고 있지 못하고 있는바, 실험적인 방법으로 개발된 항산화제의 실제 상품화 응용연구가 이루어지지 못하고 있고 특히 계란의 생리활성물질이용 연구는 거의 이루어지지 못하고있다.

■ 본 연구에서 개발하고자 하는 제품 기술은 합성화합물이 아닌 천연물질만을 첨가하여 제품화한 것이므로 국민 건강은 물론 환경친화적 이미지를 인식시키는 데에도 이바지하게 될 것이다. 따라서 본 연구 과제는 일상 생활에서 식품으로 이미 널리 이용되고 있는 계란 등 천연 자원으로부터 식품, 의약품, 및 화장품 등에 안전하게 사용할 수 있는 신규의 항균물질 및 항산화 물질을 생산할 수 있는 기술을 확보하고자 한다. 아울러, 이를 이용한 고 부가가치의 제품의 생산 기반 기술을 확보하고자 한다.

이와 같은 본 연구 개발의 목적이 달성되면 다음과 같은 효과를 획득할 수 있을 것으로 예상된다.

| 기대효과 |

- 값싼 계란에서 고부가 가치의 기능성 생명공학제품 창출
- 항균력 및 항산화력을 갖는 새로운 생물 자원의 개발
- 생물 자원으로부터 항균력 및 항산화력을 갖는 분획의 효율적 생산을 위한 공정개발
- 신규한 항생물질 및 항산화 물질의 분리 및 규명(신물질 창출)
- 수입에 의존하고 있는 식품 첨가물의 국산화 대체
- 수출 증대 효과
- 국내 식품, 생활용품 및 화장품의 대외 경쟁력 제고
- 무해한 식이성 천연식품첨가제 사용으로 인체 안전성 문제의 해결

국내에서 주로 건강보조식품으로 연간 120억 원어치 정도 거래되는 난황 레시틴을 비롯한 대부분의 계란유래 생리활성 분리물들은 주로 수입되고 있으며 난백은 분리되지 않고 그대로 건조시켜 사용되고 있다. 이들의 생리활성은 아직 미개척 분야로 남아있다. 천연항산화제의 경우는 인공합성 항산화제에 비해 뒤떨어지지 않는 효과가 확인된 추출물질들도 상당히 많지만 이를 제품화시키는 노력은 미흡하다고 하겠다. 한편, 이러한 연구가 대부분 실험실에서의 소량의 추출실험으로 끝나고 있으며 대량 생산시의 적절한 추출 방법과 추출수율, 원인 물질의 정제 등 상업적 검토는 부족한 실정이다. 그러므로 이들을 대상으로 추출 수율을 높이거나 정제과정을 단순화시키는 연구와 가격 경쟁력을 갖도록 대량 생산에 따른 문제점 해결 및 원가 절감 연구가 이루어진다면 기능성 식품 첨가물로서 뿐만 아니라 의약품이나 화장품 분야의 이용에까지 폭넓게 이루어질 수 있을 것이다.

■ 현재 국내 각종 기업의 연구소에서도 천연물을 소재로 제조한 상품개발이 많이 진행중이다. 이들 연구 결과를 기초로 천연 추출물들로부터 항산화 및 항균 효과를 내는 분획을 대량으로 생산할 수 있는 기술을 개발하여 건강보조식품의 원료나 기능성 식품으로서 개발할 수 있다.

### 3. 연구개발수행 내용 및 결과

#### 1). 기술개발의 목표 및 내용

##### 가. 기술개발의 최종 목표

###### 1) 기술개발 목표

본 연구의 목표는 계란을 주원료로 식품 첨가물로서의 안정성을 확보할 수 있는 천연의 항산화 또는 항균능을 갖는 새로운 생물자원을 탐색하고, 또한 이 생물자원으로부터 무독성, 무공해 공정으로 천연의 항산화 항균능을 갖는 물질을 분리하고, 이 물질을 첨가한 Formular 조건을 확립하여 항산화 및 항균능 뿐만 아니라 운동능력, 지적능력을 향상시키며 동시에 면역력을 향상시킬 수 있는 식품 첨가물·기능성 식품으로의 시제품을 개발하고자 한다. 또한 이 물질을 경제적으로 얻을 수 있는 공정을 개발하기 위한 pilot-plant를 설계하고 이를 실제로 제작 운전함으로써 대량 생산을 위한 경제적인 공정을 수립한다.

###### ■ 항산화 및 항균력을 갖는 물질의 획득 기술 개발 및 공정단위화

- 본 연구에서는 항산화력이 우수한 생물 자원으로서 계란과 감초, 오미자, 숙지황 추출물로부터 항균력 및 항산화 특성을 갖는 분획을 선택적으로 획득하고 동시에 이 획득 방법을 공정 단위로까지 scale up 할 수 있도록 경제적으로 개선하여, 항균력 및 항산화 분획들로부터 항균력 및 항산화 특성을 갖는 물질을 구체적으로 규명하고자 한다.

###### ■ 최적합 사용예의 탐색 및 관능검사

- 상기 과제에서 항산화력 및 항균력이 확인된 분획을 빵이나 떡과 같은 씨리얼 제품, 튀김, 라면 등과 같은 유당 식품, 소시지, 어묵과 같은 연육식품, 아이스크림, 생크림과 같은 고지방식품, 콩대두유, 옥배유와 같은 식용유 등에 첨가한 후 이의 항산화 경시 변화를 평가함으로써, 최적합 사용예를 탐색한다.

■ 연도별 주요개발 내용

| 구 분                | 주요개발내용 및 범위   |
|--------------------|---|
| 1차년도(기초연구)         | (1) 항균력 및 항산화력을 갖는 계란분획연구<br>(2) 생물자원으로부터 항산화 및 항균력을 갖는 분획 획득 및 시제품화<br>(액체세계발)           |
| 2차년도(응용연구 및 시제품제작) | (1) 계란에서 항산화 및 항균능을 갖는 분획의 선택적으로 대량 획득법 개발<br><br>(2) 시제품의 생산 및 품질관리법 연구<br>(치약, 화장품등 개발) |

■ Pilot-plant 설계를 위한 공정 구성

사업 결과에 따라 다소 변경될 수는 있으나 기본적으로는 다음과 같은 골격을 유지하고자 한다.



이를 수행하기 위하여 각각의 공정에 따른 pilot-plant의 사양은 다음과 같이 구성하고자 한다. 추출과 농축은 한 system에서 수행하도록 한다.

① 추출/농축기의 사양은 다음과 같이 구성한다.

- 용량 : 1 batch 당 50ℓ
- 사용온도 : 50~ 250℃
- 열공급방식 : 반응기 외부를 순환하는 에 열교환 방식
- 특별사양 : 용매 회수 수단 (콘덴서) 장착

- ⑥ 혼합 균질은 교반 탱크를 이용하여 일차 혼합
- 컬럼 균질기를 사용하여 혼합물을 완전 균질토록 구성한다.
  - 이를 위한 교반 탱크와 컬럼 균질기의 사양은 다음과 같이 구성한다.

|   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 교반탱크           <ul style="list-style-type: none"> <li>· 용량 : 500 ml</li> <li>· 사용온도 : 5 ~ 100℃</li> <li>· 열교환 여부 : 자켓에 의한 열교환 방식</li> </ul> </li> <li>- 컬럼 균질기           <ul style="list-style-type: none"> <li>· 용량 : 100 l / hr</li> <li>· 사용온도 : 5 ~ 100 ℃</li> </ul> </li> </ul> |
|---|

- ⑦ 건조
- 스프레이 드라이를 이용하여 액상의 항균/항산화 분획물을 건조시켜 유통기한과 사용온도를 넓히도록 한다. 스프레이 드라이어의 사양은 다음과 같이 구성한다.

|  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- 용량 : 시간당 수분 20ℓ 증발</li> <li>- 방식 : 분무 건조</li> </ul> |
|--|

**나. 협동기술개발의 목표 및 내용**

협동기술개발연구에서는 본 연구에서 개발하는 원료나 제품을 학술적 측면에서 뒷 받침 해줄 수 있는 과학적 연구를 수행한다. 그 내용은 하기와 같다

- (1) 항균력 및 항산화력을 갖는 생물자원의 탐색
  - 계란류 등 생활 주변으로부터 안정성이 입증된 식용 또는 약용의 생물자원 중 TBARS 법에 의해 최소 50% 이상의 항산화능을 갖는 생물자원과 50% 이상의 균 성장 저해능을 갖는 생물자원을 탐색한다.
- (2) 생물자원으로부터 항산화 및 항균력을 갖는 분획 획득
  - 상기 생물 자원으로부터 항산화능 또는 항균성이 있는 유용 성분을 무독성 및 무공해 공정으로 분리 획득할 수 있는 공정을 개발한다.
  - 항산화력이 확인된 메탄올/에탄올 추출물을 기초 물질로 하여, 크로마토그래피(thin layer

column, liquid chromatography) 상에서 전개 용매의 극성이 낮은 것에서 차례로 극성을 높여 추출하여 이에 따라 얻어지는 각 분획들의 항균력 및 항산화력을 비교하여 가장 우수한 항산화력 및 항균력 특성을 갖는 분획을 탐색한다. 우선 Amberlite XAD-2 column을 이용하여 분획한 시료의 항산화력 및 항균력을 측정 한 뒤 가장 역가가 우수한 분획을 다시 silica gel column을 이용해 극성물질들을 제거하고 이를 다시 박막크로마토그래피로서 2회에 걸쳐 순수 분리하여 HPLC를 이용해 최종 확인한다.

### (3) 생물자원의 항산화 및 항균력 측정

#### ① 천연 식물 및 한약재의 용매 추출

- 50℃에서 24시간 건조시킨 시료를 플라스크에 취하여 각각 150ml의 99% ethanol과 methanol을 가한 후, 상온에서 15시간 충분히 교반한다. 교반한 추출액은 상층액과 잔사로 분리하고, 잔사에 다시 150ml의 99% ethanol과 methanol을 각각 가한 후 5시간 동안 추출을 반복하여, 상층액만 모아 여과(Watman, 41)하고, 여과한 액을 10ml로 감압농축하여 시료로 사용한다.

#### ② 추출물 및 난백단백질 분획의 항산화력 측정

##### ◆ 난황 레시틴의 과산화에 대한 항산화 효과 측정

- 추출물을 첨가한 시험관에 Lecithin 기질 1ml과 시료액을 가한 후 chloroform은 nitrogen gas로 제거하고(완전히 제거한다). 0.01M Tris-HCl-0.175M KCl buffer와 2mM FeSO<sub>4</sub>, 2mM ascorbic acid를 첨가하여 반응 총 부피를 2ml로 한다. 대조군은 추출물을 첨가하지 않은 군으로 한다. 이 액을 37℃에서 30분동안 incubation시킨 후 식히고, 5mM EDTA 0.5ml, 1% phosphoric acid 3ml, 0.7% TBA용액 1ml을 첨가하여 water bath에서 100℃로 45분간 끓이고, 여기에 n-butanol 4ml을 가해 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액을 취해 535nm에서 흡광도를 측정한다. 이때 대조군으로  $\alpha$ -tocopherol과 BHA를 같은 방법으로 측정하여 상대적인 항산화 효과를 비교측정한다.

##### ◆ Hydrogen donating ability 측정

- 각각의 추출물의 수소공여능(Hydrogen donating ability, HDA)을 DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl)의 환원성을 이용하여 516nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정한다. 즉, 시료 3ml에 5\*10<sup>-5</sup>M DPPH용액 3ml을 가한 후 5초간 진탕한 다음 10분간 반응시켜 대조군에 대한 흡광도의 감소비율로서 수소공여능을 나타낸다.

##### ◆ Mushroom - Tyrosinase 저해효과 측정

- 추출액 (0.4 $\mu$ m)을 10% dimethyl sulfoxide(1ml)에 녹인다.(sonication) solution 1ml에 1/15M phosphate buffer, pH 6.8 1ml, Mushroom - Tyrosinase(96U/ml) 0.5ml을 가하고, L-dopa(1 $\mu$ m) 0.5ml을 첨가한다. 이 반응액을 25℃에서 2분간 방치한다. 반응혼합액에 존재하는 dopachrome의 양을 475nm에서 측정한다. 대조군과 비교하여 2분동안의 흡광도

변화도 그래프(직선상)를 얻는다. tyrosinase reaction의 저해 효과는 다음과 같이 구한다.

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} * 100$$

대조구 (CONTROL)

A: incubation 후에 추출액을 넣지 않은 샘플의 흡광도

B: incubation 하기 전의 추출액을 넣지 않은 샘플의 흡광도

실험구 (TREAT)

C: incubation 한 후의 추출액을 넣은 샘플의 흡광도

D: incubation 하기 전의 추출액을 넣은 샘플의 흡광도

③ 추출물 및 난백단백질 분획의 항균효과 측정

◆ Disk diffusion method - Clear zone 측정

- 사면배지에 배양된 각 시험균주를 1백금이씩 취해 10ml tryptic soy broth에 접종하여 30℃에서 24시간 배양한다. 이 배양액 0.1ml를 실온에서 하루 건조한 tryptic soy plate에 떨어뜨린 후 균일하게 도포한다. 각 시험균이 접종된 plated 위에 분획물을 흡수시킨 6.5mm filter paper (Whatnan No. 2)를 놓고 30℃에서 24시간 배양 후 disk 주위에 나타난 clear zone의 직경(mm)으로 항균성을 비교한다.

◆ 생균수의 성장 검사

- 각 추출물을 membrane filter(0.2 $\mu$ m)로 제균시키고, broth에 각 추출물의 soluble solid를 ppm 단위로 첨가한 후 각 대상균주의 slant에서 배양된 균주 1백금을 취해 10ml borht에 접종, 30℃, 24시간 동안 배양시켜 이 배양액 0.1ml를 취해 다시 10ml broth에 접종하여 30℃, 24시간 동안 배양한 배양액 0.1ml를 각 추출물이 함유된 broth에 접종하여 배양한다. 추출물의 농도별 항균성 효과는 미생물의 생육정도를 spectrophotometer를 사용하여 620nm에서 흡광도를 측정한다. 추출물을 넣은 broth를 blank로 사용한다.



## 2) 실험 재료 및 방법

### (1) 시료

본 실험에서 사용한 계피, 천궁, 어성초, 오미자, 구기자, 초피, 감초, 마두령, 소목은 서울에 소재한 경동시장에서 무작위적으로 구입하였다(Tabla 1).

Chlorogenic acid, Folin ciocalteu's reagent, Griss reagent, linoleic acid methyl ester 및 DPPH 등은 Sigma사(USA) 제품을 구입하여 시료로 사용하였다.

### (2) 시료 추출물의 조제

시료 추출물의 조제는 건조된 각 시료 5g을 삼각플라스크에 취하여 250ml의 70% Ethanol·Methanol을 가하여 85°C Water bath에서 3시간 동안 추출하고 남은 잔사를 다시 250ml의 70% Ethanol·Methanol로 반복 추출하였다. 1·2차 추출 여과액을 rotor speed 8000rpm, temperature 4°C, time 10min의 조건으로 Centrifuge하였고 상층액을 rotatory vacuum evaporator를 이용하여 용매를 완전히 제거하여 총 추출액을 50ml로 하여 시료로 사용하였다.

**Table 1. List of herbal medicines for the solvent extraction of antimicrobial and antioxidative compounds**

| No. | Scientific name              | Korean name | Plant parts used <sup>1)</sup> |
|-----|------------------------------|-------------|--------------------------------|
| 1   | <i>Polygonum ariculare</i>   | 마두령         | Fr                             |
| 2   | <i>Hauttuynia cordata</i>    | 어성초         | L                              |
| 3   | <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 초피          | L                              |
| 4   | <i>Cinnamomum cassia</i>     | 계피          | Sb                             |
| 5   | <i>Lycium chinense</i>       | 구기자         | Fr                             |
| 6   | <i>Caesalpinia sappan</i>    | 소목          | Li                             |
| 7   | <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 감초          | R                              |
| 8   | <i>Cnidium officinale</i>    | 천궁          | Rh                             |
| 9   | <i>Schizandra chinensis</i>  | 오미자         | Fr                             |

<sup>1)</sup> Fr : Fruit L : leaf Sb : steam bark Li : ligneous R : root Rh : rhizome

### (3) 용매 추출물의 고형분 수율

김등<sup>54)</sup> 등의 방법에 따라 추출액 일정량을 취하여 105°C에서 건조법으로 수분을 측정하여 고형분함량을

계산하고 추출액 조제에 사용된 원료량(건물량)에 대한 백분율로서 고형분 수율을 나타내었다.

$$\text{Solid yield(고형분 수율)} = \frac{\text{dry solid in extract(g)}}{\text{raw material(g, dry weight)}}$$

(4) 페놀성 화합물 정량

추출된 각 phenol성 물질의 함량 측정은 Rhee 등의 방법<sup>55)</sup>에 준하여 측정하였다. 즉, 각 phenol성 추출물 0.2ml에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 2ml을 가하여 충분히 혼합하고 2분후에 50% Folin ciocalteu's reagent를 가하여 상온에서 30분 방치한 다음 750nm에서 흡광도를 측정했다. 함량은 Chlorogenic acid를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

(5) 전자 공여능 측정

전자공여작용(electron donating ability, EDA)은 추출물 분획별 시료액이 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과로 Kim와 Choi의 방법을 변형하여<sup>1)56)</sup> 시료의 환원력을 측정하였다<sup>1)</sup>. 즉 일정한 농도의 추출물 분획별 시료 0.2ml에 4×10<sup>-4</sup>M DPPH용액 2ml를 넣어 vortex로 진탕시킨 후 분광광도계를 사용하여 525nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 전자공여효과는 시료 첨가구와 시료 무첨가구의 흡광도의 감소율로 나타내었다.

$$\text{EDA(\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 시료 첨가시의 흡광도

B : 시료 무첨가시의 흡광도

(6) Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 측정

Buege와 Aust의 방법<sup>57)</sup>에 따라 1ml의 반응혼합물이 채워진 시험관을 37℃ water bath에서 1시간 동안 반응 시켰다. 반응이 끝나자마자 7.2%BHT 50μl를 시료에 가하여 산화반응을 정지시키고, TCA/TBA시약 2ml을 가하여 끓는물에서 15분간 가열시킨 후, 냉수에서 식힌 후 2000×g의 속도로 15분간 원심분리 시켰다. 상등액을 531nm에서 측정하였고, 공시료는 시료 대신에 증류수를 가하여 동일한 방법으로 측정하였다. TBARS값은 반응 혼합물에 대해서 malondialdehyde(MDA)로 표시하였다.

(7) 과산화물(peroxide value)의 측정

과산화물가는 유지 식품이 산패하면 과산화물(peroxide)이 생성되므로 유지1kg에 함유되어 있는 과산

화물의 밀리당 양의 수로 표시되며 식물성 유지의 경우 60~100meg/kg에 도달하는 시간을 유도기간으로 간주하여 산패 정도를 측정했다. Lee<sup>41)</sup> 등의 방법을 변형하여 기질은 linoleic acid methyl ester(sigma, USA)를 사용하였고 추출물을 기질10ml에 0.5ml을 첨가하였으며 비교구는 0.5mM BHA(sigma, USA)와 0.5mM  $\alpha$ -tocopherol(sigma, USA)를 사용하였다. 비교구와 추출물 첨가구를 50°C water bath에서 20일간 산화시키면서 경시적으로 시험액의 POV를 측정하여 각각의 추출물 시료의 항산화성을 검토하였다.

$$\text{POV 가} = \frac{(a-b) \cdot F}{S}$$

- a : 본 시험의 0.01N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 적정치(ml)
- b : 공시험의 0.01N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 적정치(ml)
- F : 0.01N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>의 factor
- S : 시료량(g)

(8) 아질산염 소거능 측정

아질산염의 정량방법으로 가장 잘 알려진 Griess-Ilosvay방법은 아질산염의 존재에 의한 sulfanilic acid의 디아조화와 이 화합물이  $\alpha$ -naphthylamine의 coupling반응에 의하여 핑크색의 아조계 색소를 형성하는데 기초를 둔 것이다<sup>58)</sup>. 본 실험에서 아질산염 소거작용의 측정은 Kato<sup>59)</sup>등과 Kim<sup>60)</sup>등의 방법에 의거하여 다음과 같이 측정하였다. 1mM NaNO<sub>2</sub>용액 1ml에 각각의 추출물 2ml을 가하고 여기에 0.1N HCl(pH1.2), 0.2M 구연산 완충용액(pH3.0, pH4.2, pH6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2, 6.0으로 조정하고 반응용액의 부피를 10ml로 하였다. 이 액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1ml씩 취하여 2% 초산용액 5ml, Griess시약 0.4ml을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치 후 분광광도계를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 산출하였다.

한약재 추출물을 각각 두 추출물씩 반응시켜 pH1.2 상태에서 위와 같은 방법으로 반응시켜 아질산염 소거능 상승효과를 알아봤다.

$$\text{소거율(\%)} = \left( 1 - \frac{A}{B} \right) \times 100$$

A : 시료 첨가시 흡광도

B : 시료 무 첨가시 흡광도

(9) 항균 측정

NB, TBA, YM, PDB 배지 1ml에 해당 균주를 1백금이 넣어 배양기에서 18시간 배양시켰고 NA,

TSA, YM, PDA 배지를 기층배지로 각각 만들었다. 중층배지를 만들기 위해 NA, TSA, YM, PDA 배지를 각각 5ml씩 만든 후 45°C Water bath에 담가두어 온도를 유지시키면서 각각의 배지에 균을 100 $\mu$ l 씩 접종하여 기층배지에 부어 2중의 중층배지를 만들었다. 항균실험을 하기 위해서 각각의 한약재 추출물을 파쇄시킨 후 시료를 증류수와 70% Ethanol에 각각 1:10비율로 섞었고 증류수 혼합물은 100°C Water bath에서 3시간 추출하였고 Ethanol혼합물은 80°C Water bath에서 3시간 추출하였다. 추출물을 5000rpm의 원심분리기에서 10분간 돌렸고 상층액만 실험에 사용 하였다. 각각의 한약재 추출물을 8mm paper disk에 100 $\mu$ l씩 균일하게 흡수시킨 후 흡수시킨 paper disk를 공기중에 건조시켜 균주가 도말된 배지위에 올려놓고 배양기에서 48시간 배양 시킨 후 clear zone의 직경을 재어 평가하였다.

#### (10) 통계처리

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

### 3) 실험 결과 및 고찰

#### (1) 각종 한약재의 용매별 추출수율

각 시료의 용매별 추출수율은 Table 2에서 보는 것과 같이 Ethanol 추출물에서는 마두령이 9.15%로 평균적으로 높은 수율을 나타내었으나 8.96%인 오미자 추출물과는 유의적인 차이없이 비슷하게 높은 수율을 나타내었고 소목·감초 추출물은 마두령에 비해 낮은 수율을 보였다. 특히, 어성초·천궁·계피·구기자 추출물은 유의적으로 큰 차이를 보여 낮은 추출 수율을 나타내었고 초피는 7.19%로 마두령 추출물 수율에 비해 가장 낮은 수율을 보였다. MeOH 추출물에서는 Ethanol 에서와 같이 마두령에서 유의적으로 높은 추출수율을 나타내었고 감초·오미자는 평균적으로 9.14%인 오미자에 비해 8.76%감초, 8.75%인 오미자가 낮았으나 유의적인 차이가 비슷하여 높은 수율을 나타내었다. 어성초·소목·계피·천궁 추출수율은 유의적으로 큰 차이를 보였고 구기자와 초피 추출물은 가장 낮은 수율을 나타내었다. 위에서 살펴본 바와 같이 마두령은 Ethanol, MeOH 추출물 모두에서 높은 수율을 나타냈고 구기자·초피 추출물은 모두에서 낮은 수율을 나타냈다.

Table 2. Yield of solvent extract from various herbal medicines

| Medicinal Plant              | Yield ratio(mg/ml)           |                              |
|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                              | EOH <sup>1)</sup>            | MeOH <sup>2)</sup>           |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | 9.15±0.002 <sup>3)a)</sup>   | 9.14±0.005 <sup>a)4)</sup>   |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | 8.22±0.001 <sup>c)</sup>     | 8.38±0.005 <sup>a,b,c)</sup> |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 7.19 <sup>d)</sup>           | 7.61±0.007 <sup>c)</sup>     |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | 7.99±0.002 <sup>c)</sup>     | 7.93±0.001 <sup>b,c)</sup>   |
| <i>Lycium chinense</i>       | 7.90±0.002 <sup>c)</sup>     | 7.65 <sup>c)</sup>           |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | 8.49±0.006 <sup>a,b,c)</sup> | 8.12 <sup>b,c)</sup>         |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8.29±0.004 <sup>b,c)</sup>   | 8.76±0.003 <sup>a,b)</sup>   |
| <i>Cnidium officinale</i>    | 8.14±0.003 <sup>c)</sup>     | 7.87±0.005 <sup>b,c)</sup>   |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | 8.96±0.001 <sup>a,b)</sup>   | 8.75±0.002 <sup>a,b)</sup>   |

1) EOH : 70% ethanol extract

2) MeOH : 70% methanol extract

3) Mean ± SD

4) Value are means of replicates and those with different alohabet letters are significantly different at p<0.05

(2) 용매별 페놀 함량

추출수율에 따른 페놀함량은 Table 3에서 보는 것과 같이 Ethanol 추출물에서 유의적인 차이가 확연히 구분되어 평균적으로는 초피 > 소목 > 어성초 > 계피 > 구기자 > 감초 > 천궁 > 마두령 > 오미자 > 의 순으로 페놀 함량이 높았다. 초피 추출물은  $0.124 \pm 0.008 \text{mg/ml}$ 로 높은 페놀함량을 나타냈고  $0.115 \pm 0.001 \text{mg/ml}$ 인 소목은 평균적으로 비슷한 함량을 나타냈으나 유의적인 차이를 보였고 어성초·계피, 구기자·감초, 천궁·마두령·오미자 순으로 서로 비슷한 유의적인 차이를 보였다. MeOH에서는 계피 > 소목 > 초피 > 어성초 > 감초 > 천궁 > 구기자 > 마두령 > 오미자의 순으로 평균적으로 높게 나타났고 각 시료간의 유의성을 보면 계피가  $0.110 \pm 0.007 \text{mg/ml}$ , 소목이  $0.108 \pm 0.004 \text{mg/ml}$ , 초피  $0.100 \pm 0.006 \text{mg/ml}$ 로 높게 나타났고 어성초는  $0.085 \pm 0.007 \text{mg/ml}$ 로 유의적인 차이가 있었다. 어성초 추출물과 감초 추출물과는 차이가 없었으며 천궁·구기자·마두령과는 큰 유의적인 차이를 보였으며 특히, 오미자와는 뚜렷한 차이를 보여 가장 낮은 페놀 함량을 나타내었다. 용매별로 비교해보면 초피 Ethanol추출물에서  $0.124 \pm 0.008 \text{mg/ml}$ , 소목 Ethanol추출물에서  $0.115 \pm 0.001 \text{mg/ml}$ , 계피 MeOH추출물이  $0.110 \pm 0.007 \text{mg/ml}$ 로 MeOH 추출물보다는 Ethanol추출물에서 높게 나타나는 경향이 있고 추출수율에 따른 페놀함량을 비교해 보면 추출수율이 가장 높았던 마두령은 페놀 함량이 비교적 낮았고 추출수율이 낮았던 초피 추출물은 페놀함량이 여러 추출물 중에서 가장 높았다. 추출수율이 높다고 해서 페놀함량이 높은 것은 아니었다.

Table 3. The total phenolic contents of various medicinal herbal extracts

| Medicinal Plant              | Phenolic Content (mg/ml) |                          |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                              | EOH <sup>1)</sup>        | MeOH <sup>2)</sup>       |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | $0.065 \pm 0.001^{3)e}$  | $0.068 \pm 0.003^{c,d}$  |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | $0.092 \pm 0.004^c$      | $0.085 \pm 0.007^{b,d)}$ |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | $0.0124 \pm 0.008^a)$    | $0.100 \pm 0.006^b)$     |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | $0.092 \pm 0.002^c)$     | $0.110 \pm 0.007^a)$     |
| <i>Lycium chinense</i>       | $0.076 \pm 0.004^d)$     | $0.072 \pm 0.002^{c,d)}$ |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | $0.115 \pm 0.001^b)$     | $0.108 \pm 0.004^a)$     |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | $0.076 \pm 0.002^d)$     | $0.079 \pm 0.006^{b,c)}$ |
| <i>Cnidium officinale</i>    | $0.066 \pm 0.002^e)$     | $0.074 \pm 0.002^{c,d)}$ |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | $0.065 \pm 0.004^e)$     | $0.063 \pm 0.004^d)$     |

1) EOH : 70% ethanol extract

2) MeOH : 70% methanol extract

3) Mean  $\pm$  SD

4) Value are means of replicates and those with different alohabet letters are significantly different at  $p < 0.05$

(3) 각종 한약재 추출물의 전자공여 작용

① 용매별 전자공여 작용

전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고 있을 뿐만 아니라, 인체내에서 활성라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 목적으로 이용되고 있다<sup>(48)</sup>. 각종 한약재 추출물의 전자공여 작용을 살펴 본 결과 Table 4와 같다. 각종 한약재 추출물의 Ethanol추출물은 유의적으로 뚜렷한 큰 차이를 보여 초피의 효과가  $48.64 \pm 0.601\%$ 로 가장 높게 나타났으며 계피  $47.40 \pm 0.530\%$ , 구기자  $45.74 \pm 0.438\%$ , 소목  $41.65 \pm 0.042\%$ 로  $38.97 \pm 0.064\%$ 인 합성 항산화제 BHA보다 공여능이 높았고  $13.34 \pm 0.495\%$ 인  $\alpha$ -tocopherol보다는 3배 가량의 공여능을 보였다. 감초, 천궁, 어성초 Ethyl ether추출물도 20%이상의 공여능을 보였고  $\alpha$ -tocopherol보다 높았다. MeOH추출물은 초피의 효과가  $55.70 \pm 0.311\%$ 로 가장 높게 나타났으며 Ethanol추출물보다 공여능이 우수하였다. 계피는  $46.34 \pm 0.014\%$ 로 Ethanol추출물과 비슷하였고 Ethanol추출물에서는 우수하였던 구기자 추출물이 MeOH에서는 약간의 공여능도 보이지 않았다. 소목MeOH추출물은  $43.76 \pm 0.035\%$ 로 비슷하였고 마두령, 어성초, 천궁 MeOH추출물은 20%이하의 공여능을 보였고 구기자와 감초, 오미자 MeOH추출물은 공여능이 나타나지 않았다. 초피 > 계피 > 소목 > BHA > 마두령 > 어성초 >  $\alpha$ -tocopherol > 천궁 순으로 유의적인 차이를 보였다.

Table 4. Electron donating abilities(EDA) of various medicinal herbal extracts

| Medicinal Plant              | Electron donating abilities (%) |                          |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
|                              | EOH <sup>1)</sup>               | MeOH <sup>2)</sup>       |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | $15.45 \pm 0.057^{3h)}$         | $18.62 \pm 0.863^{e)4)}$ |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | $20.12 \pm 0.014^h)$            | $16.80 \pm 0.099^i)$     |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | $48.94 \pm 0.601^a)$            | $55.70 \pm 0.311^a)$     |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | $47.40 \pm 0.530^b)$            | $46.34 \pm 0.014^b)$     |
| <i>Lycium chinense</i>       | $45.74 \pm 0.438^c)$            | 0 <sup>j)</sup>          |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | $41.65 \pm 0.042^d)$            | $43.76 \pm 0.035^c)$     |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | $32.99 \pm 0.120^f)$            | 0 <sup>j)</sup>          |
| <i>Cnidium officinale</i>    | $22.53 \pm 0.219^g)$            | $9.825 \pm 0.389^h)$     |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | 0 <sup>k)</sup>                 | 0 <sup>j)</sup>          |
| BHA                          | $38.97 \pm 0.064^e)$            | $38.97 \pm 0.064^d)$     |
| $\alpha$ -tocopherol         | $13.34 \pm 0.495^j)$            | $13.34 \pm 0.495^k)$     |

1) EOH : 70% ethanol extract

2) MeOH : 70% methanol extract

3) Mean  $\pm$  SD

4) Value are means of replicates and those with different alohabet letters are significantly different at  $p < 0.05$

② 페놀 함량과 전자공여 작용과의 상관관계

Table 4에서 살펴본 바와 같이 전자공여능과 페놀함량과의 상관관계는 Table 5와 같다. 전자공여능이 높았던 초피, 계피, 구기자, 소목 Ethanol추출물 순으로 비교해보니 대부분 공여능이 높았던 추출물들이 페놀 함량도 높은 경향을 띄었다. MeOH추출물에서도 계피, 소목, 초피순으로 페놀함량이 높았고 전자공여능은 초피, 계피, 소목순으로 BHA보다 40~50%공여능을 나타내어 천연 식물 추출물이 산화 방지보존제로서 유용성이 높게 나타났다. Ethanol추출물 MeOH추출물 모두 다 페놀함량에 비례하는 것으로 나타났다.

Table 5. Correlatation of Phenolic Content and Electron donating ability

| Medicinal Plant              | Phenolic Content (mg/ml)   |                           | Electron donating abilities (%) |             |
|------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------|
|                              | EOH <sup>1)</sup>          | MeOH <sup>2)</sup>        | EOH                             | MeOH        |
|                              | <i>Polygonum ariculare</i> | 0.065±0.001 <sup>3)</sup> | 0.068±0.003                     | 15.45±0.057 |
| <i>Houttuynia cordata</i>    | 0.092±0.004                | 0.085±0.007               | 20.12±0.014                     | 16.80±0.099 |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 0.124±0.008                | 0.100±0.006               | 48.94±0.601                     | 55.70±0.311 |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | 0.092±0.002                | 0.110±0.007               | 47.40±0.530                     | 46.34±0.014 |
| <i>Lycium chinense</i>       | 0.076±0.004                | 0.072±0.002               | 45.74±0.438                     | 0           |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | 0.115±0.001                | 0.108±0.004               | 41.65±0.042                     | 43.76±0.035 |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 0.076±0.002                | 0.079±0.006               | 32.99±0.120                     | 0           |
| <i>Cnidium officinale</i>    | 0.066±0.002                | 0.074±0.002               | 22.53±0.219                     | 9.825±0.389 |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | 0.065±0.004                | 0.063±0.004               | 0                               | 0           |
| BHA                          |                            |                           | 38.97±0.064                     |             |
| $\alpha$ -tocopherol         |                            |                           | 13.34±0.495                     |             |

1) EOH : 70% ethanol extract

2) MeOH : 70% methanol extract

3) Mean ± SD



③ 시간에 따른 각종 추출물의 전자공여능 변화

시간에 따른 각종 추출물의 공여능 흡광도 변화를 살펴보면 계피 Ethanol추출물이 1.5 absorbance 근처에서 가장 크게 작용을 보이며 계피, 소목, 구기자 추출물이 1.5~2.0사이에서 반응했다. MeOH추출물도 DPPH의 흡광도 변화가 2.5~3.0 근처에서 작용하는 것과는 달리 초피, 계피, 구기자 추출물은 1.0~1.9사이에서 뚜렷한 흡광도 변화를 보였고 구기자 Ethanol추출물이 높은 반면, MeOH추출물은 아무런 흡광도 변화가 나타나지 않았다. 특히, 공여능이 높은 추출물에서 시간에 따른 흡광도 변화가 뚜렷하게 반응하는 것을 볼 수 있다.

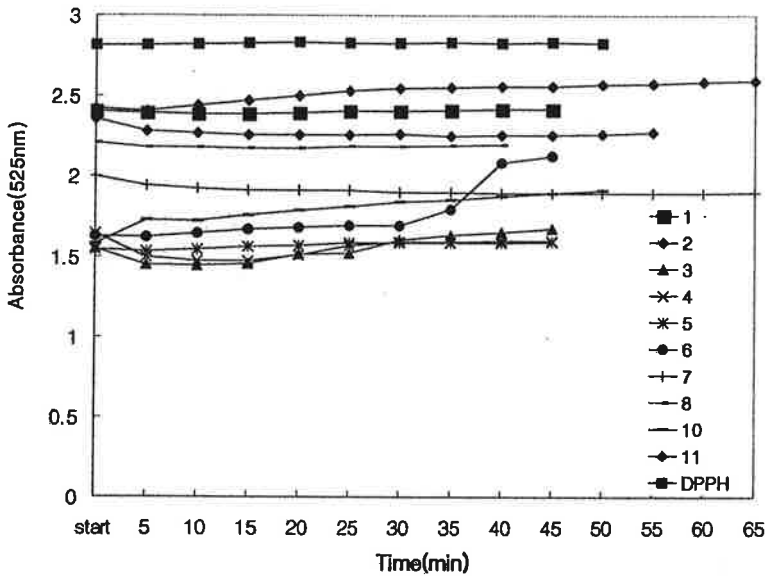


Fig 1. Change of absorbance by hydrogen donating ability of various Ethanol extracts

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

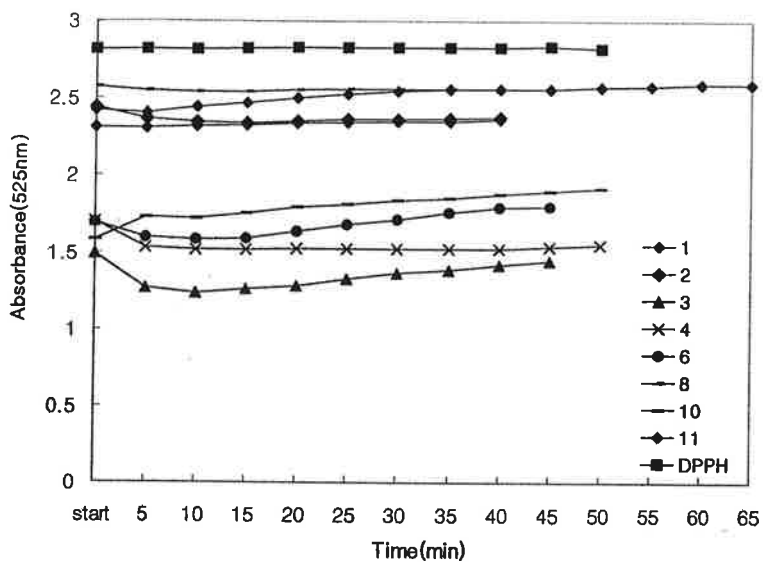


Fig 2. Change of absorbance by hydrogen donating ability of various Methanol extracts

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

(4) 각종 한약재 추출물의 항산화 효과

① Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 측정

특정 카아보닐 화합물의 하나인 말론 알데하이드(malonaldehyde)가 2-사이오바아비츄린산(2-thiobarbituric acid)과 빨간색의 복합체를 형성하며, 이 빨간색의 강도는 말론 알데하이드의 형성량과 밀접한 관계를 가지고 있다.

각각의 한약재의 항산화 효과를 알데하이드 형성량으로 살펴보면 Table 6과 같다. Ethanol추출물은 계피가  $0.58 \pm 0.014 \mu\text{M}$ 의 농도로서 합성 항산화제인 BHA보다 유의적으로 항산화 효과가 컸고 초피와  $\alpha$ -tocopherol은  $1.64 \pm 0.078 \mu\text{M}$ ,  $1.71 \pm 0.028 \mu\text{M}$  평균적으로 차이가 있으나 유의적으로 비슷한 항산화 효과를 가진다고 나타났다. 어성초보다는 소목 추출물이 항산화 효과가 높았고 오미자·감초는 비슷한 유의적 효과를 보였고 구기자 > 마두령 > 천궁 순으로 특히 천궁은  $9.68 \pm 0.134 \mu\text{M}$ 로 가장 큰 유의적인 차이를 보여 항산화 효과가 가장 낮은 것을 복수 있었다. MeOH추출물은 BHA농도가 가장 낮아 항산화 효과가 큰 것으로 나타났고 농도가  $1.20 \pm 0.042 \mu\text{M}$ 인 계피,  $1.37 \pm 0.113 \mu\text{M}$ 인 소목은 BHA 다음으로 유의적으로 항산화 효과가 높게 비슷하게 나타났으며 초피는  $1.62 \pm 0.021 \mu\text{M}$ 로 소목·계피 추출물과는 차이가 있었으나  $1.71 \pm 0.028 \mu\text{M}$ 인  $\alpha$ -tocopherol보다 항산화 효과가 좋게 나타났고 감초 > 어성초 > 마두령 > 오미자 > 천궁 > 구기자순으로 항산화 효과를 보였다.

Table 6. MDA value of various plant extracts

| Medicinal Plant              | TBARS(MDA)( $\mu\text{M}$ ) |                         |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                              | EOH <sup>1)</sup>           | MeOH <sup>2)</sup>      |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | $6.45 \pm 0.191^{3/h)}$     | $5.04 \pm 0.092^{g/4)}$ |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | $2.87 \pm 0.064^{e)}$       | $2.82 \pm 0.099^{f)}$   |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | $1.64 \pm 0.078^{c)}$       | $1.62 \pm 0.021^{c,d)}$ |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | $0.58 \pm 0.014^{a)}$       | $1.20 \pm 0.042^{b)}$   |
| <i>Lycium chinense</i>       | $5.80 \pm 0.233^{g)}$       | $7.43 \pm 0.170^{j)}$   |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | $2.40 \pm 0.099^{d)}$       | $1.37 \pm 0.113^{b,c)}$ |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | $5.10 \pm 0.028^{f)}$       | $2.57 \pm 0.007^{e)}$   |
| <i>Cnidium officinale</i>    | $9.68 \pm 0.134^{i)}$       | $6.65 \pm 0.262^{j)}$   |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | $5.32 \pm 0.057^{f)}$       | $6.30 \pm 0.064^{h)}$   |
| BHA                          | $0.095 \pm 0.042^{b)}$      | $0.095 \pm 0.042^{a)}$  |
| $\alpha$ -tocopherol         | $1.71 \pm 0.028^{c)}$       | $1.71 \pm 0.028^{d)}$   |

1) EOH : 70% ethanol extract 2) MeOH : 70% methanol extract 3) Mean  $\pm$  SD

4) Value are means of replicates and those with different alohabet letters are significantly different at  $p < 0.05$

② 과산화물(peroxide value)의 측정

50°C 항온기에서 23일간 저장하며 linoleic acid에 대한 각각의 추출물의 항산화 효과를 검토한 결과는 Fig 3과 같다. Control과 비교하여 합성 항산화제인 BHA,  $\alpha$ -tocopherol이 서서히 산화 효과를 보여 12일째 11.2meq/kg, 6.8meq/kg에 도달했고 12일 이후에는 급격히 증가하여 64.8meq/kg, 60meq/kg을 나타냈다. Ethanol추출물은 마두령 추출물이 23일째 69.6meq/kg으로 BHA,  $\alpha$ -tocopherol과 비슷했고 마두령 외의 추출물들은 23일째 90meq/kg을 넘어 산화정도가 컸다. MeOH추출물은 오미자가 81.6meq/kg으로 가장 산화 정도가 적었고 특히, Ethanol추출물은 60meq/kg되는 저장일수가 9~20일정도였으며 MeOH추출물은 12~20일 정도로 MeOH추출물이 산화 억제 효과가 있는 것으로 나타났다.

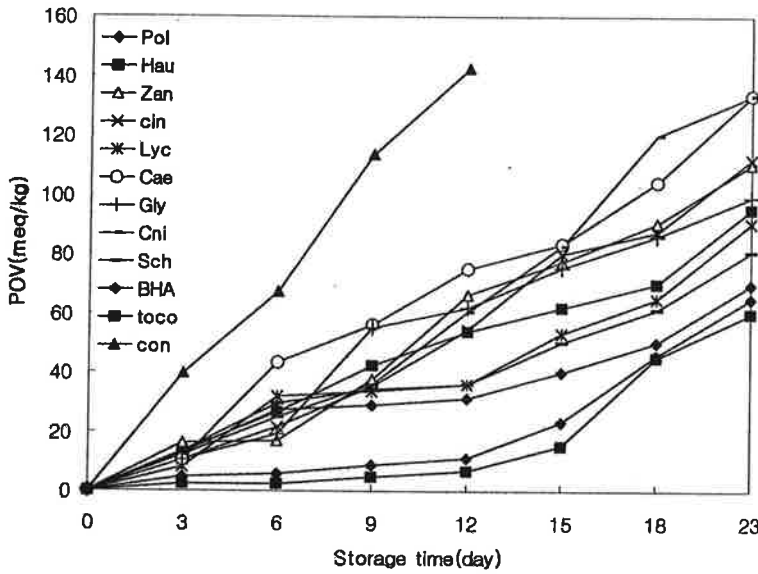


Fig 3. Change of peroxide values of Ethanol extracts during storage at 50°C

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

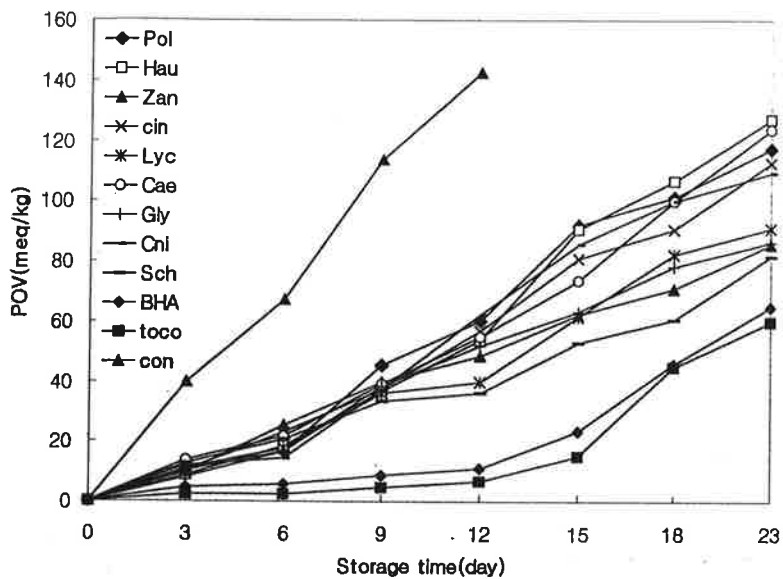


Fig 4. Change of peroxide values of Methanol extracts during storage at 50°C

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

### ③ 각종 한약재 추출물의 아질산염 소거능

#### ● pH에 따른 아질산염 소거능

각 시료의 Ethanol, MeOH의 9가지 추출물의 pH에 따른 아질산염 소거능은 Fig 5~Fig 10에 나타난 바와 같다. Fig 5를 보면 농도가 1mg/ml인 Ethanol추출물에서 BHA가 아질산염 소거능이 가장 우수하였으며 pH 3.0, pH4.2, pH6.0보다는 pH1.2에서 가장 큰 소거능을 보였다. Ethanol추출물 pH1.2에서는 마두령 > 초피 > 소목 > 오미자 > 계피 > 감초 >  $\alpha$ -tocopherol > 구기자 > 천궁 > 어성초순으로 나타났다. Fig 6 농도가 1mg/ml인 MeOH 추출물에서도 pH 1.2가 가장 높은 소거능을 보였고 BHA > 소목 > 오미자 > 구기자 > 계피 > 감초 > 천궁 > 초피 >  $\alpha$ -tocopherol > 어성초 > 마두령순으로 나타났다. Ethanol추출물에서 높은 소거능을 보였던 마두령과 초피 추출물은 MeOH추출 상태에서는 낮은 소거능을 보였고 Ethanol추출물에서 낮은 소거능을 보였던 구기자, 천궁 추출물은 MeOH추출 상태에서는 높은 소거능을 보였다. Fig 7과 Fig 8을 보면 농도가 3mg/ml인 Ethanol 추출물에서는 69.18%를 보인 초피 추출물이 67.65%인 BHA보다 높은 소거능을 나타냈고 계피 > 소목 > 구기자 > 감초 > 어성초 > 오미자 > 천궁 > 마두령 >  $\alpha$ -tocopherol 순으로 합성 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol보다는 모두 높은 소거능을 나타냈다. MeOH추출물에서는 67.65%인 BHA와 67%인 초피가 비슷한 소거능을 보였고 소목 > 계피 > 구기자 > 어성초 > 마두령 > 천궁 > 감초 > 오미자 >  $\alpha$ -tocopherol 순으로 Ethanol 추출물, MeOH추출물 모두 비슷한 소거능을 나타냈다. Fig 9과 Fig 10을 보면 농도가 5mg/ml인 Ethanol 추출물에서는 초피가 83.67%로 67.65%인 BHA보다 높은 소거능을 보였고 소목 > 계피 > 구기자 > 천궁 > 어성초 > 감초 > 오미자 >  $\alpha$ -tocopherol > 마두령순으로 소거능을 보였고 MeOH 추출물에서는 77.01%인 초피, 72.39%인 소목 추출물이 BHA보다 우수한 소거능을 보였고 계피 > 오미자 > 구기자 > 어성초 > 천궁 >  $\alpha$ -tocopherol > 감초 > 마두령순으로 나타났다. 대체적으로 Ethanol 추출물과 MeOH추출물은 비슷한 소거능을 보이는 것으로 나타났다.

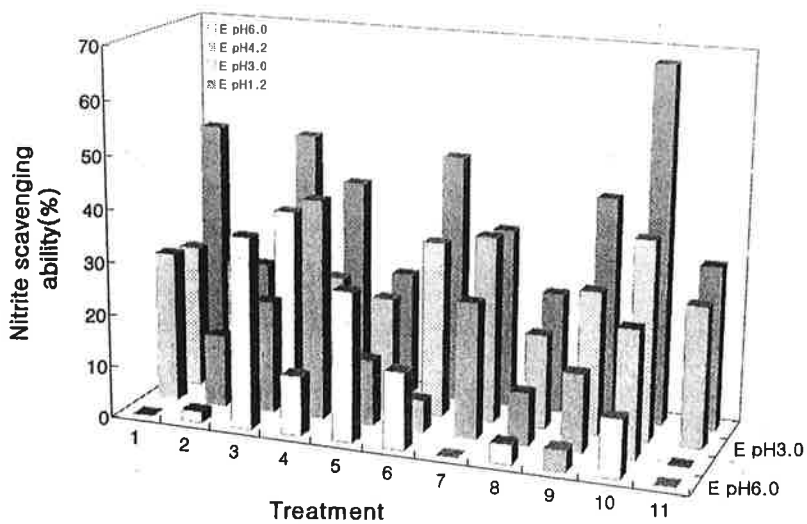


Fig 5. Nitrite scavenging ability of Ethanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(1mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

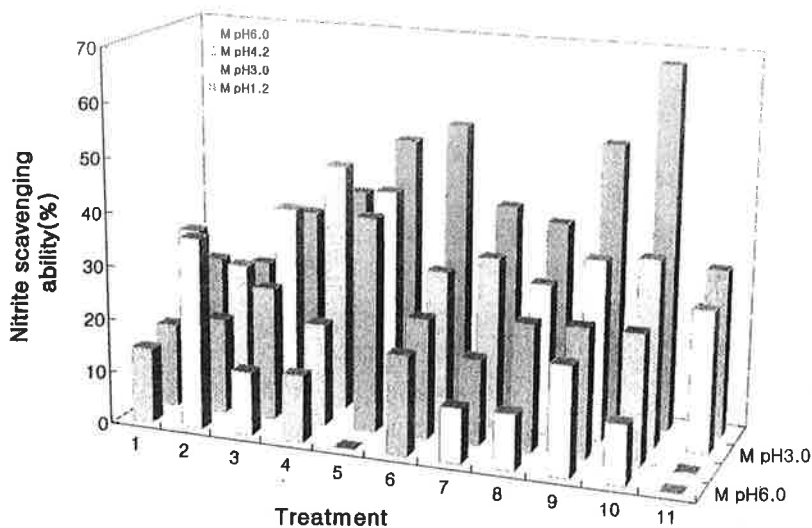


Fig 6. Nitrite scavenging ability of Methanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(1mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttynia cordata</i>  |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |



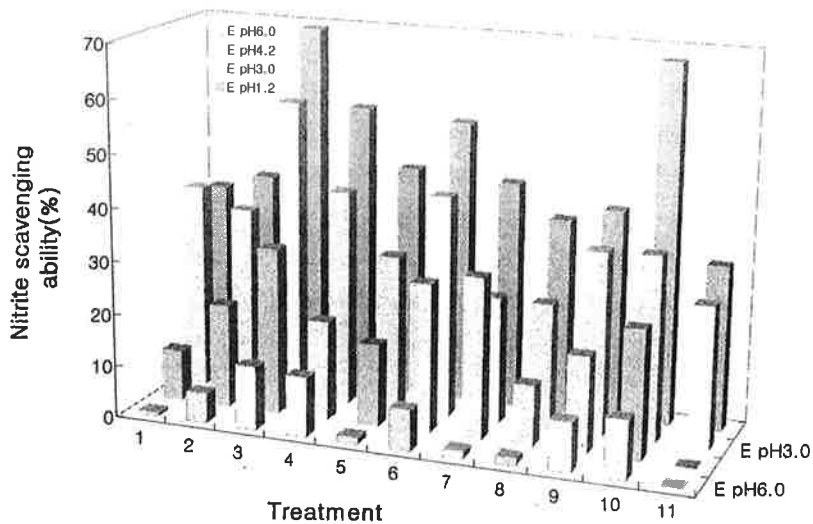


Fig 7. Nitrite scavenging ability of Ethanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(3mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM α-tocopherol         |                               |

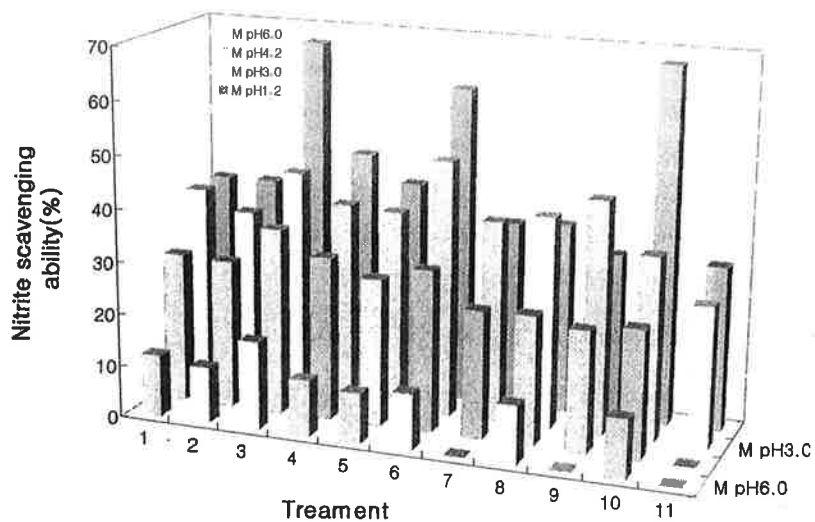


Fig 8. Nitrite scavenging ability of Methanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(3mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

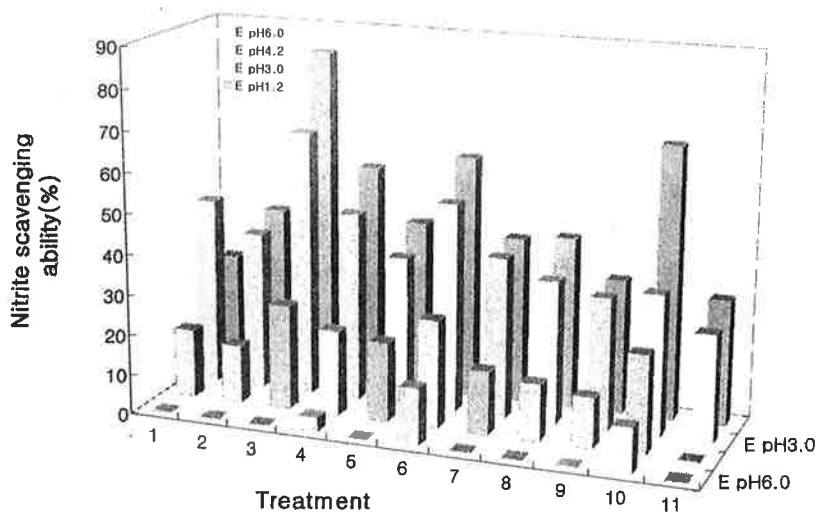


Fig 9. Nitrite scavenging ability of Ethanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(5mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

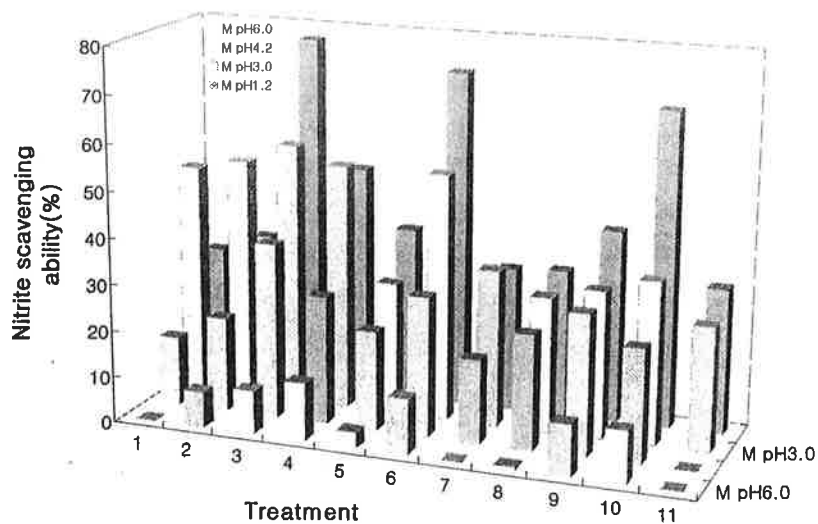


Fig 10. Nitrite scavenging ability of Methanol extracts from medicinal herbals with pH1.2, pH3.0, pH4.2, pH6.0(3mg/ml)

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

● 농도에 따른 아질산염 소거능

농도가 다른 각 시료 추출물의 아질산염 소거능을 알아본 결과는 Fig 11~Fig 12와 같다. 위에서 pH에 따른 아질산염 소거능을 살펴본 결과 pH 1.2에서 소거능이 우수하였으므로 농도가 일정한 1mg/ml, 3mg/ml, 5mg/ml Ethyl eter, MeOH추출물들을 pH1.2 상태에서 비교 하였다. Fig 11을 살펴본 결과 어성초는 5mg/ml 농도에서, 초피 5mg/ml, 소목 5mg/ml, 천궁 5mg/ml 농도에서 높은 소거능을 보였고 마두령과 오미자는 1mg/ml의 농도에서 계피와 구기자, 감초는 3mg/ml 농도에서 우수한 소거능력이 있음이 입증되었다. Fig 12에 나타나 있는 것과 같이 MeOH추출물들은 초피와 계피, 소목이 5mg/ml에서 높은 소거능을 보였고 마두령, 어성초는 3mg/ml에서 구기자, 감초는 1mg/ml에서 천궁은 1.3mg/ml에서 소거능을 보였다. 위에서 알아본 바와 같이 각종 추출물의 아질산염 소거능은 농도의 증가에 따라 소거능도 비례적으로 증가하는 경향을 보였다.

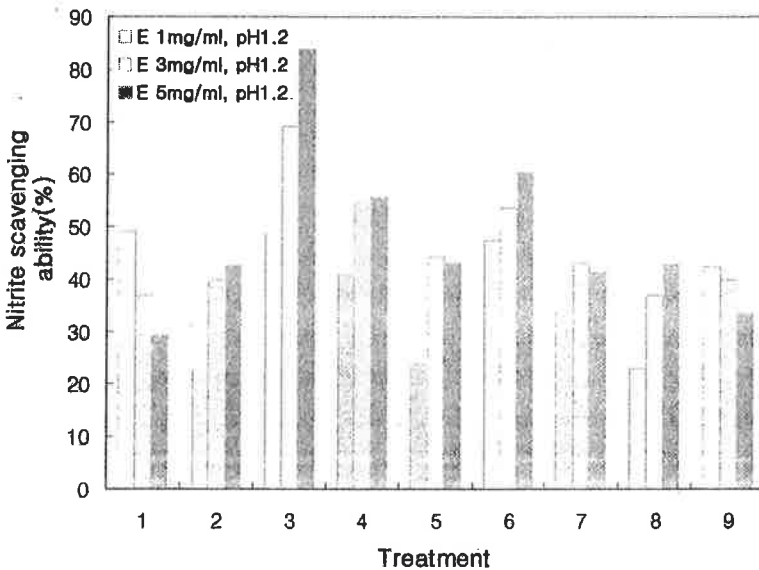


Fig 11. Nitrite scavenging ability of Ethanol extracts from medicinal herbals under different concentrate with equal pH1.2condition

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

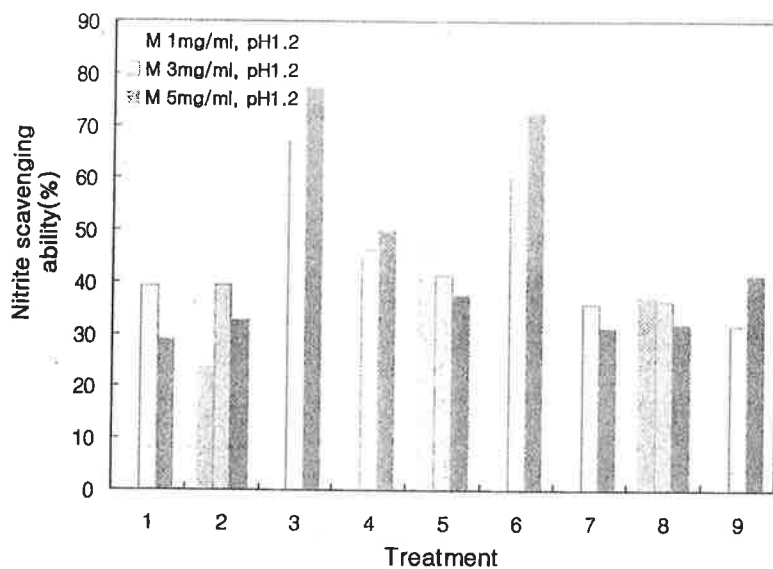


Fig 12. Nitrite scavenging ability of Methanol extracts from medicinal herbals under different concentrate with equal pH1.2condition

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

● 한약재 추출물의 두 시료간의 Synergist 효과

위의 1), 2)에서 언급한 것과 같이 각종 한약재 추출물의 아질산염 소거능은 pH1.2 상태에서 농도가 증가할수록 소거능이 우수한 것으로 입증 되었다. 농도가 일정한 각각의 3mg/ml, 5mg/ml의 농도 추출물을 방법을 약간 변형하여 두 시료의 부피를 같게하여 synergist효과를 알아본 결과 Fig 13~Fig 20과 같다. pH1.2 상태에서 농도가 3mg/ml인 Fig 13을 보면 소거능이 우수하였던 초피, 계피, 소목 Ethanol추출물을 첨가시 소거능이 가장 우수하였던 초피의 소거능에는 미치지 못하지만 마두령 단일의 소거능보다 각각의 초피, 계피, 소목 추출물 첨가시 synergist 효과가 있는 것으로 나타났다. 소거능이 가장 우수하였던 초피 첨가시 모든 시료의 synergist 효과가 높았고 특히, 추출물 8번인 천궁·초피 소거능이 57.16%로 37.02%인 천궁 소거능 보다 약 20% 증가 했고 마두령·초피 > 오미자·초피 > 어성초·초피순으로 각각의 추출물이 초피와의 synergist 효과를 보였다. 초피 다음으로 소거능이 우수했던 소목과의 synergist 효과를 살펴보면 37.01% 소거능을 보인 천궁 추출물보다 약 10%증가한 47%인 천궁·소목 반응물이 증가된 소거능을 보였고 어성초·소목 > 마두령·소목이 synergist 효과가 입증되었고 43.05% 소거능을 보인 오미자는 소목과 반응시 32.90%로 소거능이 떨어져 synergist 효과를 얻지 못했다. 특히 단일 반응물로서 소거능이 우수하였던 계피와 소목과의 synergist 효과를 살펴 본 결과 54.77%에서 52.54%로 소거능이 약해지는 것을 볼 수 있었다. 초피, 계피 다음으로 소거능이 우수하였던 계피와의 synergist 효과를 살펴보면 39.70%인 오미자 소거능이 오미자·계피에서 49.70%로 가장 높은 synergist 효과를 보였고 마두령·계피 > 감초·계피가 약 7%정도 synergist를 보였다. 어성초·계피, 구기자·계피, 천궁·계피는 소거능이 비슷하여 synergist 효과가 없는 것으로 입증되었고 소거능이 가장 우수한 초피에 계피 반응시 약 8%이하로, 소목에 계피 반응시 10%이하로 소거능이 떨어짐을 구분할 수 있었다. Fig 14를 보면 위에서 언급한 초피의 synergist 효과에서 마두령·초피의 소거능은 53.96%이나 마두령·구기자의 소거능은 56.95%로 초피의 synergist 효과보다 구기자의 synergist 효과가 마두령에서는 있음이 입증되었다. 40%이상의 소거능을 보였던 구기자와 감초는 구기자·감초 반응물로서 반응시 23.55%로 약2배 정도의 소거능 저하가 나타났다. 농도가 5mg/ml인 ethanol의 synergist 효과는 Fig 15, 16에 나타나 있는 것과 같다. 위의 2)에서 언급한 것과 같이 농도가 짙을수록 소거능의 synergist 효과도 증가했다. 농도가 3mg/ml일 때 보다 5mg/ml이 단일 추출물 소거능도 높았을 뿐 아니라 synergist 첨가시 소거능도 높았다. 5mg/ml농도에서 소거능이 낮은 마두령은 소거능이 83.67%인 초피 첨가시 2배 이상 높은 61.95%의 소거 능력을 보였고 대부분 계피, 소목 첨가시 예도 높은 소거 능력을 나타냈다. 다만 소거능이 우수한 초피는 여러 추출물과 synergist 반응시 모두 떨어지는 경향을 나타냈고 특히, 감초와 반응시 83.67% 소거능이 약 1/3배인 28.91%의 소거 활성을 나타냈다. 감초 단일 반응물도 소목, 어성초, 구기자와 반응의에는 synergist 효과가 급격히 떨어졌고 특히 단일 소거능이 우수한 계피, 초피와 반응시 synergist 효과가 없었으므로 5mg/ml 농도에서 감초 Ethanol추출물은 synergist로서 효과가 없음이 입증되었다. 천궁, 오미자 추출물도 초피, 계피, 소목 외에는 소거능이 떨어지는 경향을 보였다. MeOH추출물의 synergist 효과는 Fig 17~Fig 20과 같다. 농도가 3mg/ml인 MeOH의 synergist 효과를 살펴보면 Fig 17, 18에서 나타난 것과 같이 단일 반응시 소거능이 우수하였던 초피, 계피, 소목 추출물들은 여러 추출물들과 반응시 모두 synergist 효과가 떨어졌다. 특히 단일 반응시 소거능이 39.20%인 마두령, 35.68%인 감초, 36.35%인 천궁은 synergist 효과를 알아보기 위하여 반응시킨 결과 마두령·감초

는 21.47%의 소거능을 마두령·천궁은 36.35%를 나타내 소거능이 급격히 떨어졌고 감초·천궁은 41.30%으로 증가하였으므로 천궁 감초에 마두령은 synergist 효과가 없음이 입증되었다. Ethanol에서 알아본 것과 같이 농도가 일정하게 증가된 5mg/ml에서 synergist 효과를 알아본 결과는 Fig 19, 20과 같다. 앞에서 말한 것과 같이 초피, 계피, 소목은 3mg/ml에서보다 소거능이 높게 나타났고 또한 여러 추출물과 반응시 모두 synergist 효과가 떨어졌다. 이 세 추출물을 제외한 여러 추출물들이 단일 소거능이 높은 초피, 계피, 소목과 반응시 모두 소거능이 향상되었고 특히, 감초·소목 반응시 31.14%에서 약 2배인 64.93%로 천궁·소목은 31.81%에서 59.58%로 향상되었다. 마두령·감초 반응시 소거능은 19.12%의 소거능을 마두령·구기자 19.4%, 마두령·천궁은 25.23%의 낮은 소거능을 보여 단일 반응시 소거능이 낮았던 마두령 28.78%, 37.54%의 구기자 31.14%인 감초, 31.82%인 천궁은 서로 synergist 효과가 없음이 입증되었다.

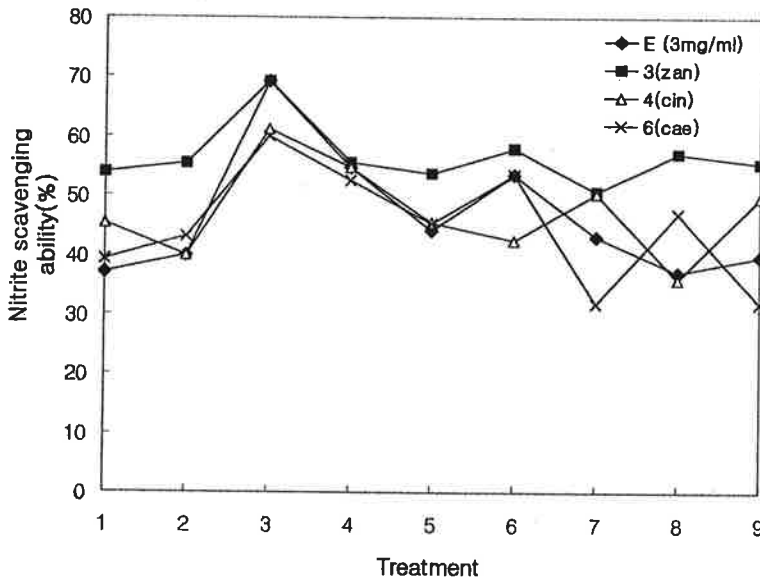


Fig 13. Nitrite scavenging ability of the two mixed Ethanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 3mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |



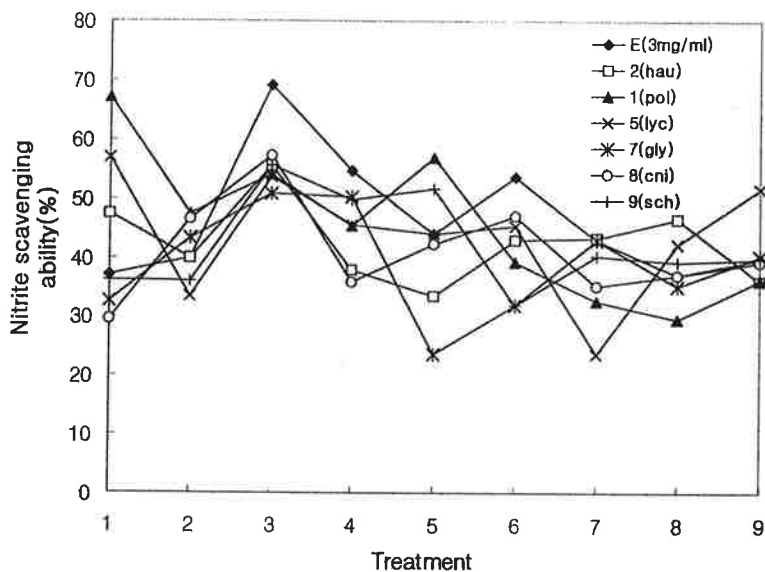


Fig 14. Nitrite scavenging ability of the two mixed Ethanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 3mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

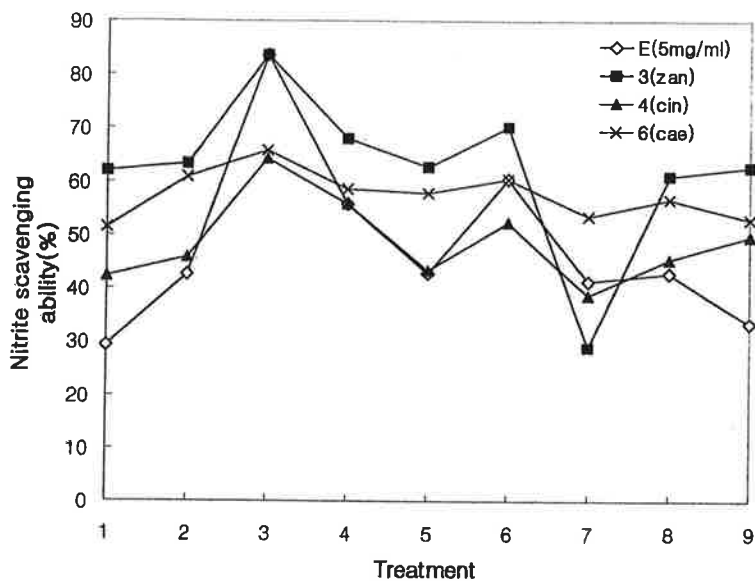


Fig 15. Nitrite scavenging ability of the two mixed Ethanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 5mg/ml

- |                                  |                                |
|----------------------------------|--------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauத்துynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>   |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i>  |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i>  |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA                |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                                |

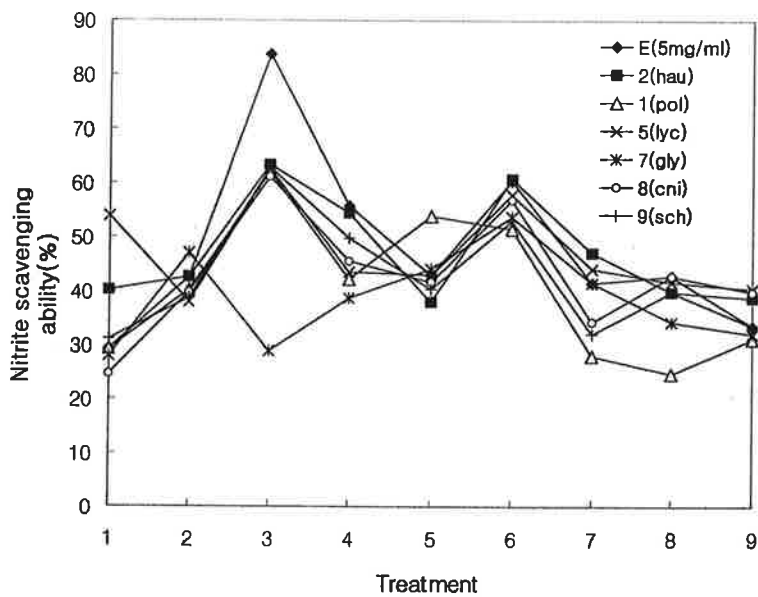


Fig 16. Nitrite scavenging ability of the two mixed Ethanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 5mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

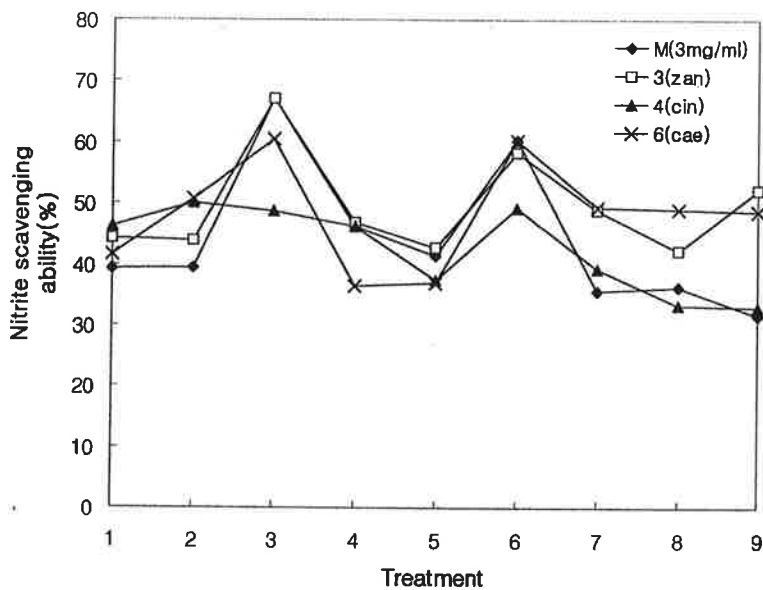


Fig 17. Nitrite scavenging ability of the two mixed Methanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 3mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Houttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

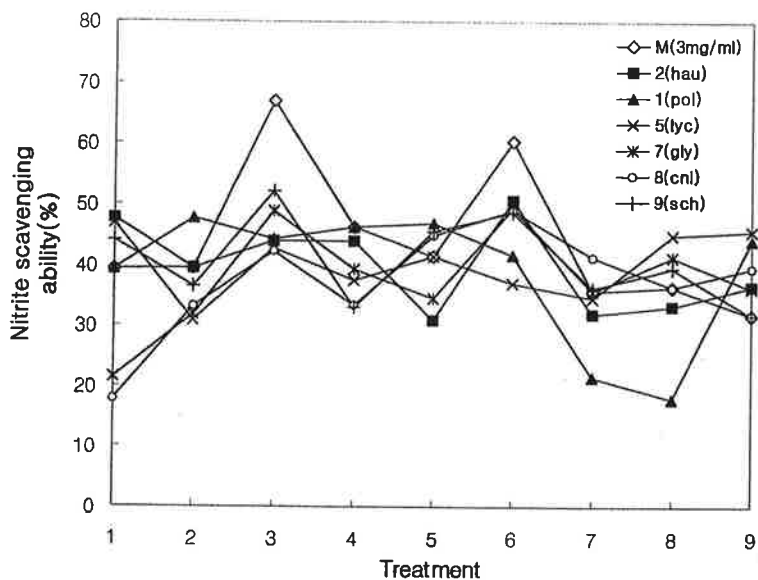


Fig 18. Nitrite scavenging ability of the two mixed Methanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 3mg/ml

- |                                  |                                |
|----------------------------------|--------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauத்துynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>   |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i>  |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i>  |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA                |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                                |

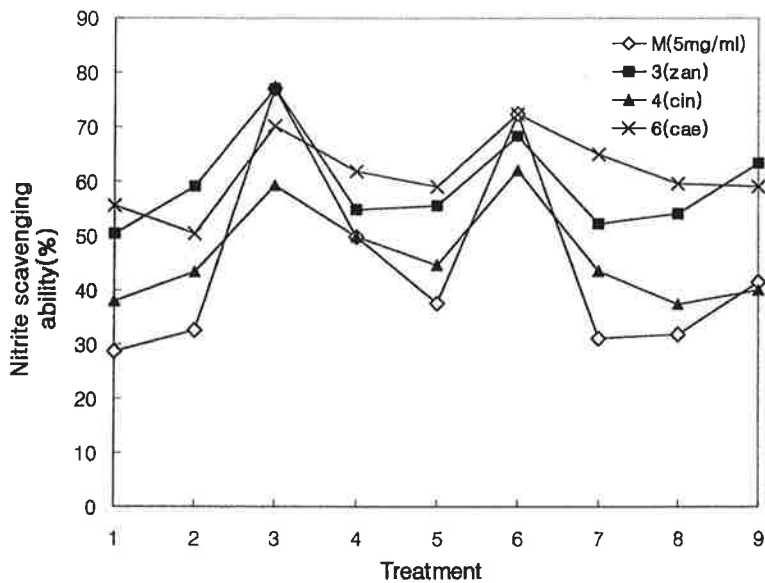


Fig 19. Nitrite scavenging ability of the two mixed Methanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 5mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

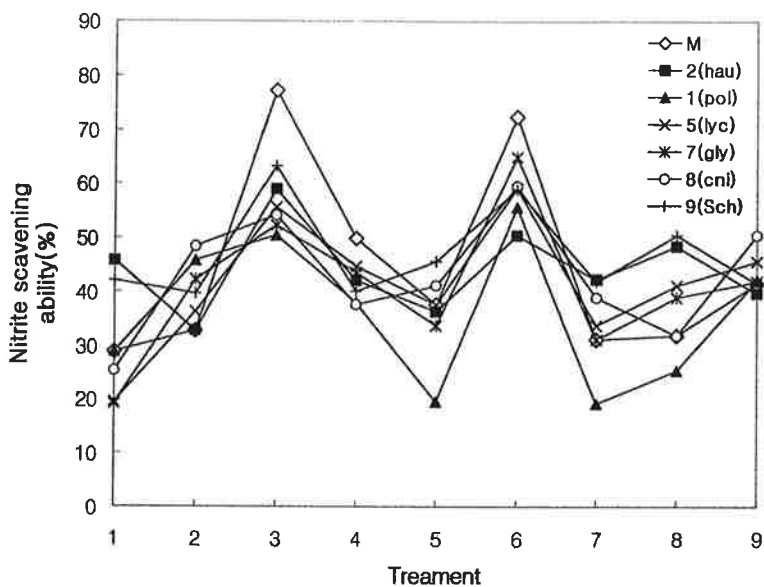


Fig 20. Nitrite scavenging ability of the two mixed Methanol extracts of each medicinal herbal with the solid content of 5mg/ml

- |                                  |                               |
|----------------------------------|-------------------------------|
| 1 : <i>Polygonum ariculare</i>   | 2 : <i>Hauttuynia cordata</i> |
| 3 : <i>Zanthoxylum piperitum</i> | 4 : <i>Cinnamomum cassia</i>  |
| 5 : <i>Lycium chinense</i>       | 6 : <i>Caesalpinia sappan</i> |
| 7 : <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | 8 : <i>Cnidium officinale</i> |
| 9 : <i>Schizandra chinensis</i>  | 10 : 0.05mM BHA               |
| 11 : 0.05mM $\alpha$ -tocopherol |                               |

#### ④ 각종 한약재 추출물의 항균 작용

각종 한약재 추출물의 병원성 미생물에 대한 균 성장 저해 효과는 Table 6, 7에 나타난 것과 같다. 모든 Ethanol추출물은 gram양성인 *Bacillus subtilis*에서 항균활성을 보이고 특히, 계피 Ethanol추출물이 clear zone이 35mm로 강한 활성을 보였다. Ethanol추출물은 오미자 > 마두령 > 소목 > 어성초 > 초피 > 감초 > 구기자 순이었고 천궁은 항균활성이 보이지 않았다. D·W추출물은 계피 > 오미자 > 소목 > 감초 > 구기자 순으로 나타났다. 세균성 gram음성균인 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Escherichia coli*는 각각 소목 Ethanol추출물이 10mm, 계피 Ethanol추출물이 9mm의 clear zone이 나타났고 어성초와 계피 D·W추출물만이 *Pseudomonas aeruginosa*에 항균 활성을 보였다. *Escherichia coli*에서는 오미자, 계피 Ethanol· D·W추출물에서 활성이 보였고 소목은 Ethanol에서만 보였다. gram양성균인 *Staphylococcus aureus*는 소목 Ethanol· D·W추출물에서 20mm, 16mm clear zone이 형성되었고 마두령 D·W추출물, 계피 Ethanol, 오미자 두 추출물에서 활성이 나타났다. 진균인 *Candida albicans*과 곰팡이균인 *Aspergillus niger*는 계피 두 추출물과 초피 Ethanol에서만 항균활성을 나타냈다.



Table 6. Antimicrobial activity of various medicinal herbal extracts by disc diffusion method

| Extracts                     | solvent           | Micro organism species |                  |                    |
|------------------------------|-------------------|------------------------|------------------|--------------------|
|                              |                   | <i>Pseudomona</i>      | <i>Bacillus</i>  | <i>Escherichia</i> |
|                              |                   | <i>aeruginosa</i>      | <i>subtilis</i>  | <i>coli</i>        |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | EOH <sup>1)</sup> | -                      | 20 <sup>3)</sup> | - <sup>4)</sup>    |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | DW <sup>2)</sup>  | -                      | -                | -                  |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | EOH               | -                      | 10               | -                  |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | DW                | 9                      | -                | -                  |
| <i>Lycium chinense</i>       | EOH               | -                      | -                | -                  |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | DW                | -                      | 9                | -                  |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | EOH               | 9                      | 35               | 11                 |
| <i>Cnidium officinale</i>    | DW                | 9                      | 35               | 8                  |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | EOH               | -                      | 8                | -                  |
|                              | DW                | -                      | 8                | -                  |
|                              | EOH               | 10                     | 16               | 10                 |
|                              | DW                | -                      | 13               | -                  |
|                              | EOH               | -                      | 9                | -                  |
|                              | DW                | -                      | 9                | -                  |
|                              | EOH               | -                      | -                | -                  |
|                              | DW                | -                      | -                | -                  |
|                              | EOH               | -                      | 21               | 20                 |
|                              | DW                | -                      | 25               | 15                 |

1) 70% Ethanol      2) distilled water

3) Clear zone diameter(mm)      4) No inhibition

Table 7. Antimicrobial activity of various medicinal herbal extracts by disc diffusion method

| Extracts                     | solvent           | Micro organism species |                |                    |
|------------------------------|-------------------|------------------------|----------------|--------------------|
|                              |                   | <i>Stapyrococcus</i>   | <i>Candida</i> | <i>Aspergillus</i> |
|                              |                   | <i>aureus</i>          | <i>abicans</i> | <i>niger</i>       |
| <i>Polygonum ariculare</i>   | EOH <sup>1)</sup> | 13                     | -              | -                  |
| <i>Hauttuynia cordata</i>    | DW <sup>2)</sup>  | -                      | -              | -                  |
| <i>Zanthoxylum piperitum</i> | EOH               | -                      | -              | -                  |
| <i>Cinnamomum cassia</i>     | DW                | -                      | 10             | 27                 |
| <i>Lycium chinense</i>       | EOH               | 16                     | 25             | 25                 |
| <i>Caesalpinia sappan</i>    | DW                | -                      | 15             | 15                 |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i>    | EOH               | -                      | -              | -                  |
| <i>Cnidium officinale</i>    | DW                | -                      | -              | -                  |
| <i>Schizandra chinensis</i>  | EOH               | 9                      | -              | -                  |
|                              | DW                | 9                      | -              | -                  |

1) 70% Ethanol      2) distilled water

3) Clear zone diameter(mm)      4) No inhibition

### 3) 계란 단백질의 생산 공정 수립

농축 및 스프레이드라이에 의한 생산에 필요한 장비는 다음과 같았다.

|                            |          |
|----------------------------|----------|
| -계란 활난기 1조 -----           | 2,000만원  |
| -농축기 1조(50ℓ): -----        | 2,000만원  |
| -스프레이드라이어(시간당 수증발량:10ℓ) -- | 1억5천만원   |
| -보일러(100ℓ) 1조-----         | 200만원    |
| -배관 -----                  | 2,000만원  |
| 계-----                     | 2억1천2백만원 |
| 1일 생산량-----                | 50kg 능력  |
| 소요인원 -----                 | 3명       |
| 1kg 생산 공정 단가 -----         | 50,000원  |

본 연구팀은 활란, 농축한 후, 분오무 건거하는 최초의 시험조건이 초기 투자비용이 많이들고, 운전 비용이 많이들고, 생산 비용이 비싸, 당사의 실정에 바람직하지 않다고 결론 짓고, 새로운 단백질의 생산 방법을 모색하기로 하였다.

이에, 본 연구팀은, 계란 흰자위는 수용성 단백질로 구성되어 있다는데에 착안하여, 1차적으로 구연산을 가하여, pH를 3-4로 조정후, 주정을 전체액의 50-60%되도록 가하면, 계란 단백질의 대부분이 응고된다는 사실을 발견하여, 이방법을 통한 계란 흰자위의 대량생산 방법을 모색하였다.

이에 소요되는 장비는 다음과 같다.

|                          |         |
|--------------------------|---------|
| 계란 활난기 1조 -----          | 2,000만원 |
| 혼합 탱크(교반기 포함 100ℓ) ----- | 1,000만원 |
| 탈수기(5인치) -----           | 1,000만원 |
| 계 -----                  | 4,000만원 |
| 소요인원 -----               | 1명      |
| 1kg 생산공정원가 -----         | 3,000원  |

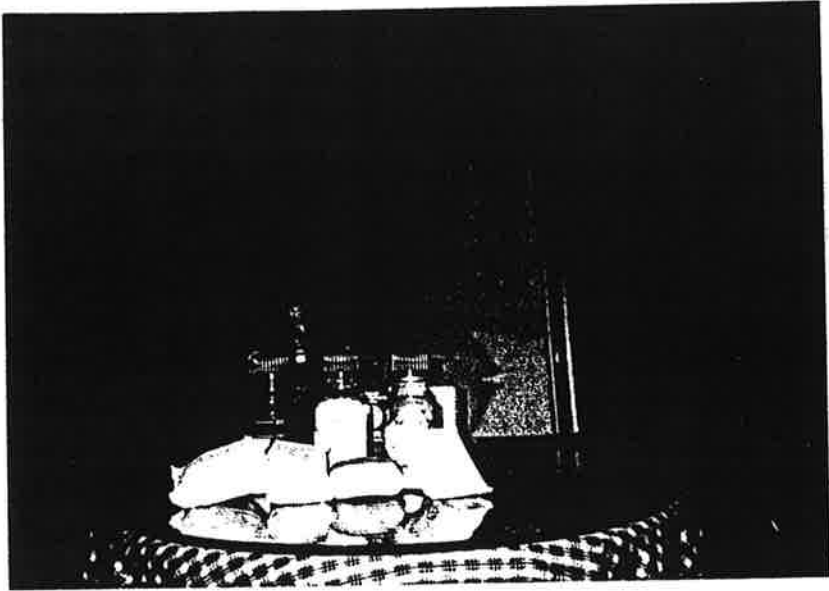
### 4) 시제품의 생산

본연구진은 상기 공정에 의하여 얻어진 계란 단백질과, 상기 생약 스크린 시험에 의하여 선정된, 오미자, 구기자, 천궁, 숙지황, 계피, 용안육, 감초등의 생약제 추출물(고형분 6brix%)을 각기 1%씩 첨가하여, 비누, 크린싱폼, 로션, 크림, 아이 크림등을 시제품으로서 생산하였다.

이들은 다음의 시제품 사진과 같다.

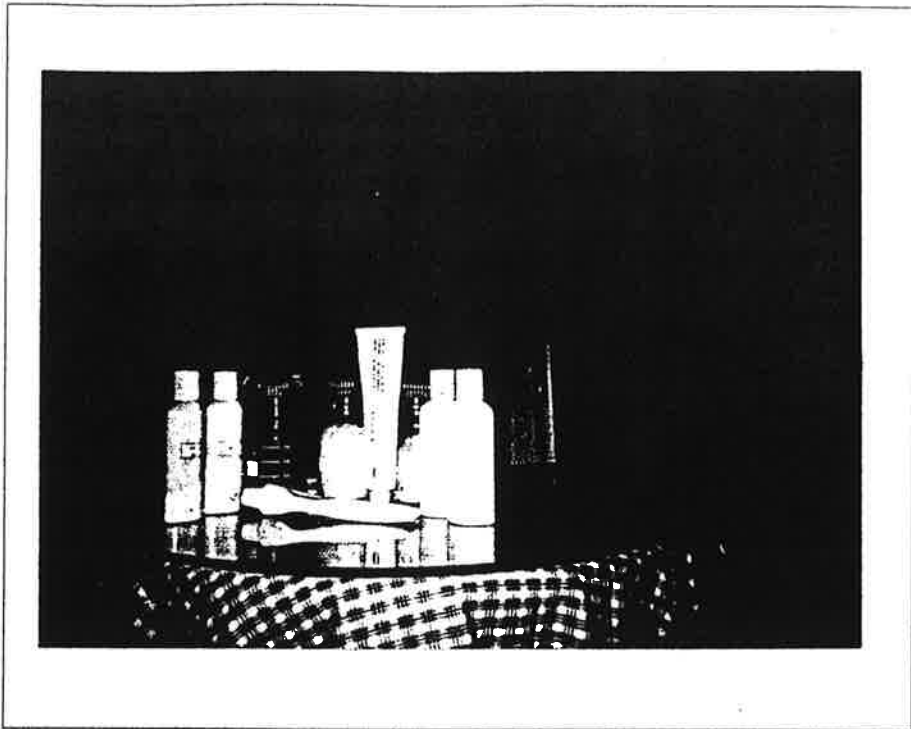
이시제품들을 한국 화학 시험 연구원에 의뢰하여 항균성 평가를 받은바, 그 결과는 첨부하는 결과 보고서와 같다.

# 시 제 품 사 진



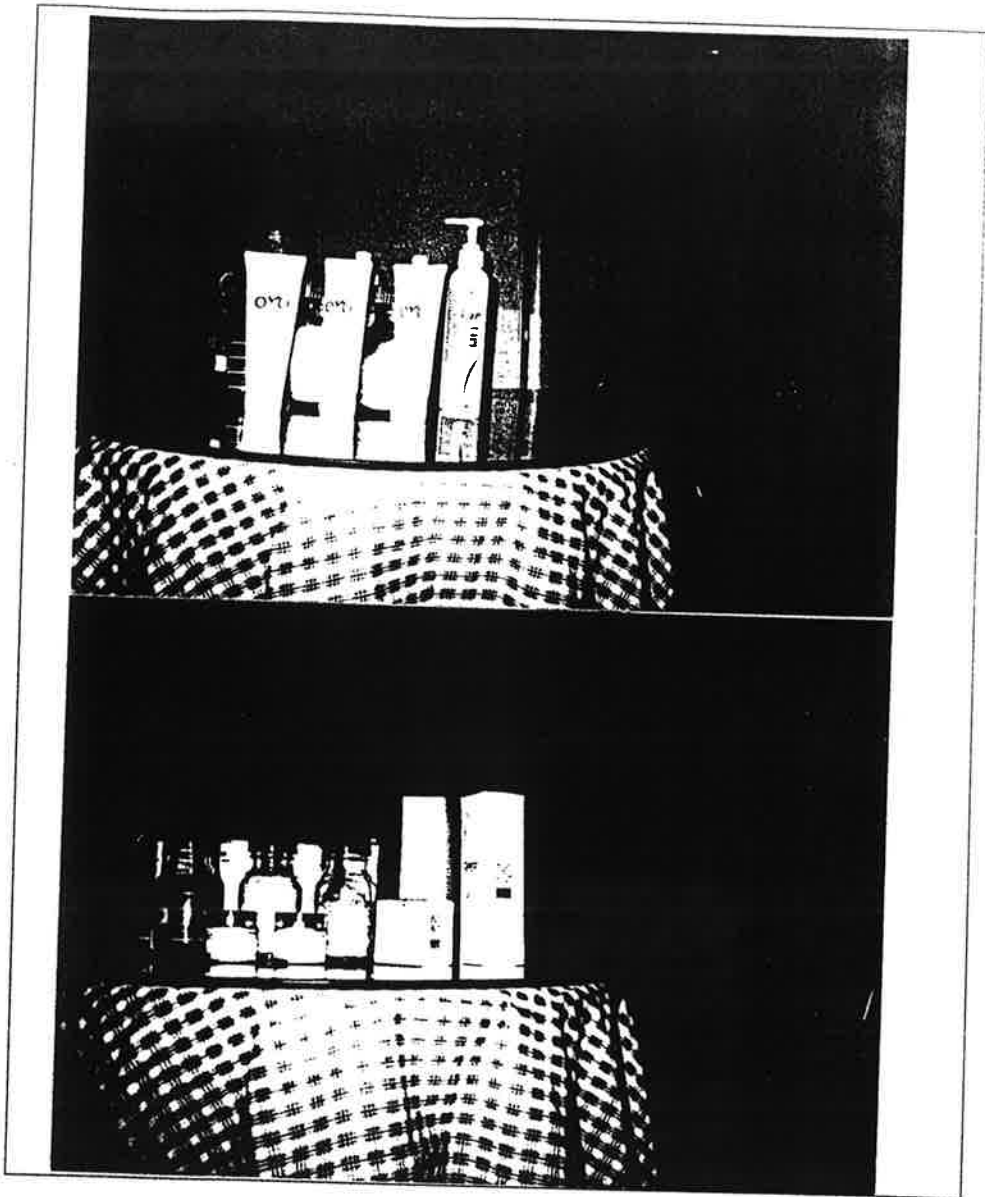
1. 시제품명 : 비누
2. 제 조 원 : 한일물산(주)
3. 제조일자 :

# 시 제 품 사 진



1. 시제품명 : 치약 / 가글
2. 제 조 원 : 국보제약(주)

# 시 제 품 사 진



1. 시제품명 : 액상비누 / 화장품(스킨/로션/핸드크림)
2. 제 조 원 : 푸른화장품(주)
3. 제조일자 :

2001-TAD-4237



2001. 9. 5.

韓國化學試驗研究院

# 시험결과보고서

발급번호 : 2001-TAD-4237

신청인주소 : 충남 천안시 두정동 394-5

회사명 : 엔바이오(주)

대표자명 : 이 동 수

품 명 : 화장비누

본 결과를 신청인으로 부터 제공받은 시료에  
대한 보고서로 제출합니다.

2001. 9. 5.

한국화학시험연구원





# 목 차

1. 품 명

2. 기 간

3. 목 적

4. 시험항목 및 결과

4.1 시료구분

4.2 항균시험

5. 종합 및 고찰

5.1 종합

5.2 고찰

6. 결 론

7. 참 고 문 헌

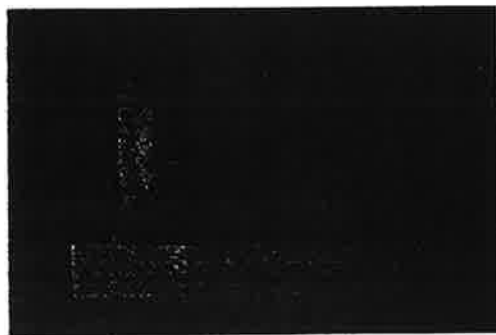
1. 품 명 : “화장비누”

2. 기 간 : 2001. 8. 8. ~ 2001. 9. 5. .

3. 목 적 : 본 시료의 세균에 대한 항균시험을 실시하여 항균능력을 알아 보고자 했다.

#### 4. 시험항목 및 결과

4.1 시료구분 : 의뢰자제공(사진. 1)



(사진. 1) 화장비누

## 4.2 항균시험

- (1) 시험기기 : Clean Bench (수공양행, 한국)  
 Colony Counter (덕우과학, 한국)  
 Incubator (덕우과학, 한국)
- (2) 시험균주 : *Pseudomonas aeruginosa* KCTC 1636.  
*Candida albicans* KCTC 7965
- (3) 시험방법 : 녹농균 및 칸디다균을 액체배지에 배양시킨 후 배양된 균을 희석하여 초기 접종농도가  $1 \sim 9 \times 10^5$  CFU/ml가 되도록 조정하여 시험에 사용하였다.  
 멸균된 생리식염수에 균을 접종하고 초기 균수를 측정한 후 시료를 1%되게 투여하였다. 10분 후에 균수를 측정하여 초기 균수에 대한 감소율을 알아보았다.  
 균수는 배지상의 균수에 희석배수를 곱하여 산출하였다.
- (4) 시험결과 : 표.1 ~ 2, 사진 2 ~ 3 참조

[표.1] 녹농균 항균시험 결과치 (단위 : CFU/ml)

| 초 기               | 10분 후                        |
|-------------------|------------------------------|
| $4.8 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^5$<br>(79.2%) |

$$- ( ) : \text{감소율}(\%) = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

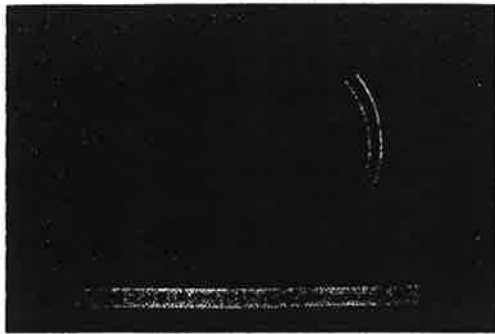
여기에서, A ; 초기 균수

B ; 10분 후 균수

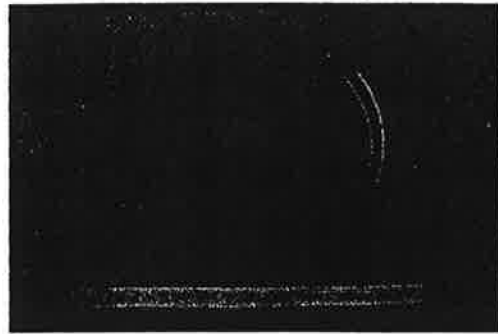
[표.2] 칸디다균 항균시험 결과치 (단위 : CFU/ml)

| 초 기               | 10분 후                        |
|-------------------|------------------------------|
| $1.4 \times 10^5$ | $3.1 \times 10^4$<br>(77.9%) |

- ( ) : 감소율



(사진.2-1) 항균시험(화장비누)  
(초기, *P. aeruginosa*)



(사진.2-2) 항균시험(화장비누)  
(10분 후, *P. aeruginosa*)



(사진.3-1) 항균시험(화장비누)  
(초기, *C. albicans*)



(사진.3-2) 항균시험(화장비누)  
(10분 후, *C. albicans*)

## 5. 종합 및 고찰

5.1 종합 : [표. 3] 항균시험 결과치 (단위:CFU/ml)

| 균주                   | 초기                | 10분 후                        |
|----------------------|-------------------|------------------------------|
| <i>P. aeruginosa</i> | $4.8 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^5$<br>(79.2%) |
| <i>C. albicans</i>   | $1.4 \times 10^5$ | $3.1 \times 10^4$<br>(77.9%) |

- ( ) : 감소율

5.2 고찰 : 우리들이 살고있는 생활주변에는 많은 미생물이 함께 하고 있다. 이들은 병원성 및 비병원성균이 혼재하고 있는데, 이들 모든 미생물을 완전히 사멸시키는 것을 멸균이라고 하며 이에선 가열 및 여과멸균법 등이 있으며 주로 물리적인 방법을 이용하는 경우가 많다. 소독은 주로 화학적인 방법, 즉 각종의 약품을 사용하여 병원 미생물의 증식을 억제시키거나 멸살시키는 수단을 말한다. 미생물의 아포까지는 사멸시키지 못하나 병원미생물의 발육성장을 방해시켜 사멸시킬수 있는 모든 화학물질들을 소독제라고 하며 중금속류, Halogen 화합물, 산화제, 산 및 알칼리, Akyle화제, 석탄산 유도체, 지방족 화합물, 계면활성제, 색소, 식품첨가용 방부제 등이 속한다. 계면활성제에는 비누, 양이온 청정제, 음이온 청정제등이 있다. 대부분의 미생물은 적당한 조건에서는 급속하게 성장하므로, 미생물 성장에 의해 변형, 변색 및 착색 등의 피해를 입을 뿐아니라, 병원성 세균에 의한 질병 전파를 유발 할 수도 있다. 따라서 미생물에 의한 피해를 줄이기 위해 공산품에 항균능력을 나타내는 소재를 많이 첨가하고 있다.

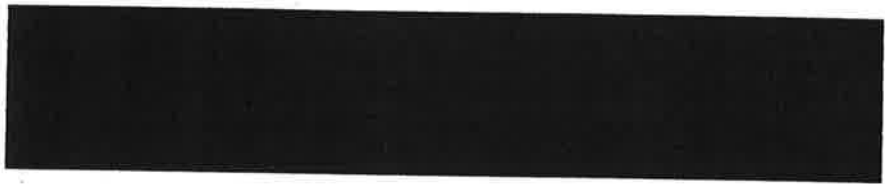
제공된 시료(화장비누)에 대한 항균능력을 측정하기 위해 시료를 멸균된 생리식염수에 1%의 농도로 넣고 균 배양액을 접종하여 10분 후의 항균력을 평가한 결과 녹농균에 대해서는 10분 후 79.2%의 감소율을 보였고, 칸디다균에 대해서는 10분 후 77.9%의 감소율을 보였다.

6. 결론 : 제공된 시료(화장비누)를 1% 농도로 사용할 때의 항균력을 평가한 결과 녹농균에 대해 79.2%, 칸디다균에 대하여 77.9% 감소하였다.

## 7. 참고 문헌 :

- (1) 의뢰자 제공(SM-2702-00)
- (2) 식품의약품안전청 고시 제2000-18호
- (3) Microbiology a laboratory manual, James G, 1983.

2001-TAD-4239



2001. 8. 28.

韓國化學試驗研究院

# 시험결과보고서

발급번호 : 2001-TAD-4239  
신청인주소 : 충남 천안시 두정동 394-5  
회사명 : 엔바이오(주)  
대표자명 : 이 동 수  
품 명 : 액상목욕비누

본 결과를 신청인으로부터 제공받은 시료에  
대한 보고서로 제출합니다.

2001. 8. 28.

한국화학시험연구원





# 목 차

1. 품 명
2. 기 간
3. 목 적
4. 시험항목 및 결과
  - 4.1 시료구분
  - 4.2 피부자극시험
5. 종합 및 고찰
  - 5.1 종합
  - 5.2 고찰
6. 결 론
7. 참 고 문 헌

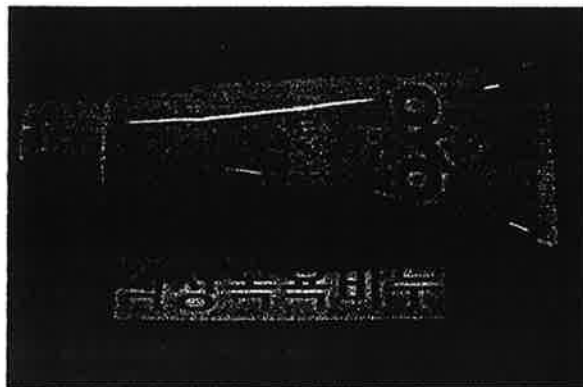
1. 품 명 : “액상목욕비누”

2. 기 간 : 2001. 8. 08. ~ 2001. 8. 28.

3. 목 적 : 본 시료에 대해 피부자극 시험을 실시하여 자극성 정도를 알아보고자 했다.

#### 4. 시험항목 및 결과

4.1 시료구분 : 의뢰자제공(사진.1)



(사진. 1) 액상목욕비누

## 4.2 피부 자극시험

### (1) 시험계

- 1) 종 및 계통 ; New Zealand White Rabbit
- 2) 공급원 ; 연암축산원에대학
- 3) 시험계의 선택이유 ; 본 계통은 풍부한 기초 실험 성적이 축적되어 있어 시험 결과의 해석 및 평가가 용이하여 선정하였다.
- 4) 월령 및 체중범위 ; 3~4개월령의 수컷 토끼 6마리, 체중범위 2.5~2.8kg
- 5) 순화 및 검역 ; 동물입수 후 약 2주일간 동물실에서 순화시켰다.  
순화기간 중 일반상태를 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다.

### (2) 사육환경

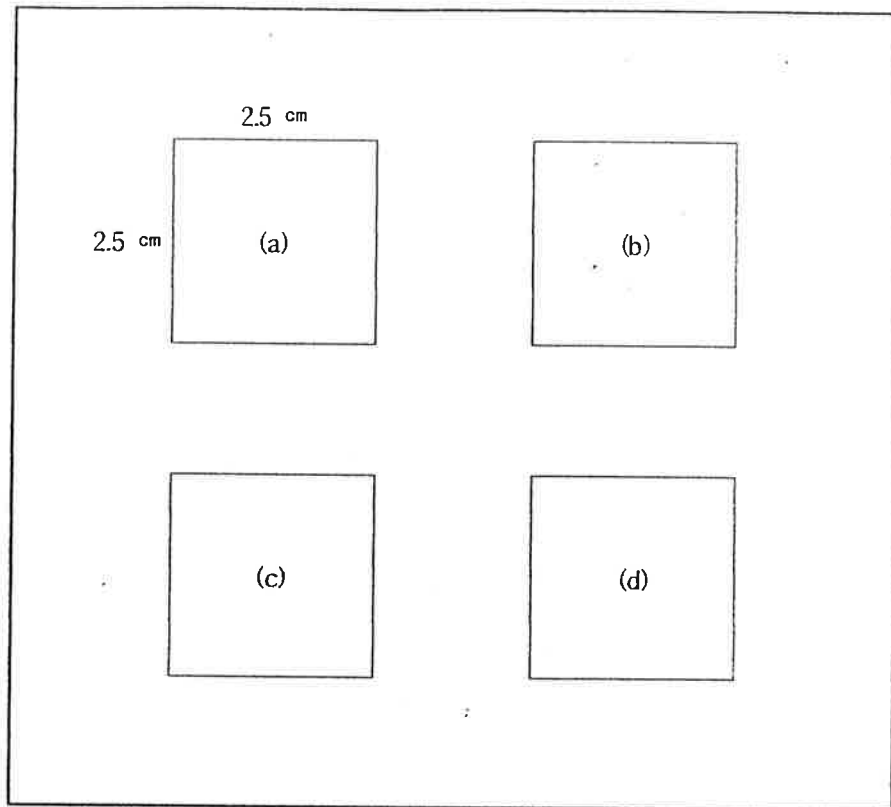
- 1) 환경조건 ; 본 시험은 온도  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $55\pm 10\%$ , 환기회수 10~12회/hr, 조명 12시간, 조도 150~300Lux로 설정된 본 연구원 동물실험실에서 실시하였다.
- 2) 사육상자, 사육밀도 및 사육상자의 식별 ; 순화기간 및 시험기간 중에 토끼는 3단 사육상자(420×500×310mm, 대종기계 제작)에 개체별로 사육하였다.
- 3) 사료 및 음수의 급여법 ; 사료는 토끼용 고품사료(삼양유지사료(주))를 자유 급식시켰고, 음수는 상수도수를 자유 섭취시켰다.

### (3) 투여량 및 시험군의 구성

- 1) 투여량 설정 ; 토끼 한 마리당 시험물질 1g씩 투여하였다.
- 2) 군 분리 및 동물식별 ; 토끼는 모두 순화기간 중에 건강하다고 판단된 동물을 골라 체중을 측정하였으며, 동물개체식별은 사육케이지에 시험번호, 동물번호 등을 기입한 tag를 붙였다.

### (4) 시험물질의 투여방법

- 1) 투여액의 조제 ; 검액은 크림제로 직접 피부에 적용하였다.
- 2) 투여경로 및 투여방법 ; 시험물질의 적용 24시간 전에 제모를 실시하여 그림.1과 같이 처치구획 및 대조구획으로 구분하였다.  
투여방법은 시험물질을 동물 1마리당 시험물질을 0.5g씩으로 투여부위에 1회 도포하였으며, 무처치 대조구획에는 멸균생리식염수를 같은 양 도포하였다.  
부착 후 고품 재질의 박지로 덮고 테이프를 사용하여 고정한 후 일정시간 적용시켰다. 적용시간 종료 후에는 생리식염수를 이용해 도포부를 가볍게 세정해 주었다.



(그림.1) 토끼 등 피부의 실험 부위

- ※ (a) : 시료(Test site), 정상피부(Intact skin).
- (b) : 시료(Test site), 상처피부(Abraded skin)
- (c) : 대조군(Control site), 상처피부(Abraded skin)
- (d) : 대조군(Control site), 정상피부(Intact skin).

**(5) 관찰 및 검사항목**

- 1) 임상증상 및 검사항목 ; 시험물질 투여 후 일주일간 매일 외관, 사료 및 음수 소비상태와 임상증상 등에 대하여 관찰하였다.
- 2) 부검 ; 적용 후 7일째에 국소마취제(리도카인, 광명약품)를 귀정맥을 통해 주입하여 안락사 시킨 후 부검하여 육안적으로 이상유무를 관찰하였다.

**(6) 피부반응의 평가 및 자극성의 판정**

; 피부반응의 평가는 “의약품 등의 독성시험기준”을 이용하여 24시간과 72시간에 대하여 판정하였다. 또한 피부에 대한 자극성의 정도 판정은 일반적으로 많이 이용되는 Draize의 P.I.I. (Primary Irritation Index)의 산출방법에 따랐다.

[표.1] 피부반응 판정표

|   |   |
|---|---|
| 1. 홍반과 가피형성                                       |   |
| o 홍반이 전혀 없음 .....                                 | 0 |
| o 아주 가벼운 홍반(육안으로 겨우 식별할 정도) .....                 | 1 |
| o 분명한 홍반 .....                                    | 2 |
| o 약간 심한 홍반 .....                                  | 3 |
| o 심한 홍반(홍당무색의 발적)과 가벼운 정도의 가피형성<br>(심부손상)까지 ..... | 4 |
| * 총 가능한 홍반 점수 .....                               | 4 |
| 2. 부종형성   |   |
| o 부종이 전혀 없음 .....                                 | 0 |
| o 아주 가벼운 부종(육안으로 겨우 식별할 정도).....                  | 1 |
| o 가벼운 부종(뚜렷하게 부어 올라서 변연부가 분명히<br>구분될 경우) .....    | 2 |
| o 보통의 부종(약 1mm정도 부어 올랐을 경우) .....                 | 3 |
| o 심한 부종(1mm이상 부어오르고 노출부위 밖에 까지<br>확장된 상태) .....   | 4 |
| * 총 가능한 부종 점수 .....                               | 4 |

[표.2] P.I.I.에 의한 자

| 정 도(P.I.I.) | 자 극 부 분                        |
|-------------|--------------------------------|
| 0.0 ~ 0.5   | 비자극성(None irritating)          |
| 0.6 ~ 2.0   | 약한 자극성(Mildly irritating)      |
| 2.1 ~ 5.0   | 중등도 자극성(Moderately irritating) |
| 5.1 ~ 8.0   | 강한 자극성(Severely irritating)    |

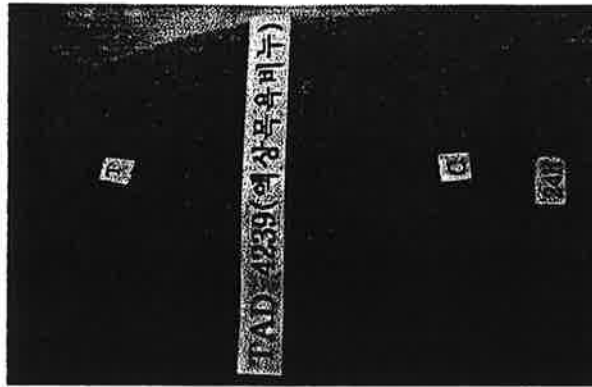
\* P.I.I. : 일차자극지수(Primary Irritation Index, Sum of mean/4)

[표.3] 피부자극 판정

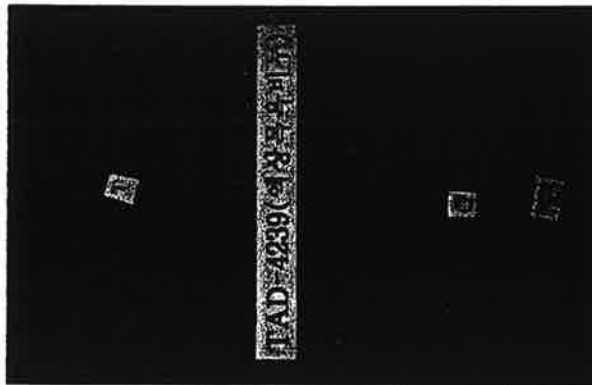
| 부 위       | 대 조 부 위 |    |         |    |         |    |         |    |
|-----------|---------|----|---------|----|---------|----|---------|----|
|           | 홍반과 가피  |    |         |    | 부 종     |    |         |    |
|           | 정상피부(a) |    | 상처부위(b) |    | 정상피부(a) |    | 상처부위(b) |    |
| 관찰시간      | 24      | 72 | 24      | 72 | 24      | 72 | 24      | 72 |
| 동물번호 1    | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 2         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 3         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 4         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 5         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 6         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 합계        | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 평균        | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 평균의 합계    | 0       |    |         |    |         |    |         |    |
| 자극도(PJI*) | 0       |    |         |    |         |    |         |    |

| 부 위       | 시 료 부 위 |    |         |    |         |    |         |    |
|-----------|---------|----|---------|----|---------|----|---------|----|
|           | 홍반과 가피  |    |         |    | 부 종     |    |         |    |
|           | 정상피부(d) |    | 상처부위(c) |    | 정상피부(d) |    | 상처부위(c) |    |
| 관찰시간      | 24      | 72 | 24      | 72 | 24      | 72 | 24      | 72 |
| 동물번호 1    | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 2         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 3         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 4         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 5         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 6         | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 합계        | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 평균        | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  | 0       | 0  |
| 평균의 합계    | 0       |    |         |    |         |    |         |    |
| 자극도(PJI*) | 0       |    |         |    |         |    |         |    |

\* PJI : 일차자극지수(Primary Irritation Index, Sum of mean/4)



(사진. 2-1) 피부자극시험(24시간후)



(사진. 2-2) 피부자극시험(72시간후)

## 5. 종합 및 고찰

### 5.1 종합 : [표.4] 종합 결과

| 시험항목           | 단위 | 시험결과     |
|----------------|----|----------|
| 피부자극시험(P.I.I*) | -  | 0 (비자극성) |

\* P.I.I : 일차자극지수(Primary Irritation Index, Sum of mean/4)

**5.2 고찰** : 급성독성 시험의 목적은 화학물질의 고유독성을 정의하는 것이고, 민감한 종(種)에 대해 평가하고, 표적기관에 대한 정보를 제공하고, 화학물질에 급성 노출되었을 때의 위험평가에 대한 정보를 제공한다.

또한 지연독성 실험에 대한 예비자료로서 이용되고, 지연독성에 대한 정보가 없는 상태에서 제일 첫 번째의 방어에 대한 시험이라고 불린다.

이런 데이터는 제조회사, 정부 및 연구기관이 연구자들 및 어떤 화학물질의 초기 개발단계에서 작업집단의 안전성 정도를 설명하는데 도움을 준다.

규제하는 입장에서 보면 급성독성데이터는 어떤 화학물질의 독성분류, 라벨링, 수송 등에 필수적인 도움을 준다.

학문적 관점으로 본다면, 용의 주도하게 계획된 급성독성 시험은 때로 독성메카니즘 및 특정분류의 화학물질에 대한 구조-활성관계에 관한 정보를 제공한다.

따라서 의약품, 농약, 화장품, 세제류, 식품첨가제, 기타 화학제품의 목적으로 개발된 물질들도 이들을 산업화하여 인간에게 접촉되기 위해서는 반드시 안전성평가(Safety Test)를 수행하여야 한다고 법률에서 정하고 있다.

의뢰된 시료(액상목욕비누)에 대하여 피부자극 시험을 실시한 결과 시험물질 도포부위의 홍반과 가피형성 및 부종등의 자극성은 인정되지 않았으며, Draize의 P.I.I.(Primary Irritation Index)의 산출에 의한 피부1차 자극율은 "0"로 평가되었다

**6. 결론** : 의뢰된 시료(액상목욕비누)에 대하여 피부자극을 시험한 결과 P.I.I. 값이 "0"로 비자극성 이었다.



## 7. 참 고 문 헌

- (1) 의약품 등의 독성시험 기준, 식품의약품안전청 고시 제1999-61호
- (2) OECD guidelines for the testing of chemicals 401
- (3) 독성학, 원리와 시험방법, 김양원, 동화기술

## 4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

(주) 엔바이오 에서는 호서대 연구팀과의 협동연구로 천연 항산화제 및 항균제를 이용한 항균노화방지 비누인 “오보크린” 시제품을 개발하였다. “오보크린”은 이용자들이 의해 이미 피부 노화방지, 미백작용이 탁월하면서도 바이러스, 진균류 및 세균 등의 각종 오염균에 의한 피부병의 예방과 치료에 매우 획기적인 효과가 있는 것으로 나타났다.

본 연구팀은 상기 식물류 및 달걀로부터 산업적으로 활용 가능한 천연 항산화제 및 항균력을 갖는 물질을 개발함에 있어서 타 연구팀에 비하여 경제적으로도 고수익을 얻을 수 있는 기반이 조성되었다고 생각된다.

항균성 천연 조성물 중 계란 흰자위 단백질 중 오보알부민과 오보글로블린을 제거한 분획들로 이루어진 라이소자임, 오보트랜스페린 등의 계란 흰자위 구성 단백질들과 각종 천연 항산화능을 갖는 식물엑스 조성물들은 항균 및 항산화 효과가 뛰어난 것으로 입증되었다.

본 연구에서 개발하고자 하는 제품 기술은 합성화학물이 아닌 천연물질만을 첨가하여 제품화한 것이므로 국민 건강은 물론 환경친화적 이미지를 인식시키는 데에도 이바지하게 될 것이다. 따라서 본 연구과제는 일상 생활에서 식품으로 이미 널리 이용되고 있는 계란 등 천연 자원으로부터 식품, 의약품, 및 화장품 등에 안전하게 사용할 수 있는 신규의 항균물질 및 항산화 물질을 생산할 수 있는 기술을 확보하고자 한다. 아울러, 이를 이용한 고 부가가치의 제품의 생산 기반 기술을 확보하고자 한다.

이와 같은 본 연구 개발의 목적이 달성되면 다음과 같은 효과를 획득할 수 있을 것으로 예상된다.

### ◎ 기대효과 ◎

- 값싼 계란에서 고부가 가치의 기능성 생명공학제품 창출
- 항균력 및 항산화력을 갖는 새로운 생물 자원의 개발
- 생물 자원으로부터 항균력 및 항산화력을 갖는 분획의 효율적 생산을 위한 공정개발
- 신규한 항생물질 및 항산화 물질의 분리 및 규명(신물질 창출)
- 수입에 의존하고 있는 식품 첨가물의 국산화 대체
- 수출 증대 효과
- 국내 식품, 생활용품 및 화장품의 대외 경쟁력 제고
- 무해한 식이성 천연식품첨가제 사용으로 인체 안전성 문제의 해결

## 5. 연구 개발 결과의 활용계획

### 1) 추가 연구의 필요성

#### (1) 기능성을 지닌 약재로부터 유용성분의 분리

약재 추출물의 항산화효과를 rat brain homogenate, rat liver microsome 및 mitochondria를 생체내 산화 시스템인 NADPH/ADP-Fe<sup>++</sup> system에 의하여 산화시키는 방법을 사용하여 MDA, DCF를 추출 분석별로 실험 한 다음 항산화 효과가 있는 분획을 페놀 화합물은 silica gel 60을 입힌 TLC plate로부터 분리하고 플라보노이드는 Model 440 detector이 부착된 HPLC 분석 기기로 Colum은 Waters의  $\mu$ -bondapak C<sub>18</sub>(3.9mm×300mm)을 사용하여 분리·생리활성물질의 구조를 확인하고 화학적 특징을 연구한다.

### 2) 타 연구에의 응용

#### (1) 유효물질의 정제, 순도향상 및 소재화 연구

생리 활성을 높일 수 있는 추출방법을 개발하고 Column chromatography, TLC, Preparative HPLC등을 이용해 분리작업을 계속하여 순도를 높이고 생리 활성물질의 화학적 구조를 밝힌다. 특히 이들을 녹이는 용매로서 알콜과 물을 혼합한 경우 가장 이상적인 비율도 찾아낸다.

### 3) 기업화 추진방안

#### (1) 활용방안 및 사업화 계획

##### ① 식물에서 추출한 항산화력 및 항균력이 확인된 분획의 이용 및 시제품화

##### ● 식품첨가물로서의 적합한 사용 예

- 1) 떡이나 빵과 같은 씨리얼 제품의 생산
- 2) 튀김, 라면과 같은 유탄식품
- 3) 소세지, 어묵과 같은 연육식품
- 4) 아이스크림, 생크림과 같은 고지방 식품
- 5) 콩대두유, 옥배유와 같은 식용유 등에 첨가하여 항산화 효과 부여

● 피부 위생용품으로서의 이용을 위한 제품화 및 pilot plant 공정 개발

- ① 세제, ②기초 화장품, ③치약, ④구강청정제, ⑤여성 청결제 생산

(2) 기능성음료 및 다류의 개발

분리한 생리활성물질을 술에 첨가하여 제품화시키는 작업으로 술의 맛, 색깔 및 저장성 등을 조사하여 최적의 상태로 제품화시킬 수 있는 방법을 개발한다. 특히 시간이 지남에 따른 맛, 양금의 생성 여부나 양상, 색택의 변화 등을 조사하여 방지할 수 있는 방법을 조사한다.

(3) 기능성 음료 제법

각종 식용식물이나 한방 재료 등을 직접 술에 첨가하여 침출 되는 양상을 살펴보고 이때 추출되는 수율이나 항산화성, 또는 간 기능 보호성 물질들의 침출 정도를 침출 시간에 따라 검사한다. 또한 이들의 생리활성도 측정하여 가장 적당한 침출 조건( 알콜농도, 온도, pH등 )을 구한다. 이때 적당한 관능성을 나타내는 침출 조건도 구해서 두 가지 조건이 동시에 만족될 수 있는 조건을 제시한다. 발효주의 경우 발효 도중에 식물재료들을 첨가하여 발효과정에서 미생물들의 영향에 의한 유효성분의 변화와 이에 따른 생리활성의 변화, 색깔 및 맛의 변화 등을 고려하여 최적의 발효 조건을 찾는다.

## 6.참고문헌

- (1) 김청, 박정류, 김종배, 차명화 : 대추잎 추출물의 생리활성 작용. 한국 식품과학회지, 28, 3 (1999)
- (2) 김현구, 김영언, 도정룡, 이영철, 이부용 : 국내산 생약 추출물의 항산화 효과 및 생리활성. 한국식품과학회지, 27, 1 (1995)
- (3) Miquel, J, Quintanilha, A. T. and Weber, H. : *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press, Vol. I, p223(1989)
- (4) 이종원, 도재호 : 복분자 열매의 총 페놀 성분의 정량 및 항산화 활성. 한국식품영양과학회지, 29, 5 (2000)
- (5) 광희진, 권영주, 정필호, 권중호, 김현구 : 양파 에탄올 추출물의 생리활성 및 항산화효과. 한국식품영양과학회지, 29, 2(2000)
- (6) Braner, A. L : Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *J. Amer.Oil Chem. SOS*, 52, 59-63 (1975)
- (7) 최용화, 김명조, 이행순, 윤봉식, 광상수 : 양지꽃 지상부의 항산화물질. 생약학회지, 29, 2 (1998)
- (8) Dziezak, J.D. : Antioxidants. *Food Technol.*, 40, 94-102 (1986)
- (9) 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이용호 : 수산 미이용자원 중에 존재하는 항산화 물질의 검색. 한국식품과학회지, 26, 4 (1994)
- (10) 임계택, 이정재 : 옷나무 추출물의 생리활성 이용에 대한 연구. 한국식품과학회지, 31, 1 (1999)
- (11) Gies, J. : Antioxidants tools for preventing lipid oxidation. *Food Tech*, 50, 73-76 (1996)
- (12) 이종원, 도재호, 이성계 : 음양곽의 항산화 활성. 한국식품영양과학회지, 29, 4 (2000)
- (13) Frankel, E.N. : Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*, 57, 51-56 (1996)
- (14) 박승우, 우철주, 정신교, 정기택 : 환삼동굴의 용매분획별 항균성 및 항산화성. 한국식품과학회지, 26, 4 (1994)
- (15) 김무성, 이동철, 홍종언, 장이섭, 조홍연, 권용관, 김희연 : 국내 및 인도네시아산 식물의 에탄올 추출물의 항균성. 한국식품과학회지, 33, 4 (2000)
- (16) 안찬영, 현규환, 박근형 : 검은깨의 항산화 활성물질. 한국식품과학회지, 24, 1 (1992)
- (17) 지옥화, 양차범 : 방아 추출물의 항산화 효과. 한국식품과학회지, 28, 6 (1996)
- (18) 김영배, 강녕희, 이서래 : 한국산 두충차의 품질에 관한 연구. 한국식품과학회지, 8, 70 (1976)
- (19) 차배천, 이혜원, 최무영 : Nut류의 항산화 및 항균효과. 생약학회지, 29, 1 (1998)
- (20) 맹영선, 박혜경 : 더덕 에탄올 추출물의 항산화효과. 한국식품과학회지, 23, 3 (1991)
- (21) 박현숙, 안빈, 양차범 : 참깨와 들깨 단백질의 기능성에 관한 연구. 한국식품과학회지, 22, 350 (1990)
- (22) 장영상, 최용, 신동화, 신재익 : 항산화 효과가 있는 붉나무 추출물의 몇가지 synergist 첨가효과. 한국식품과학회지, 24, 2 (1992)
- (23) Ki Young Lee, Susan T. Weintrab, and Byung Pal Yu : Isolation And Idention of A Phenolic Antioxidant From Aloe BARBADENSIS)
- (24) 김지영, 맹영선, 이기영 : 다양한 용매를 이용한 대두 추출물의 항산화 효과 . 한국식품과학회지

- (1995)
- (25) 최웅, 신동화, 장영상, 신재익 : 식물성 천연 항산화 물질의 검색과 그 항산화력 비교. 한국식품과학회지, 24, 142 (1992)
- (26) 정기태, 주인옥, 최정식, 홍재식 : 오미자 종자의 항산화, 항균성, 아질산염 소거능. 한국식품과학회지, 52, 4 (2000)
- (27) 이기용, 장수길, 김현구 : 버섯류의 항산화성 및 아질산염소거작용. 한국식품과학회지, 29, 3 (1997)
- (28) 이현경 : *Flammulina velutipes* 배양액중 항보체활성 다당의 전제 및 특성, 고려대학교 석사학위논문(1993)
- (29) 장윤한, 박용관, 오상룡, 문광덕 : 솔잎과 썩 추출물의 기능성 검토. 한국식품과학회지, 27, 6 (1995)
- (30) 김종대, 윤태현, 최면, 임경자, 주진순, 이상영 : 솔잎 첨가 식이가 흰쥐의 혈청 지방질 대사에 미치는 영향. 한국노화학회지, 1, 47 (1991)
- (31) 김수민, 김은주, 조영석, 성산경 : 제조 방법별 솔잎 추출물의 항산화성 검토. 한국식농과학회지, 31, 2 (1999)
- (32) 한지숙, 신동화 : *Listeria monocytogenes*의 증식억제에 미치는 뽕나무 및 고삼 에탄올 추출물의 분획별 효과. 한국식품과학회지(1994)
- (33) 김용재, 김충기, 권용주 : 자소자 항산화성분의 분리. 한국식품과학회지, 29, 1 (1997)
- (34) 임재관, 최웅, 신동화 : 소목 추출물의 항산화 효과. 한국식품과학회지, 28, 1 (1996)
- (35) 이영주, 한준표 : 느릅나무 추출물의 항산화 효과 및 아질산염 소거능. 한국식품영양과학회지, 30, 1 (2000)
- (36) 오덕환, 이미경, 박부길 : 식품 유해균에 대한 차류 추출물의 항균효과. 한국식품영양과학회지, 28, 1 (1999)
- (37) Beuchat, L. R. and Golden, D. A. : Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol*, 43, 134 (1989)
- (38) Davison, P.M. and Post, L.S. : Naturally occurring and miscellaneous food antimicrobials. In "Antimicrobials in foods" Branen, A. L. and Davidson, P. M.(eds.), Marcel Dekker, Inc, New York, p371(1983)
- (39) 문관심 : 약초의 성분과 이용. 일월서각, p127 (1994)
- (40) Peter, F.S : The toxicology of nitrite, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric*, 26, 1761 (1975)
- (41) 이기동, 장학길, 김현구 : 버섯류의 항산화성 및 아질산염 소거작용. 한국 식품과학회지, 29, 3 (1997)
- (42) 김희연, 이영자, 홍기형, 권용관, 이주연, 김소희 : 전통식품 및 천연물에서 천연보존료 개발에 관한 연구. 한국식품과학회지, 31, 6 (1999)
- (43) 서하중 : 마늘, 양파, 생강, 고추즙의 항균작용. 한국식품영양과학회지, 28, 1 (1999)
- (44) 안은영, 신동화, 백남인, 오진아 : 고삼으로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조동정. 한국식품과학회지, 672-679 (1998)
- (45) 김현수 : 털새동부 추출물의 항균효과 및 특성. 한국식품영양과학회지, 27, 5 (1998)

- (46) 강정미, 차인호, 이영근, 류홍수 : 여성초 휘발성 정유 성분의 동정과 분획물의 항특성 및 항균활성. 한국식품영양과학회지, 26, 2 (1997)
- (47) Sofos, J.N., Beuchat, L.R., Davison, P.M., and Johnson, E.A. Naturally occurring antimicrobials in foods. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 28: 71-72 (1998)
- (48) 안은영, 신동화, 백남인, 오진아 : 감초로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조 동정. 한국식품과학회지, 30, 3 (1998)
- (49) 이인은, 조성환 : 마두령 추출물의 항균특성. 한국식품영양과학회지, 29, 6 (2000)
- (50) 이신호, 문원석, 박경남 : 소목 추출물의 항균성과 분쇄육의 저장에 미치는 영향. 29, 5 (2000)
- (51) 김용두, 강성구, 최옥자, 이홍철, 장미정, 신수철 : 초피 추출물의 항균활성. 한국식품영양과학회지, 29, 6 (2000)
- (52) 주인선, 성광근, 오만진, 김찬조 : 구기자 추출물이 미생물 생육에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 26, 4 (1997)
- (53) 김근영, 정동욱, 정희중 : 여성초의 화학성분 및 항미생물 활성. 한국식품과학회지, 29, 3 (1997)
- (54) 김나미, 성현순, 김우정 : 용매와 추출조건이 계피 추출액의 항산화성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 25, 3 (1993)
- (55) Rhee, K.S., Ziprin, Y.A. and Rhee, K.C. : Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredients. *J. Food Sci.*, 46, 75 (1981)
- (56) 최진호, 오성기 : 고려 인삼의 노화 억제 작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, 17, 506 (1985)
- (57) Buege, J.A. and Aust, S.D. : Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 52, 302-310 (1978)
- (58) 이정민 : 차성분의 아질산염 소거능에 대한 연구. 성신여자 대학교 석사논문(1997)
- (59) Kato, H, Lee, I. E, Chuyen, N. V, Kim, S. B. and Hayase, F : Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol Chem* , 51, 1333 (1987)
- (60) 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 박영호 : 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로생성인자 분해작용. 한국수산학회지, 20, 463 (1987)
- (61) Frankel, E. N. ; Antioxidants in lipid foods and their on Food quality. *Food chemistry*, 57, 1, 1996.
- (62) Braen, A. L.; Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. AOCS*, 52, 1975.
- (63) Farag, R. S., Badei., A.Z.M.A., Hewedi, F. M. and El-Baroty, G.S.A. ; Antioxidant activity of some-spice essential oils on linoleic and oxidation in aqueous media. *J. AOCS*, 66, 1989.
- (64) Chang, S. S., Biserka, O. M., Oliver, A. L., Hsieh and Huang, C. L. ; Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42, 4, 1977.
- (65) B. Havsteen. ; Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological

potency.

Commentary . Biochemical pharmacology. 32. 7. 1983.

- (66) Food Phytochemicals for Cancer Prevention I,II.; ACS symposium series 546, 547. 1994.
- (67) Eun-Hee Jang, Young-Hee Pyo and Myung-Soo Ahn ; Antioxidant effect of Omija (Schizandra Chinesis Baillon) Extract. Korean J. Food Sci. 12, 3, 1996.
- (68) Dae-Kwan Lim, Ung Choi and Dong-Hwa Shin ; Antioxidative Activity of Some Solvent Extract from Caesalpinia sappan L. Korean J. Food Sci. Technol 28, 1, 1997
- (69) Kye-Taek Lim and Jae-Han Shim ; Antioxidative Effects of Ethanol Extracts from Rhus Verniciflua Stokes(RVS) on Mouse Whole Brain Cells. Korean J. Food Sci. Technol 29, 6, 1997
- (70) Seung-Yeol Kim, Jin-Hwan Kim and Seung-Kyeom Kim ; Isolation and Characterization of Antioxidant Components in Epimedium Koreanum NAKAI extract. Korean J. Food Sci. Technol 24, 6, 1992.
- (71) Ki-Young Lee ; Antioxidant Effects of Phenolic Compounds Isolated from Deffated Perilla Seed Flour. Korean J. Food Sci. Technol 25, 1, 1993
- (72) Kyung-Soo Kim and Myung-Yul Lee ; Effect of Artemisia selengensis Methanol Extract on Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Rat Liver. Korea. J. Food Sci. Nutr 25, 4, 1997.
- (73) Dae-Kwan Lim, Ung Choi and Dong-Hwa Shin. ; Antioxidative Activity of Ethanol Extract from Korea Medical Plants. Korean J. Food Sci. Technol, 28, 1, 1996.
- (74) Ung Choi, Dong-Hwa Shin, Young-Sang Chang and Jae-Ik Shin. ; Screening of Natural Antioxidant from Plant and Their Antioxidative Effect. Korean J. Food Sci. Technol, 24, 2, 1992
- (75) Rhee, K. S., Ziprin, Y. A. and Rhee, K. C. ; Antioxidant activity of methanolic extracts of various oilseed protein ingredient. J. Food Sci. 46, 75, 1981.
- (76) Jung-hi Lee and Su-Rae Lee ; Some Physiological Activity of Phenolic Substances in Plant Foods. Korean J. Food Sci. Technol 26, 3, 1994.
- (77) Woo-Sik Jeong, Seung-Woo Park and Shin-Kyo Chung ; The antioxidative activity of Korean Citrus unshiu Peels., Food and Biotechnology Vol. 6, No. 4, (1997)
- (78) Young-Sun Maeng and Hye-Kyung Park ; Antioxidant Activity of Ethanol



Extract from Dodok(*Codonopsis lanceolata*). Korean J. Food Sci. Technol 23, 3, 1991.

(79) Yong-Jae Kim, Choong-Ki Kim and Yong-Ju Kwon ; Isolation of Antioxidative Compound of Perillae semen. Korean J. Food Sci. Technol 29, 1, 1997

(80) Stability of Some Fried Foods Prepared with Oils Containing *Rhus javanica* Linne Ethanol Extract with Several Synergists. Korean J. Food Sci. Technol 24, 6, 1992.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.