

감마선 조사에 의한 민들레 추출물의 생리활성 및 물리화학적 변화

손상혁 · 조철훈 · 오만진* · 손천배** · 변명우

한국원자력연구소 방사선 식품 · 생명공학팀

Studies on the Changes of Biological Activity and Physicochemical Characteristics of Gamma Irradiated Dandelion Extracts

Sang-Hyeok Sohn, Cheorun Jo, Man-Jin Oh*, Cheon-Bae Sohn**, Myung-Woo Byun

Radiation Application Research Division, Advanced Radiation Technology Institute, KAERI

*Department of Food Science and Technology, Chungnam National University

**Department of Food and Nutrition, Chungnam National University

Abstract

This study was performed to investigate biological activity and physicochemical changes on gamma irradiated dandelion extracts. Hunter color L* and a* values of dandelion extracts increased but b* value decreased by 20 kGy of irradiation. Effect of 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging was not changed by irradiation but ferric reducing/antioxidant potential (FRAP) values, an indicator of antioxidant power, tend to increase by irradiation. Tyrosinase inhibition activity of irradiated dandelion extracts significantly increased ($p < 0.05$) but xanthine oxidase inhibition activity of irradiated dandelion extracts decreased. *In vitro* genotoxicological safety of irradiated dandelion extracts was evaluated using *Salmonella typhimurium* (TA98 and TA100). The results indicated that 20 kGy gamma-irradiated dandelion extract did not show any mutagenicity. Gamma irradiation on dandelion extracts was useful method for improvement of color of dandelion extracts and indicated positive effects on physicochemical characteristics.

Key words: dandelion extract, irradiation, color, biological activity

서 론

근래 건강에 대한 관심이 높아지면서 식품의 약리 기능성 물질 탐색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 허브를 포함한 다양한 유용식물에 대한 관심이 어느 때보다도 높아져 있고, 유용식물을 이용한 신약 개발 및 농업 신소재로 천연물을 이용하려는 노력이 가속화되고 있다. 이러한 변화에도 불구하고 우리 주변에는 수많은 유용 식물자원들이 자연에 방치되고 있는 실정이다(Kang과 Kim, 2001).

민들레는 국화과의 여러해살이 식물로서 한국을

비롯하여 전세계적으로 널리 퍼져 있으며, 예로부터 약초 및 식품 재료로 이용되어 왔다. 유럽에서 민들레 잎은 샐러드로 이용되고, 뿌리는 커피 대용으로 이용되기도 하며, 중국 및 북미에서는 전통적인 민간약초로 알려져 상처치유에 사용되어져 왔다. 또한, 민들레는 이뇨작용이 있으며, 어리고 연한 잎은 건위소화약으로 이용되기도 하였다. 민들레의 주요성분으로는 hydroxycinnamic acid, chicoric acid, monocaffeoyltartaric acid, 그리고 chlorogenic acid 등이 있으며, 잎 부위는 coumarins, cichoriin, aesculin, 비타민 C(50-70 mg/100g) 그리고 비타민 D(5-9 mg/100 g)를, 꽃 부위는 luteolin 7-glucoside, quercetin, 그리고 luteolin 등을 함유하고 있다(Han et al., 2005). 기존의 민들레 추출물에 대한 연구로는 Kang et al.(2002)의 항산화 및 자유라디칼 소거 활성 연구와 Kim et al.(1999)의 민들레로부터 항균

Corresponding author: Sang-Hyeok Sohn, Radiation Application Research Division, Advanced Radiation Technology Institute, 1266 Sinjeong-Dong, Jeongeup-Si, Jeollabuk-Do, 580-185, Korea
Phone: 063-570-3210, Fax: 063-570-3213
E-mail: shsohn7@hanmail.net

성 화합물의 분리 및 동정 등에 대한 연구가 이루어져 왔으며, 기타 생리활성 연구로는 민들레의 항암 및 항종양 활성에 관한 연구가 이루어져 왔다 (Takasaki *et al.*, 1999a; Takasaki *et al.*, 1999b). 민들레 추출물에 대한 약리적 연구로는 Lee *et al.*(1993)의 민들레 물 분획물을 이용하여 항위염 효과가 있음을 보고하였고, Han *et al.*(2005)은 민들레 추출분획물이 위장보호에 미치는 효능에 대한 보고에서 n-butanol 분획물이 위점막 보호에 효과가 있음을 예측하였다. 그 밖에 항염(anti-inflammation)활성 (Mascolo *et al.*, 1987) 및 항종양(anti-tumor)활성 (Mizuno, 1981)에 관한 연구도 보고되었다.

한편, 감마선 조사는 식품 및 소재의 부패방지, 제품의 안전성 및 보존성 향상의 효과가 보고되어 제약, 의료 및 화장품과 같은 공중보건 산물에 널리 사용되고 있다(Jo *et al.*, 2003). 감마선 조사기술은 잔류독성이 전혀 없고, 식품 원래의 품질을 유지하면서 여러 가지 긍정적인 효과가 보고된 바 있다(Jo *et al.*, 2001). 최근의 연구보고에 의하면 감마선 조사기술을 이용하여 천연소재를 산업적으로 적용이 용이하도록 색상을 개선할 수 있다고 하였으며, 재료에 따라 생리활성이 방사선 조사에 의해 증가 또는 감소하는 것을 볼 수 있다(An *et al.*, 2004; Byun *et al.*, 2004). Kim *et al.*(2006)에 의하면 방사선이 *curcumin*의 분자적 구조를 변형시켜 생리활성의 증가를 가져온다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서는 감마선 조사에 따른 민들레 추출물의 생리활성과 물리화학적 변화와 감마선을 응용하여 산업적용성을 높이고, 이와 함께 천연물을 이용한 식품 및 화장품 소재 등의 기능성 공중보건소재로의 적용가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

민들레 추출액 제조

실험에 사용된 민들레는 대전광역시 중구 한약거리의 약재상에서 건조된 민들레를 구입하여 이물질을 선별한 후 실험에 사용하였으며, 잎, 뿌리, 줄기 및 꽃을 모두 함유한 상태였다. 민들레 500g을 70% ethanol 10L에 넣은 후 72시간동안 실온(약 25°C)에서 간헐적으로 흔들면서 추출하였다.

감마선 조사 및 파우더 제조

추출된 민들레 추출액의 감마선 조사는 한국원자력연구소(Daejeon, Korea) 내 선원 10만 Ci의

Cobalt-60 감마선 조사시설(Point source AECL, IR-79 MDS Nordion International Co. Ltd, Canada)을 이용하여 실온(12±1°C)에서 분당 83.3 kGy의 선량율로 각각 0 및 20 kGy의 총 흡수선량 얻도록 하였다. 흡수선량의 확인은 alanine dosimeter(지름 5 mm, Bruker, Instruments, Germany)를 사용하였다. Dosimeter 시스템은 국제원자력기구(IAEA)의 규격에 준용하여 표준화한 후 사용하였으며, 총 흡수선량의 오차는 2% 이내였다.

감마선 조사 및 비조사된 민들레 추출액의 추출용매는 감압농축기(Rotary vacuum Evaporator N-11, Tokyo Rikakikai, Co. Ltd., Japan)를 이용하여 용매를 제거한 후 -60°C 냉동고에서 동결하고, 동결건조기(SFDSF12, Samwon Co. Ltd., Korea)를 이용하여 동결건조한 후 분쇄하였다. 제조된 민들레 파우더는 -20°C에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

색도 측정

감마선 조사에 따른 시료의 색변화를 조사하기 위하여 색차계(Spectrophotometer CM-3500d, Minolta Co. Ltd., Japan)를 이용하여 색도를 측정하였다.

즉, 색차계를 표준화판 및 백판으로 표준화시킨 다음 석영 cell(CM A-98, 10 mm in width)에 추출용매인 70% ethanol를 이용하여 blank 조정을 한 후 감마선 조사 및 비조사된 민들레 추출액의 색도를 측정하였으며 Hunter color L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness)값을 3회 반복 측정한 후 각 값의 평균값으로 나타내어 기록하였다.

2.2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성 측정

민들레 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 Blois (1958)의 방법에 의하여 측정하였다. 동결건조된 조사 및 비조사된 민들레 파우더를 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도로 희석시킨 후 시료 1 mL에 0.2 mM DPPH (Sigma Co. Ltd., USA) 용액 1 mL을 첨가하였다. 이 용액을 잘 혼합하여 실온에서 30분 동안 방치시킨 후에 spectrophotometer (UV-1601PC, Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구(무첨가구의 흡광도)는 시료의 희석용매인 70% ethanol을 사용하였으며 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식에 의하여 구하였다.

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

A : 시료첨가구의 흡광도

B : 무첨가구의 흡광도

Ferric Reducing/Antioxidant Potential (FRAP) 측정

FRAP 측정은 Benzie와 Strain(1996)의 방법을 참고하여 측정하였다. FRAP reagent는 25 mL acetate buffer(300 mM, pH 3.6)를 37°C에서 가온한 후, 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Sigma Chemical Co., USA) 2.5 mL과 20 mM Ferric chloride hexahydrate (FeCl₃·6H₂O) 2.5 mL을 가하여 제조하였다. 제조된 0.9 mL FRAP reagent에 0.4 mg/mL으로 희석한 감마선 조사 및 비조사된 민들레 추출물 0.03 mL와 증류수 0.09 mL를 넣은 후 37°C에서 10분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. Blank는 FRAP reagent 대신 70% ethanol를 넣어 측정하였다. 계산은 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 mM의 농도로 반복하여 작성한 FeSO₄·7H₂O의 검량식에 대입하여 구하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정 방법은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의하여 측정하였다(Masamoto *et al.*, 1980). 감마선을 조사한 것과 조사하지 않은 민들레 추출물을 1, 5 및 10 mg/mL으로 희석한 희석액 0.4 mL을 10 mM L-3,4-dihydroxyphenyl-alanine (L-DOPA, Sigma, St. Louis, MO, USA)용액 0.8 mL과 mushroom tyrosinase (EC 1. 14. 18. 1) 용액 (100 unit/mL) 0.4 mL를 혼합하여 15분 동안 25°C 항온수조에서 반응시킨 후 475 nm에서 spectrophotometer로 측정하여, dopachrome의 변화를 저해값으로 환산하였다. 이 때 대조구는 민들레 추출물 대신에 1/20 M sodium phosphate buffer (pH 6.8)를 사용하였다. Blank는 Enzyme 대신에 1/20 M sodium phosphate buffer (pH 6.8)를 사용하였으며, Control Blank는 tyrosinase 및 민들레 추출물 대신 1/20 M sodium phosphate buffer(pH 6.8)를 사용하여 실험하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{S - SB}{C - CB}\right) \times 100$$

S : Absorbance of Sample
 SB : Absorbance of Sample blank
 C : Absorbance of Control
 CB : Absorbance of Control Blank

Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 활성 저해 측정은 Stürpe와 Corte(1969)의 방법을 참고하여 측정하였다. 기질인 2 mM xanthine(Sigma Co. Ltd., St. Louis, USA)과 효소인 0.2 unit xanthine oxidase(EC 1.1.3.22, 0.085unit/mg Solid, Sigma, St. Louis, USA)를 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 용해시켜 기질과 효소를 제조하였다.

2 mM xanthine(substrate) 0.4 mL에 1, 5 및 10 mg/mL으로 희석한 감마선 조사 및 비조사된 민들레 추출물 0.2 mL를 넣은 후, 0.2 unit xanthine oxidase(EC 1.1.3.22) 0.2 mL를 넣어 37°C에서 15분간 반응시키고, 20% trichloroacetic acid(Junsei Co. Ltd., Japan) 1 mL를 가하여 반응을 중지시켰다. 반응용액은 원심분리한 후 생성된 uric acid 함량을 292 nm에서 spectrophotometer로 측정하였다. 이 때, 대조구는 민들레 추출물 대신 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.2 mL을 사용하였고, blank는 xanthine oxidase 대신에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 사용하였으며, control blank는 xanthine oxidase 및 민들레 추출물 대신에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 각각 0.2 mL 씩 사용하여, 측정하였다. 저해율은 아래의 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{S - SB}{C - CB}\right) \times 100$$

S : Absorbance of Sample
 SB : Absorbance of Sample blank
 C : Absorbance of Control
 CB : Absorbance of Control Blank

복귀 돌연변이 시험(Ames test)

Ames test는 Maron과 Ames(1983)의 방법에 준하여 실시하였다. 시험에 사용된 균주는 *Salmonella typhimurium* LT2를 친주로 하는 *S. typhimurium* TA98 및 TA100으로 한국화학연구소 안전성센터에서 계대 배양 중인 것을 시험에 사용하였다. 이들 균주는 사용에 앞서 필요시 균주의 유전자형 확인을 위해 histidine 요구성 여부, UV에 대한 민감도 (uvrB 돌연변이), rfa 돌연변이의 유지여부 및 R-factor에 의한 ampicillin 또는 tetracycline 내성 등의 유전형질을 확인한 후 시험에 사용하였다. 유전형질이 확인된 균주는 nutrient broth No. 2(Oxoid Ltd., Hampshire, England)에 접종하여 37°C에서

200 rpm으로 약 10시간 진탕배양(Vision Scientific Co., Incheon, Korea)한 후 시험에 사용하였다.

본 실험에 사용된 대사활성을 위한 간균질액(S9 fraction)은 Maron과 Ames(1983)의 방법에 따라 조제한 것(단백질함량 22.5 mg/mL 함유, Oriental Yeast Co., Tokyo, Japan)을 구입하여 사용하였다. 5%(v/v)의 S9 mixture는 상기 S9 fraction과 시판 cofactor(Wako Co., Tokyo, Japan)로 제조하여 사용하였다. S9 mixture는 0.5 mL/plate로 처리했으며, 그 활성은 2-amino anthracene(2-AA)의 돌연변이 유발로 확인하였다. 양성 대조물질로 sodium azide(SA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Inc., Steinheim, Germany)는 증류수에 용해하였으며, 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO)(Sigma, St. Louis, USA) 및 2-amino anthracene(2-AA)(Sigma, St. Louis, USA)는 증류수 또는 dimethyl sulfoxide(DMSO, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, USA)에 용해하여 각 시험균주의 특성에 맞추어 사용하였다.

복귀돌연변이 시험은 대사활성계 적용(+S) 및 미적용(-S)으로 하여 direct plate incorporation 방법으로 하였으며, 시험물질의 각 농도군 당 2개의 plate를 사용하여 실시하였다. 즉, *S. typhimurium* 균주를 nutrient broth에 약 12시간 동안 배양하여 대수기(2×10^2 cells/mL)상태에 이르도록 한 배양액 0.1 mL, 시험물질의 멸균증류수 현탁액 0.1 mL 및 S-9 mixture(또는 0.2 M Na-phosphate buffer) 0.5 mL를 혼합하여 histidine-broth를 함유한 top agar 2.0 mL에 섞은 후 이를 minimal glucose agar배지에 부어 고화시킨 다음 37°C에서 48시간 동안 배양한 후 복귀돌연변이 집락수를 계수하였다. 음성대조군은 시험물질 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하였으며, 양성 대조군은 대사 활성계 미적용시 SA를, 대사 활성계 적용시 2-AA를 각각 0.1 mL 씩 가하여 같은 방법으로 실시하였다.

시험 결과는 각 plate로부터 얻은 복귀돌연변이 집락수의 평균과 표준편차로 나타내었으며, 돌연변이 유발성의 판정은 복귀변이 집락수가 음성 대조군의 2배 이상이면서 용량의존성을 갖는 경우를 양성으로 하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 반복하여 측정하였으며, 얻어진 결과들은 SAS software(SAS, 1986)를 이용하여 분산분석을 하고 Duncan 다중검정법을 이용하여 각 평균값에 대한 유의차를 조사하였다. 유의수준은 5%

이내로 하였으며, 각 실험치의 평균값과 표준오차(standard errors of the mean)를 보고하였다.

결과 및 고찰

색도 측정

Table 1은 민들레 추출물의 감마선 조사 전후의 색도변화이다. 감마선 조사후 명도(L* value)값은 47.09에서 88.20으로 나타나 상당히 밝아지는 것을 확인할 수 있었고, 적색도(a* value)의 경우 -13.10에서 -0.65로, 황색도(b* value)의 경우 74.54에서 유의적으로 감소하여 37.37로 낮아지는 것으로 나타났다(p<0.05). 이는 Son *et al.*(2001)의 감마선 조사에 따른 녹차추출물의 명도 증가 및 황색도 감소와 유사한 경향을 나타내었으며, 감마선 조사한 간장이나(Song *et al.*, 2001) 멸치액젓의 갈색도(Kim *et al.*, 2000)가 옅어진다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 천연물 내에 색소성분으로 존재하는 chlorophyll과 flavonoid계 색소의 파괴에 의해서 적색도 및 황색도가 감소되면서 명도가 높아진다는 보고(Son *et al.*, 2001)와 유사한 경향을 나타내는 것으로 사료된다. 이는 천연물질을 식품이나 화장품 등에 첨가하여 사용할 때 천연물 자체의 색소로 인하여 다량 첨가하기 어려운 점을 해결할 수 있는 긍정적인 결과로 사료된다.

2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성 측정

생체대사과정이나 스트레스, 염증 등으로부터 생성되는 라디칼을 소거하는 능력을 측정하기 위하여 DPPH 라디칼을 이용하여 민들레 추출물의 소거활성을 측정하였다. DPPH는 짙은 자주색을 나타내며, 그 자체가 질소중심의 라디칼로서 라디칼 전자의 비편재화에 의해 안정화된 상태로 존재하며, 517

Table 1. Change of Hunter color L*, a*, and b* values of irradiated dandelion extracts

Samples	Irradiation (kGy)	L* ¹⁾	a*	b*	ΔE ²⁾
Dandelion	0	47.09 ^{b3)}	-13.10 ^b	74.54 ^a	-
	20	88.20 ^a	-0.65 ^a	37.37 ^b	56.788
	SEM ⁴⁾	0.007	0.011	0.015	

¹⁾Abbreviations : L*(Lightness), a*(redness), b*(yellowness)

²⁾Overall color difference, $\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$

³⁾Values with different letter(a, b) within the same column differ significantly (p<0.05)

⁴⁾Standard errors of the mean (n = 6)

nm부근에서 최대 흡수를 나타내는데, 전자 또는 수소를 받아 환원되면 다시 산화되기 어려워진다(Han *et al.*, 2005; Oh *et al.*, 2004). DPPH법은 항산화 물질의 전자공여능에 의해 환원되어 고유의 자색이 없어지는 정도로 소거활성을 나타내는 방법으로 민들레 추출물에 대한 소거활성은 Table 2와 같다. 민들레 추출물은 농도가 증가함에 따라 저해율이 높아지는 경향을 나타내었으며, 농도 1 mg/mL에서 89.0%(0 kGy)와 86.8%(20 kGy)의 소거활성을 나타내었다. 감마선 조사에 따른 소거활성의 영향은 나타나지 않았다. 이는 녹차추출물의 감마선 조사구 및 비조사구간에 유의적인 차이가 없었다는 보고(Son *et al.*, 2001)와 한약재에 대하여 10 kGy까지의 감마선을 조사한 결과 과산화물, 전자공여능 등 항산화효과에 영향을 끼치지 않는다는 보고(Byun *et al.*, 1999)와 유사한 결과를 나타내어, 감마선 조사가 자유라디칼 소거능에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

Ferric Reducing/Antioxidant Potential(FRAP) 측정

FRAP value의 측정은 화합물의 환원력을 측정하는 방법(Benzie와 Strain, 1996)으로 민들레 추출물의 감마선 조사 전 후의 FRAP value의 측정결과는 Table 2와 같다. 민들레 추출물은 감마선 조사 전 후에 유의적인 차이를 나타내지 않았지만, 조사 후에 항산화능이 증가하는 경향을 보였다. Ahn *et al.*(2004)은 0, 10 및 20 kGy로 조사된 phytic acid의 FRAP values는 조사에 따라 증가된다고 보고하였으며, Fan와 Thayer(2002)는 감마선 조사에 따라 사과주스의 FRAP value가 증가한다고 보고하였다.

Table 2. 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical-scavenging capacity and ferric reducing/antioxidant potential (FRAP) value of irradiated dandelion extract

	concentration (mg/mL)	Irradiation (kGy)		SEM ¹⁾
		0	20	
DPPH radical Scavenging (%)	0.1	23.7 ^{a2)}	17.6 ^b	1.65
	0.5	46.1 ^b	50.3 ^a	0.53
	1	89.0 ^a	86.8 ^b	0.21
FRAP value (mM FRAP/g of samples)		4.1	4.4	0.11

¹⁾Standard errors of the mean (n = 6)

²⁾Values with different letter(a, b) within the same row differ significantly ($p < 0.05$)

또한, Sanchez-Gonzalez *et al.*(2005)은 시료의 폴리페놀 함량과 FRAP values에 상관관계가 있다고 하였다. 이상의 결과로 보았을 때 감마선 조사는 항산화제의 환원력을 나타내는 FRAP value에 긍정적인 영향을 나타내는 것으로 사료된다.

Tyrosinase 활성 저해능 측정

피부에 멜라닌 색소의 침착을 유도하여 피부노화나 피부손상을 초래하는 tyrosinase에 대한 활성 저해능을 살펴보았다. 멜라닌은 tyrosine을 기질로 하여 L-3,4-dihydroxyphenylalanine을 생성시키고 이를 L-dopaquinone으로 전이시키는 연속된 효소적 산화(hydroxylation and oxidation)가 진행된 후 각 생성물의 중합반응 등에 의해 이루어진다(Jung *et al.*, 1995). 민들레 추출물의 감마선 조사 및 비조사물에 대한 tyrosinase 활성 저해능은 Table 3과 같다. 5 mg/mL에서 3.2%(0 kGy), 12.8%(20 kGy)를 나타내었고, 10 mg/mL에서는 7.9%(0 kGy), 18.1%(20 kGy)를 나타내어 감마선 조사가 비조사구에 비하여 유의적으로 높은 효과를 나타내었다. 이는 녹차 추출물에 대한 감마선 조사가 tyrosinase 저해능에 영향을 미치지 않았다는 보고(Son *et al.*, 2001)와는 다른 결과를 나타내었으나, 감마선 조사가 생리활성효과에 긍정적인 영향을 나타내어 감마선 조사의 활용가능성을 보여준다.

Xanthine oxidase 저해능 측정

Xanthine oxidase는 통풍을 일으키는 원인물질인 요산을 형성하는 효소로서 hypoxanthine과 xanthine이 xanthine oxidase를 촉매로 하여 산화되어 요산이 된다. 요산이 혈장 내에서 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 혈액 및 세포조직에 축적되어 통풍

Table 3. Tyrosinase and xanthine oxidase inhibition effect of irradiated dandelion extract

	concentration (mg/mL)	Irradiation (kGy)		SEM ¹⁾
		0	20	
Tyrosinase inhibition effect (%)	1	2.9	5.8	0.83
	5	3.2 ^{b2)}	12.8 ^a	1.50
	10	7.9 ^b	18.1 ^a	0.30
Xanthine oxidase inhibition effec (%)	1	40.0	38.3	0.82
	5	56.2 ^a	47.2 ^b	1.57
	10	74.3 ^a	53.6 ^b	1.00

¹⁾Standard errors of the mean (n = 6)

²⁾Values with different letter(a, b) within the same row differ significantly ($p < 0.05$)

을 유발할 뿐만 아니라 신장에 침착되어 신장질환을 일으키기도 한다(Yeo *et al.*, 1995). 이러한 요산을 생성하는 xanthine oxidase에 대한 활성저해능을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 비조사구의 경우 농도 1 mg/mL에서 40.0%의 저해율을 보였으며 농도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내어 농도 10 mg/mL에서 74.3%의 저해율을 나타내었다. 반면, 조사구의 경우 농도 1 mg/mL에서 38.3%의 저해율을 보였고, 농도 10 mg/mL에서 53.6%의 저해율을 나타내어 농도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였으나 비조사구에 비하여 낮은 저해율을 보였다 ($p < 0.05$). 비조사구는 농도 5 mg/mL 및 10 mg/mL에서 조사구에 비하여 유의적으로 높은 저해효과를 나타내었다. 이는 Yeo *et al.*(1995)가 보고한 녹차(중제차)의 catechin 화합물의 농도별 xanthine oxidase 억제작용에서 농도 1, 5 및 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 에서 각각 65, 85 및 92%의 저해율보다 낮은 효과를 나타내었다.

복귀 돌연변이 시험(Ames test)

Ames test는 화학물질이 돌연변이원인지를 결정하는데 이용되며, 돌연변이인자(mutagen)인 물질은 또한 암유발인자(carcinogen)가 된다는 가정에 기초를 두고 있다. 현재 널리 사용되는 균주는 TA1535, TA1537, TA98, TA100 등이 있으며, 이 중 TA1535와 TA100은 변이원물질에 의하여 G:C 쌍이 A:T 쌍으로 전환(point mutaiton)되면 그 개체가 생존하여 콜로니를 형성하는 base pair substitution

mutation을 검출하기 위해 만든 균주이며, TA1537과 TA98은 변이원물질에 의하여 G:C쌍이 추가되거나 상실되면 그 개체가 생존하여 콜로니를 형성하는 frameshift mutation을 검출하기 위해 만든 균주이다. 본 실험에서는 초기 시험에서 주로 사용되는 TA100과 TA98을 사용하여 실험하였으며, 대사활성제(S9)를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우, 시험물질에 의한 *Salmonella. Typhimurium* TA98 및 TA100 균주를 이용한 복귀돌연변이 시험을 하였다. 실험한 결과는 Table 4 및 Table 5와 같다. 두 균주의 생균수는 $1.0\text{-}1.8 \times 10^9$ CFU/mL 수준이었으며, 민들레 추출물의 농도 및 감마선 조사에 따른 복귀변이 집락수의 증가를 보이지 않았다. 일반적으로 돌연변이원성의 판정은 음성대조구의 복귀변이 집락수의 2배 이상인 경우를 양성으로 하므로, 본 실험의 감마선 조사 및 비조사된 시료에 대하여 모든 농도에서 복귀돌연변이를 유발하지 않은 것으로 사료된다. Lee *et al.*(2005)는 김밥 오염원 예측 및 미생물학적 안전성 개선을 위한 감마선 조사 효과에서 10 kGy로 조사된 김밥재료는 유전독성학적으로 안전하다고 보고하였다. 또한, Kang *et al.*(1998)은 감마선조사 쇠고기의 유전독성 및 급성독성학적 안전성평가에서 5 kGy로 조사된 쇠고기는 유전독성학적으로 안전하다고 보고하였다.

본 실험에서는 우리 주변에서 쉽게 구할 수 있으며, 예로부터 약초 및 식품 재료로 이용되어 온 민들레에 대하여 그 추출물을 감마선 조사하여 이에

Table 4. Ames test of non-irradiated and irradiated dandelion extract using *S. typhimurium* TA 98

Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	No. of revertant colonies (His+) per plate	
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)
Dandelion extract	0	10,000	18 ± 4.2 ¹⁾	17 ± 5.7
		5,000	15 ± 0.7	15 ± 0.7
		2,500	14 ± 3.5	30 ± 12.0
		1,250	10 ± 1.4	18 ± 2.8
		625	10 ± 0.7	12 ± 4.2
		10,000	22 ± 0.7	21 ± 7.8
Dandelion extract	20	5,000	23 ± 2.1	38 ± 9.2
		2,500	21 ± 7.8	21 ± 2.8
		1,250	13 ± 5.0	31 ± 8.5
		625	13 ± 5.0	20 ± 5.0
		10,000	22 ± 0.7	21 ± 7.8
Negative control	H ₂ O		16 ± 4.7	20 ± 5.5
Positive control	4-NQO ²⁾		415 ± 13.3	
	2-AA			1740 ± 73.5

¹⁾Values are the mean ± standard deviation

²⁾Abbreviations: 4-NQO(4-nitroquinoline-1-oxide), 2-AA(2-aminoanthracens)

Table 5. Ames test of non-irradiated and irradiated dandelion extract using *S. typhimurium* TA 100

Sample	Irradiation dose (kGy)	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	No. of revertant colonies (His+) per plate	
			TA98 (-S9)	TA98 (+S9)
Dandelion extract	0	10,000	199 \pm 17.7 ¹⁾	222 \pm 20.5
		5,000	173 \pm 9.2	174 \pm 61.5
		2,500	167 \pm 4.2	189 \pm 7.1
		1,250	175 \pm 7.8	160 \pm 1.4
		625	163 \pm 13.4	188 \pm 9.9
	20	10,000	175 \pm 21.2	174 \pm 7.8
		5,000	157 \pm 5.7	159 \pm 12.0
		2,500	179 \pm 12.7	219 \pm 65.1
		1,250	163 \pm 41.0	183 \pm 2.1
		625	185 \pm 18.4	195 \pm 12.7
Negative control	H ₂ O		244 \pm 18.5	204 \pm 18.4
Positive control	SA ²⁾		346 \pm 29.7	
	2-AA			1914 \pm 82.0

¹⁾Values are the mean \pm standard deviation

²⁾Abbreviations: SA(sodium azide), 2-AA(2-aminoanthracens)

다른 색도 및 생리활성 변화를 관찰하였다. 그 결과 민들레 추출물은 감마선 조사에 의하여 색상은 개선되면서 생리활성에 긍정적인 영향을 미치며, 유전독성학적으로 안전한 것으로 나타났다.

요 약

감마선 조사에 의한 민들레 추출물의 생리활성 및 물리화학적 변화를 살펴보았다. 민들레 추출물을 20 kGy로 감마선 조사하여 측정된 결과 감마선 조사 후 명도 및 적색도가 높아지고 황색도가 낮아짐으로써 더 밝은 색을 띄었다. DPPH를 이용한 라디칼 소거능 실험에서는 감마선 조사가 소거활성에 영향을 나타나지 않았으며, FRAP을 이용한 항산화능 실험에서는 감마선 조사구가 높은 항산화능을 나타내는 경향을 보였다. 감마선 조사후 민들레 추출물에 대한 tyrosinase 활성 저해효과에서는 감마선 조사구가 비조사구에 비하여 유의적으로 높은 효과를 나타내었으며, xanthine oxidase 저해효과에서는 감마선 비조사구가 조사구에 비하여 높은 저해율을 나타내었다. 또한, 조사구 및 비조사구에 대한 유전독성학적 안전성을 평가한 결과 농도에 따른 복귀돌연변이 집락수의 증가는 보이지 않았다. 이상의 실험결과를 통해 민들레 추출물에 대한 감마선 조사는 민들레 추출물의 색상을 개선하는데 유용한 방법이며, 민들레의 생리활성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그리고 감마선에 의

한 생리활성의 변화 기작에 관한 연구는 지속적인 연구가 필요하다고 사료된다.

문 헌

- Ahn, H.J., J.H. Kim, C. Jo, M.J. Kim and M.W. Byun. 2004. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chem.* **88**: 173-178.
- An, B.J., J.H. Kwak, J.H. Son, M.J. Park, J.Y. Lee, C. Jo and M.W. Byun. 2004. Biological and antimicrobial activity of irradiated green tea polyphenol. *Food Chem.* **88**: 547-555.
- Benzie, I.F.F. and J.J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* **230**: 70-76.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1190-1200.
- Byun, M.W., C. Jo, T.W. Jeon and C.H. Hong. 2004. Effect of gamma irradiation on color characteristics and biological activities of extracts of *Lonicera japonica* (japanese honeysuckle) with methanol and acetone. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **37**: 29-33.
- Byun, M.W., H.S. Yook, K.S. Kim and C.K. Chung. 1999. Effects of gamma irradiation on physiological effectiveness of Korean medical herbs. *Rad. Phy. Chem.* **54**: 291-300.
- Fan, X. and D.W. Thayer. 2002. γ -Radiation influences browning, antioxidant activity, and malondialdehyde level of Apple juice. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 710-715.
- Han, S.H., J.K. Hwang, S.N. Park, K.H. Lee, K.I. Ko, K.S.

- Kim and K.H. Kim. 2005 Potential Effect of Solvent Fractions of *Taraxacum mongolicum* H. on Protection of Gastric Mucosa. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37(1)**: 84~89.
- Jo, C., J.W. Lee and M.W. Byun. 2001. Short communication of novel application of food irradiation. *J. Food Sci. Nutri.* **6**: 253-256.
- Jo, C., J.H. Son and M.W. Byun. 2003 Irradiation application for color removal and purification of green tea leave extract. *Rad. Phy. Chem.* **66**: 179-184.
- Jung, S.W., N.K. Lee, S.J. Kim and D.S. Han. 1995. Screening of Tyrosinase Inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27(6)**: 891-896.
- Kang, I.J., H.J. Kwak, B.H. Lee, K.H. Kim, M.W. Byun and H.S. Yook. 1998. Genotoxicological and acute toxicological safeties of gamma irradiated beef. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30(4)**: 775-780.
- Kang, M.J. and K.S. Kim. 2001. Current Trends of Research and Biological Activities of Dandelion. *Food Ind. Nutr.* **6(3)**: 60-67.
- Kang, M.J., S.R. Shin and K.S. Kim. 2002. Antioxidative and Free Radical Scavenging Activity of Water Extract from Dandelion(*Taraxacum officinale*). *Korean J. Food Preservation* **9(2)**: 253~259.
- Kim, J.H., H.J. Ahn, J.O. Kim, K.H. Ryu, H.S. Yook, Y.N. Lee and M.W. Byun. 2000. Sanitation and quality improvement of salted and fermented anchovy sauce by gamma irradiation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29(6)**: 1035-1041.
- Kim, K.H., K.C. Min, S.H. Lee and Y.S. Han. 1999. Isolation and Identification of Antimicrobial Compound from Dandelion(*Taraxacum platycarpum* D.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28(4)**: 822~829.
- Kim, J.K., C. Jo, H.J. Hwang, H.J. Park, Y.J. Kim and M.W. Byun. 2006. Color improvement by irradiation of *Curcuma aromatica* extract for industrial application. *Rad. Phy. Chem.* **75**: 449-452.
- Lee, E.B., J.K. Kim and O.K. Kim. 1993. The antigastric effect of *Taraxaci Herba*. *Korean J. Pharmacogn.* **24(4)**: 313-318.
- Lee, N.Y., C. Jo, H.J. Chung, H.J. Kang, J.K. Kim, H.J. Kim and M.W. Byun. 2005. The Prediction of the Origin of Microbial Contamination in *Kimbab* and Improvement of Microbiological Safety by Gamma Irradiation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37(2)**: 279-286.
- Maron DM and Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella mutagenicity* test. *Mutat. Res.* **113**: 173-215.
- Masamoto, Y., S. Iida and M. Kubo. 1980. Inhibitory effect of chinese crude drugs on tyrosinase. *Planta Med.* **40**: 361-365.
- Mascolo N, Autore G, Capasso F, Menghini A. and Fasulo MP. 1987. Bio-logical screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity. *Phytotherapy Res.* **1**: 28-31.
- Mizuno D. 1981 Antitumor agent. Japan patent 5,600,117.
- Oh, J.H., E.H. Kim, J.L. Kim, Y.I. Moon, Y.H. Kang and J.S. Kang. 2004. Study on Antioxidant Potency of Green Tea by DPPH Method. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33(7)**: 1079-1084.
- Snchez-Gonzlez, I., A. Jimenez-Escrig and F. Saura-Calixto. 2005. In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures(Italian, espresso and filter). *Food Chem.* **90**: 133-139.
- SAS. 1986. SAS Users Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC
- Son, J.H., C. Jo, M.R. Kim, J.O. Kim, M.W. Byun. 2001. Effect of Gamma Irradiation on Removal of Undesirable Color from Green Tea Extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30(6)**: 1305-1308.
- Song, T.H., D.H. Kim, B.J. Park, M.G. Shin and M.W. Byun. 2001. Changes in microbiological and general quality characteristics of gamma irradiated Kangjang and Shoyu. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**: 338-344.
- Stirpe, F. and E.D. Corte. 1969. The regulation of rat liver xanthine Oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**: 3855-3863.
- Takasaki M, T. Konoshima, H. Tokuda, K. Masuda, Y. Arai, K. Shiojima and H. Ageta. 1999a. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. I. *Biol. Pharm. Bull.* **22**: 602-605.
- Takasaki M, T. Konoshima, H. Tokuda, K. Masuda, Y. Arai, K. Shiojima and H. Ageta. 1999b. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. II. *Biol. Pharm. Bull.* **22**: 606-610.
- Yeo, S.G., Y.B. Park, I.S. Kim, S.B. Kim and Y.H. Park. 1995. Inhibition of Xanthine Oxidase by Tea Extracts from Green Tea, Oolong Tea and Black Tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24(1)**: 154-159.