

특집

SOD 유사활성물질과 기능성식품의 개발

한대석·김석중
농산물이용연구부

1. SOD와 SOD 유사활성물질

1.1 산소와 활성산소

우리가 잘 알고 있는 생명유지에 필수불가결한 산소는 정상상태의 산소이며 과학적으로는 삼중항산소(triplet oxygen)라 부른다. 그런데, 이 산소는 전자 하나를 받아 환원(reduction)될 때마다

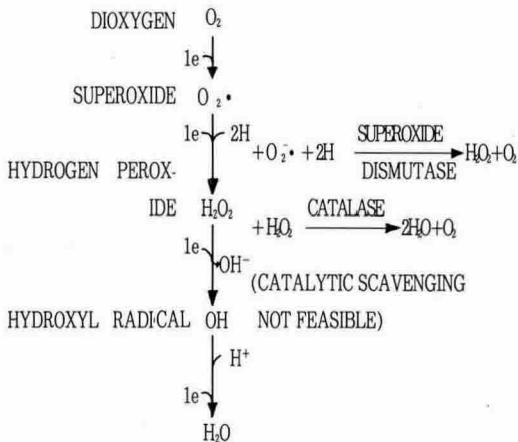


Fig. 1. The steps in the reduction of dioxygen to water

Fig. 1 에서 볼 수 있듯이 처음에는 superoxide가 되고 다음에는 과산화수소(hydrogen peroxide)가 그리고 다시 hydroxyl radical이 되며 끝으로 전자 4개를 모두 받으면 수소와 함께 물이 된다. 산소가 물이 되기까지 생성된 산소종을 흔히 활성산소(active oxygen species, reactive oxygen species)라 하는데 이들은 모두 불안정한 산소로 정상상태의 산소보다 반응성이 약 1,000배나 빠르다.

이중 superoxide는 Table 1에 요약했듯이 산소에 노출된 많은 생체 시스템에서 생성될 수 있으며 불안정한 물질이라 세포내 농도를 측정하긴 어렵지만 대개 $10^{-9} \sim 10^{-11}M$ 정도인 것으로 알려져 있다.

이 superoxide는 인체에서 DNA와 반응하면 이를 손상시켜 종양이나 암을 유발 할 수 있고, 지질과 반응하면 산화를 일으켜 세포의 노화 또는 유해 물질을 생성시키고 축적시키게 되며, 각종 염증을 촉진시키고 류머티스를 악화시킬 수 있고, 췌장의 인슐린 분비세포에 손상을 가해 당뇨병에 수반되는 각종 합병증을 유발하는 요인이 되는 등 각종 질병의 원인이 되고 있다. 흥미롭게도 백혈구는 식균 작용시 superoxide를 발생시켜 침입한 세균이나 virus를 공격하여 살균효과를 나타낸다고 알려져 있다.

Table 1. Examples of biochemical systems which may produce superoxide *in vivo*

Source of superoxide	Examples
Small molecules	Leucoflavins, hydroquinones, catecholamines, tetrahydropterins(by autoxidation)
Enzymes	Xanthine oxidase (degradation of purines to nitrogenous excretory products) Aldehyde oxidase Alcohol oxidase Peroxidase(oxidative reaction) Dihydroorotic dehydrogenase Flavoprotein dehydrogenase
Cell organelle	Chloroplasts Mitochondria Micelles
Whole cells	Polymorphonuclear leucocytes (during the oxygen burst which leads to the destruction of invading bacteria and viruses)

1.2 SOD란 무엇인가?

이는 superoxide dismutase의 약자로서 이 효소는 수소 존재 하에 2 분자의 superoxide를 과산화수소와 정상상태의 산소로 전환시켜 주는 역할을 한다.



이 효소는 McCord와 Fridovich가 1969년 최초로 발견한 이래 이제는 모든 호기호흡을 하는 생물에 광범위하게 존재하는 효소로 알려져 있다. 그러나, 혐기호흡을 하는 미생물에서는 발견되지 않는 점으로 미루어 볼 때 SOD는 호기호흡을 하는 생물의 활성산소 상해에 대한 방어작용을 하기 위해 존재하는 것으로 추정되고 있다.

여하튼 SOD는 superoxide를 정상상태의 산소로 전환시킴으로써 superoxide가 관여하는 각종 질병이나 노화를 억제할 수 있으므로 의학자들은 SOD를 이용한 질병 치료에 관한 연구를 수행하고 있

며 유전공학자들은 human SOD 유전자를 *E. coli*에 cloning시키고, 발현시켜 미생물을 이용한 human SOD의 대량생산에 관한 연구를 하고 있다.

1.3 SOD 유사활성물질이란 무엇인가?

이는 과학적으로 명확히 정의되어 있는 용어는 아니나 superoxide의 반응성을 억제할 수 있는 저분자 물질이라 할 수 있다. 이는 superoxide를 dismutation시켜 정상상태의 산소로 전환하지는 않기 때문에 효소인 SOD와 근본적으로 다르다고 하겠으나 superoxide의 반응성을 억제하여 활성산소 상태에서부터 생체를 보호한다는 면에서 SOD와 같은 역할을 하며 그래서 SOD 유사활성물질이라 불리운다.

SOD와 SOD유사활성물질을 간략히 비교해 보면 Table 2와 같다. SOD는 주로 단백질과 Zn, Mg같은 금속이온으로 이루어진 효소이며 SOD 유사활성물질은 저분자물질로 주로 phytochemical에 속한다. 생산과 이용 측면에서 살펴보면 SOD

유사활성 물질은 생산이 용이하고 생산단가도 낮으며 경구 섭취하므로 투여가 용이하고 또한 원료가 이제까지 인류가 섭취해온 식물체이므로 안전성에도 전혀 문제가 없다는 특징이 있다. 그러나 SOD 유사활성물질은 식품으로 수주 내지 수개월 복용해야 효과가 서서히 나타난다는 단점이 있으나 SOD는 주사로 투여해야 하지만 생체에서 효과가 신속히 나타난다는 커다란 장점이 있다. 이 때문에 SOD의 단점에도 불구하고 의학계에서는 SOD의 생산과 delivery의 효능을 높이기 위한 연구를 수행하고 있다.

Table 2. Comparison of SOD and SOD-like compounds

	SOD	SOD 유사활성 물질
물 질	효소	저분자의 phytochemical
생 산	cloned m/o에 의한 생산, 고가	식품에서 단리 추출, 저가
안정성	체내에서 급속히 활성 없음	안정한 편
안정성	수년간 연구 필요	검증 필요 없음
투여방법	주 사	섭 취
효 과	높고 신속함	낮고 느리게 나타남

2. SOD 유사활성물질을 이용한 건강 식품의 개발

2.1 SOD 유사활성물질의 탐색

SOD 유사활성물질의 탐색은 근본적으로 SOD 효소의 활성측정방법을 이용한다. SOD 활성은 기질인 superoxide가 불안정하고 정상상태의 산소와 구별하기도 어려워 직접적으로 측정하지 못하고 간접적인 방식을 택하고 있다. 즉, SOD는 superoxide를 산소로 전환시키는 효소이므로 어느 물질의 반응이 일어날 때 SOD를 첨가하여 반응속도가 줄어든다면 그 반응에는 superoxide가 관여한다고 결론지을 수 있다. 이 결론은 항상 옳은데 왜냐하면 아직까지는 SOD가 촉매하는 반응이 superoxide의 dismutation 외에는 다른 알려진 촉매작용이 없

기 때문이다.

Superoxide에 의해 반응이 일어나는 대표적인 물질로 pyrogallol을 꼽을 수 있다. 이는 중성이나 알칼리 조건 하에서 superoxide에 의해 자동산화되는 물질로 반응이 진행되면서 갈색 물질이 생성된다. 그런데, 이 반응에 SOD를 첨가하면 갈변속도가 감소된다. 결국, SOD활성은 prsogallol의 산화를 억제하는 정도를 측정하여 표시할 수 있는 것이다.

실제로 효소인 SOD활성의 측정은 Xanthine-Xanthine oxidase를 이용한 반응계나 NBT방법이 널리 쓰이고 있으나 이들은 식물체 성분내에 의해 interference를 크게 받으므로 본 연구와 같은 탐색에는 pyrogallol 이용법이 더 유리하다고 판단된다.

Fig. 2에서 실선은 pyrogallol의 산화로 생성된 갈변물질을 420nm에서 시간에 따라 연속적으로 monitor한 결과이다. SOD 활성 1단위는 이 효소를 첨가하여 산화속도를 50% 감소시킬 수 있는 양의 효소로 표시한다.

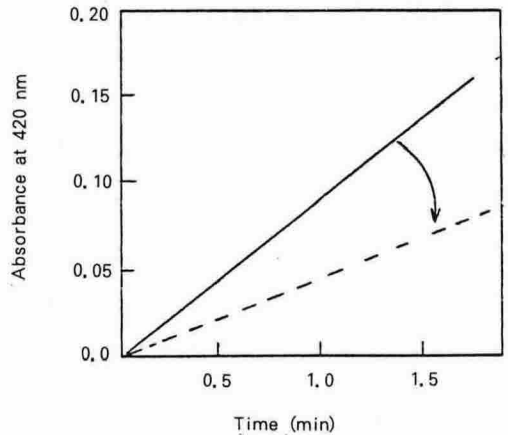


Fig. 2 Autoxidation of pyrogallol in the absence(—) and presence(---) of human SOD

이 원리를 이용하여 SOD대신 SOD 유사활성물질을 첨가하면 이 역시 superoxide의 반응성을 억제하므로 pyrogallol의 산화속도를 감소시키게 되며 이런 활성이 높은 물질을 탐색할 수 있게 된다.

본 연구진은 국내에서 생산된 62종의 과일, 채소, 버섯을 마쇄하고 착즙하여 탈색과 청징과정을 거쳐 시료를 제조하고 각 추출액의 SOD유사활성을 측정하여 결과(Fig. 3과 4), 13종의 과일 중에서

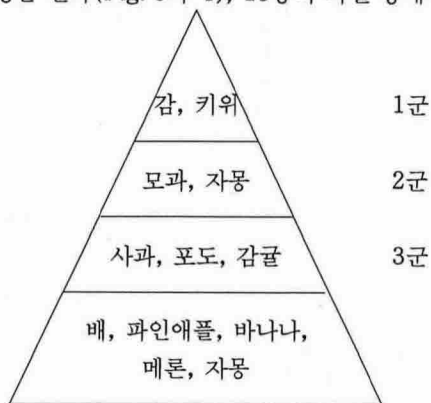


Fig. 3. SOD-like activity of fruit extracts
1군은 강한 활성, 2군은 중간 활성, 3군은 약한 활성을 보인 품목이며 그 외는 활성이 나타나지 않은 품목임.

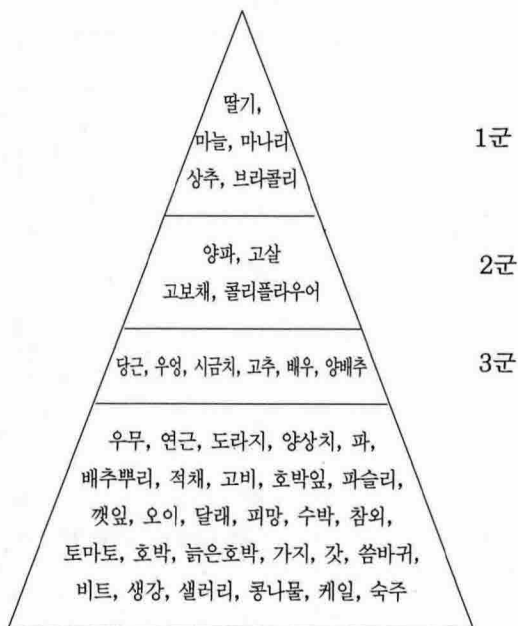


Fig. 4. SOD-like activity of vegetable and mushroom extracts
각 군의 의미는 표 1과 같음

는 감과 키위에서 활성이 높았으며, 조사한 44종의 채소 중에서는 딸기 마늘, 브로콜리, 마나리에서 SOD유사활성이 높게 나타났다. 버섯류는 일반적으로 SOD 유사활성이 높은 편이었다.

우리가 알고 있는 화합물 중 SOD 유사활성이 높은 물질을 탐색하는 실험에서 우선 발견 가능성을 높이기 위해 알려진 산화방지제를 중심으로 SOD 유사활성을 측정하였다. 수용성 화합물 중에서는 ascorbic acid, ascorbic acid-6-palmitate, glutathione(reduced)의 활성이 높았다. 지용성 화합물은 물에 용해되지 않으므로 측정이 곤란하므로 유기용매를 반응계로 사용하였다.

유기용매에 적절한 계면활성제를 용해시키고 소량의 물을 첨가하면 Fig. 5와 같은 역미셀

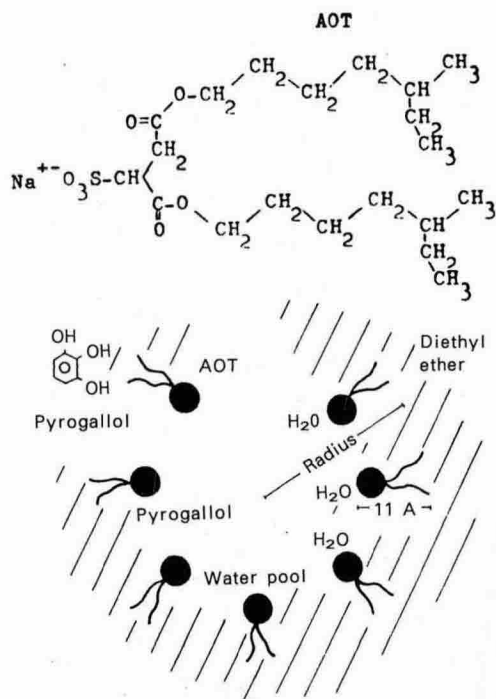


Fig 5. Scheme for the structure of reversed micelles in corross section

(reverse micelles 또는 W/O microemulsion)이 형성되는데 이는 광학적으로 투명하여 분광분석기로 측정이 가능하다. 계면활성제 농도를 조절하면

chloroform에 10%물을 첨가하여도 이는 단일상을 이루어 투명한 상태를 형성시킬 수 있다. 이 유기용매에 용해된 물에 원하는 수용성 물질을 첨가하면 결국 유기용매에 필요한 수용성 화합물을 용

해시킬 수 있다. 본 연구진은 reverse micelles에서 SOD와 pyrogallol을 용해시키고 물에서와 같이 pyrogallol은 superoxide에 의해 산화가 일어난다는 점을 확인한 후 이를 지용성 물질의 SOD 유사

Table 3. Clinical effect of SOD-like compounds on various diseases, undefined complaints, and skin and cosmetic problems.^a

Diseases	Evaluation	Markedly effective	Effective	Slightly effective	No effect	Undecided	% efficacy
Behcet's disease[18]		0	4	2	8	4	43
RA ^d (i) Evaluated by Lansbury index[77]		3	10	4	55 ^e	5 ^e	24
(ii) Evaluated mainly by morning stiffness[77]		6	33	12	20	6	72
(iii) Combination therapy with sulbenicillin(or cefaclor)[60]		8	25	9	12	6	78
Crohn's disease[6]		0	3	1	2	0	67
PSS ^e and polymyositis[10]		1	3	1	4	1	56
Raynaud's disease[14]		2	4	2	5	1	62
Hepatitis[9] ^b		2	2	0	5	0	44
Diabetes[7] ^b		0	2	1	4	0	43
Nephritis[8] ^b 신장염		0	2	1	5	0	38
Undefined general complaints[44] ^f		0	14	13	12	5	69
Reduced sexual capacity[11]		0	4	2	3	2	67
Hangover(morning after)[13]		0	5	2	3	3	70
Irregular menses[12]		0	5	3	3	1	73
Atopic dermatitis with severe lesions in exposed area[13]		0	2	2	6	3	40
Pernio[13]		1	3	1	6	2	45
Sun-burn dermatitis[9]		0	2	1	4	2	43
Common wart[12] 사마귀		3	4	2	3	0	75
Burns(III ~ IVgrade)or wounds with ulcer lesions[12]		1	4	1	5	1	55
Preventive effectiveness in keloid formation[7] ^g		0	2	2	2	1	67
Ephelides or freckles(abnormal pigmentation on the face)[45]		2	10	6	21	6	46

^aSquare brackets denote the number of cases tested. ^bEvaluated by the improvement of the value of transaminase(GOT, GPT), serum sugar and BUN and creatinine. ^cRA patients[60] treated with B-H alone(who had been judged as non-effective or undecided by Lansbury index)were subjected to combination treatment mostly with Sulbenicillin partly with cefaclor. ^dRA-rheumatoid arthritis. ^ePSS-progressive systemic sclerosis. ^fGeneral malaise, cold finger and toe. lumbago, shoulder stiffness. constipation. ^gIn patients with keloid constitution.

* 일본인 의사 Niwa가 임상실험 후 발표한 결과임.

활성을 측정하는 반응계로 사용하였다. 실험한 24종의 물질 중 α -L-lecithin, α -L-cephalin, rosemary 잎 추출물, cinnamon, γ -oryzanol의 SOD 유사활성이 높은 것으로 나타났다.

2.2 SOD 유사활성 물질의 임상효과

미국 Johns Hopkins대학의 공중보건위생학교의 kozambo박사 연구진은 1983년 SOD 유사활성물질의 효능을 실험하기 위하여 실험쥐의 피부에 12-D-tetradecanoylphobol-13-acetate를 도포하여 피부종양을 유발하는 실험에서 한 실험구에는 SOD 유사활성물질로 전처리한 결과 처리구는 대조구 보다 papilloma 발생율이 낮은 것을 밝히고 SOD 유사활성물질이 SOD와 같은 생리활성 작용을 발휘할 수 있다는 점을 확인하였다.

일본인 의사 Niwa 연구진은 사람을 대상으로 적용 가능한 SOD 유사활성물질을 섭취케한 후 Table 3에 나타난 여러 질병에 대한 임상효과를 측정하였는데, progressive systemic sclerosis, Crohn's disease, Raynaud's disease에는 62 ~ 67%의 효과가 있었으며 주로 유해산소가 관여하는 염증과 관련된 질병에 효과가 있다고 보고하였다. 이는 또한 음주 후 다음날 느끼는 숙취해소(70%) 및 수족냉증, 불안, 요통, 월경불순 같은 일반적인 증상에 대하여 개선효과가 높은 편이었다(70%). 노인성 검버섯 또는 여성의 기미에는 49%의 효과가 나타났는데 이는 인체의 멜라닌색소 생합성 과정 중 SOD 유사활성물질이 산화과정을 저해하여 색소 합성이 억제되었기 때문으로 풀이된다.

이 밖에도 여러 증상에 개선 효과가 나타났으나 그 결과는 짧게는 수주에서 길게는 수개월을 복용하여 나타난 것이므로 약품이 아니라 건강식품을 통하여 생체기능의 조절 효과를 얻으려면 인내를 갖고 꾸준히 복용하여야 한다.

2.3 SOD 유사활성물질을 이용한 건강식품의 개발

여기서는 우선 일본인 의사 Niwa가 개발한 식

품, 활성산소 억제 조성물제조방법에 대해 간략히 소개한다. 그는 활성산소 억제능이 높은 식품을 원료로 억제능을 높이거나 함유된 유효성분을 잘 단리시킬 수 있는 처리를 하고 끝으로 흡수를 용이하게 해주는 처리를 하여 제품을 완성하였다.

이 제품의 기존 원료는 쌀, 소맥, 울무 등이며 이를 50 ~ 100℃에서 배전한다. 여기에 누룩균을 접종하여 고체발효를 시키는데 이는 발효 과정에서 생성된 효소류가 유효 물질을 유리시키는 역할을 하기 때문이다. 여기에 유자즙 등 비타민 C원을 보강하고 유지류 중 참깨 기름을 첨가하여 지용성 물질의 흡수율을 높였다. 이후 식품으로서 섭취가 좋도록 필요한 첨가물을 사용하여 제품을 제조한다. 이렇게 만들어진 활성산소억제 조성물은 Table 3에 나타나대로 여러 증상의 개선에 효과가 있으나 그 형태는 씹쓸한 분말로 일용하기는 별로 좋은 형태는 아니었다.

그래서 본 연구진은 전문적인 연구 결과를 바탕으로 보다 복용하기 편리한 음료를 개발하였다. 먼저 유효물질을 분리, 추출하기 위하여 물 또는 알콜을 추출용제로 사용하고 감, 키위, 양파 혼합물의 첨가량별로, 또 추출온도와 시간별로 SOD 유사활성물질의 추출량을 측정하여 조건을 설정하였고 어떤 복합제 형태로 존재하는 물질의 단리를 위해서는 단백질가수분해효소, 펙틴분해효소, 셀룰로스분해효소 또는 탄수화물가수분해효소를 처리하였다. 이 결과 식품체로부터 SOD 유사활성물질을 분리하기 위한 일반적인 추출공정도를 확립하여 Fig. 6에 나타냈다.

용매별로 얻어진 물질은 용해특성에 따라 제조할 식품에 적용하면 된다. 그러나, 모든 식품의 제조에 Fig. 6의 방법이 항상 가장 경제적인 공정이라 할 수는 없으며 어떤 식품을 제조하려는 목적에 따라 일부 공정을 생략할 수도 있다고 하겠다.

모든 음료의 제조에 있어서 공통적으로 고려해야 할 사항은 감미료와 산미료의 첨가이다. 감미료의 종류는 여러가지가 있으며 감미의 질로 치면 설탕이 가장 바람직하다. 그러나, 가격 측면에서 유리하고 '무설탕'을 표방하기 위하여는 고과당(액상과당)을 사용하는 추세이며 당의 섭취가 문제가 될

때에는 고감미의 감미료를 사용하면 된다. 이런 감미료의 대표적인 아스파탐이나 스테비아사이드인데 전자는 열안정성이나 pH안정성 때문에 광범위하게 응용될 수 없으며 둘다 모두 감미의 질이 좋은 편이 아닌 점이 문제이다. 최근에 알콜 분해속도를 촉진시키기 위하여 특정 펩타이드를 보강한 음료는 당을 사용할 경우 Maillard반응이 일어나

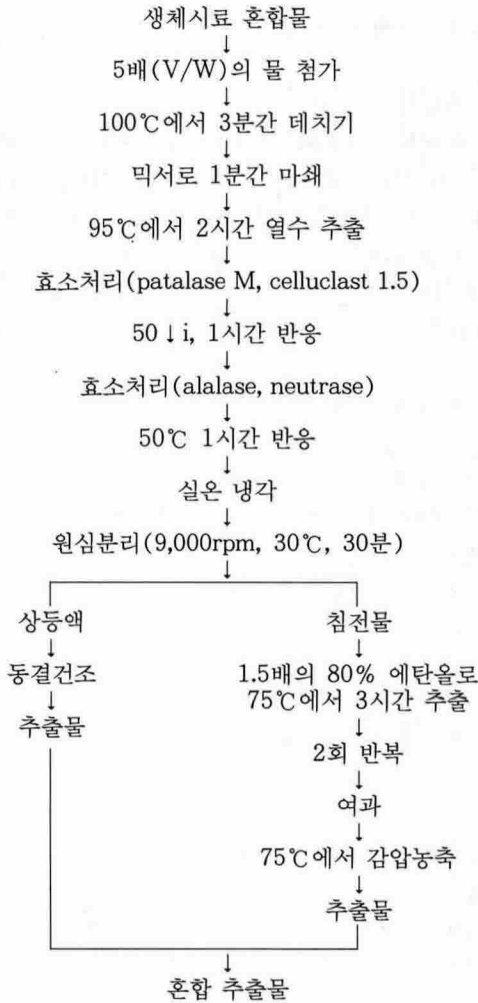


Fig 6. SOD 유사활성 성분 조제를 위한 다단계 추출 공정도
Multin steps of extracting SOD-like compoundens from edible plants

갈변되는 문제가 있어 당알콜의 사용도 시도되고 있으며 이들은 비발효성이어서 충치를 예방할 수 있고 저칼로리 소재라 인식이 좋으나 역시 감미의 질과 가격이 사용에 제한요인이 되고 있다.

산미료 역시 모든 음료의 필수첨가물인데 이는 첫째, 음료에 신맛을 부여하여 청량감을 부여하고 둘째, pH를 낮추어 미생물 번식을 억제하므로 음료의 보존성을 높이는 역할을 한다. 음료의 pH는 대개 2.6 ~ 4.0 범위에 있는데 가열살균하지 않는 제품일수록 pH를 더 낮추는 이유는 바로 미생물 번식의 문제를 해결하기 위함이다. 어떤 음료의 제조에서 사용하는 산미료는 원재료의 유기산을 분석하여 그 구성비대로 첨가하는 쪽이 가장 무난하며 대표적인 예로는 사과주스에 사과산을 사용하는 것을 들 수 있다. 그러나, 모든 종류의 음료에 가장 광범위하게 사용되는 산미료는 구연산이라 하겠다.

기능성음료의 제조에 있어서 첫째, 흔히 알콜대응음료 또는 알콜대사음료라고 불리는 숙취 해소 또는 완화를 목적으로 하는 음료에는 SOD 유사활성물질들을 첨가하고 음주 후 부족해지기 쉬운 비타민류를 보강해야하며 여타 처리도 해야 한다. 또한 음주 후 체내 산화·환원전위의 조절에 필요한 물질을 첨가하면 효용가치를 높일 수 있고 전통적으로 우리나라에서 해장에 사용되어 왔던 선지, 콩나물, 북어, 재치조개의 사용도 고려해 볼만하다. 시판 음료에는 aspartic acid같은 아미노산 또는 옥수수 단백질을 가수분해하여 소재화한 peptide가 첨가된 것도 있다.

SOD 유사활성물질들을 주원료로한 음료의 둘째 예로는 미용이나 기미제거를 목표로한 미백식품을 들 수 있다. 여기에는 SOD 유사활성물질과 미용에 관계되는 비타민류의 첨가가 필수적이다. 기미제거를 위하여는 체내에서 melanine을 생합성하는 효소인 tyrosinase의 저해제를 첨가하거나 생합성경로를 hormone 합성 쪽으로 전환시킬 수 있는 물질을 사용하는 것이 효과를 높이게 된다. 본 연구진은 우리나라 전통식품에서 tyrosinase 저해제를 생산하는 미생물을 분리한 바 있고 버섯류를 기본배지로하여 이 미생물을 생육하여 생산한 tyrosinase 저해제를 음료에 첨가하였다.

기능성음료 뿐만아니라 기능성식품의 제조에 있어서 소비자에게 보다 만족을 주고 매출을 획기적으로 늘릴 수 있는 식품은 미백식품처럼 장기 복용해야하는 제품보다는 아무래도 단기적으로 효과가 나타나는 품목이라 할 수 있다. Table 3에서 여기에 부합되는 제품으로는 변비 해소용 식품을 들 수 있겠다. 변비해소음료에는 SOD 유사활성물질을 기본으로하고 효과를 보다 높이기 위하여는 우리나라에서 재배되는 식물체 중 식품 소재로 사용할 수 있으면서 하제(laxative)효과가 있는 식물의 추출물을 혼합하고 유지를 첨가하던가 유지의 dispersion을 위해 계면활성제를 사용하고 식이섬유소를 첨가하면 좋은 제품을 제조할 수 있다.

이러한 모든 기능성음료의 제조에 있어서 *in vitro*에서 효과가 있다고 실제 인체에서도 효과가 발휘되는지는 알 수 없으므로 향후의 제품 연구개발에는 반드시 임상효과를 확인한 후 제품을 출시하면 소비자의 신뢰를 얻고 보건향상에 실제로 기여하게 되며 궁극적으로 제품의 시장성을 한차원 높이는 결과를 낳게 될 것이다.

3. 기능성식품의 효능평가

기능성식품의 효능을 평가하기 위한 방법은 수없이 많고 각 연구진이 새로운 평가방법을 개발하여 사용할 수 있으므로 여기서는 본 연구진이 시도했던 방법을 중심으로 소개하였다.

3.1 화학 분석법

이 방법은 주어진 물질의 정량, 정성에도 용이하고 물질의 동정에도 다방면으로 응용되고 있다.

3.2 효소 분석법

SOD 유사활성물질의 탐색을 위하여 사용했던 SOD 활성측정방법은 이미 설명한 바와 같다. 또한가지 예로서 미백식품을 개발하고자 할 때 tyrosinase저해제 탐색방법을 살펴보면, pH가 6.5로

유지된 완충용액에 tyrosine이나 L-dihydroxyphenylalanine과 ascorbic acid를 용해시키고 각각 280nm 또는 265nm에서 흡광도를 측정하면 tyrosinase활성을 측정할 수 있으며 이 반응계에 탐색하고자 하는 물질을 함께 첨가하여 효소의 활성을 많이 저해하는 물질을 찾아내면 이것이 곧 tyrosinase 저해제이다.

3.3 미생물 이용법

영양학에서 단백질의 영양가치를 평가할 때는 mouse를 이용하여 PER(protein efficiency ratio)을 측정하여 결정한다. 그러나, 사람과 아미노산 요구 양상이 비슷한 protozoa인 *Tetrahymena pyriformis*를 이용하면 보다 신속하게 다량의 시료를 분석할 수 있다. 미백식품의 개발에서도 *in vitro*분석 결과 저해 효과가 있는 물질은 임상실험 전에 melanine을 생합성하는 미생물인 *Saccharomyces bikiensis*를 이용하면 본격적인 임상실험 전에 다시 한차례 screening과정을 거치므로 실험의 효율을 높일 수 있다. 이 방법은 저해제를 미생물 배양액에 첨가하여 효과를 판정할 수도 있고 저해제를 disc에 묻혀 agar가 함유된 고체배지 위에 올려 놓은 후 disc주변에 미생물이 자라지 않는 범위가 크게 나타나는 물질을 선발하는 방식으로 효과를 확인할 수도 있다.

3.4 초파리 이용법

미생물의 대표로 *E. coli*를 꼽을 수 있고 실험동물의 대표로 rat나 mouse를 꼽을 수 있듯이 곤충 중에서는 초파리를 꼽을 수 있다. SOD 유사활성물질이 실제로 체내에서 산화를 억제하는지 여부를 알아보기 위하여 초파리 배지에 superoxide를 발생시키는 KO_2 , SOD 유사활성물질인 glutathion을 각각 첨가하고 초파리를 배양하면서 일정 시일이 지난 후 배양기 공간의 공기조성을 분석하였다. 산화가 많이 또는 빨리 일어난 초파리 배양구에서는 ethane과 pentane같은 산화 생성물의 함량이 높게 나타나므로 효과를 판정 할 수 있다. 또한 초파

리의 일생은 60 ~ 90일로 짧은 편이므로 초파리의 평균수명을 측정하여 SOD 유사활성물질이 노화나 생명유지에 미치는 효과를 평가할 수 있다. 본 연구진은 SOD 유사활성물질이 유해산소의 독성에 노출된 초파리의 수명을 연장시킬 수 있음을 확인한 바 있다.

3.5 실험동물의 이용법

지구상의 대기 중 산소농도는 약 21%이고 나머지는 주로 질소이다. 그런데 대기 중 산소가 100%라면 생명체는 산소가 풍부하여 더 오래살 것인가? 아니면 유해산소 상해로 인해 해를 입을 것인가? 흰쥐를 산소로 100% 치환한 밀폐된 공간에서 사육하면 3일만에 50%는 죽고 나머지도 해부를 해보면 복강부터 허파 위까지 물로 차있으며 장이나 혈액의 색이 검붉은 색이 되어 있다. 이처럼 산소의 유해작용은 엄청나며 일부 과학자들은 대기 중 산소농도가 18%가 되면 인류의 수명이 더 증가될 것이라고 주장하고 있다. 이 원리를 이용하여 실험쥐에 SOD 유사활성물질을 첨가하여 사육하고 대조구를 같이 사육한 후 adaptation기간을 거쳐 같은 시간에 산소가 100%로 치환된 공간으로 옮겨 1일간 사육한 후 깊은 수조에서 각 쥐를 강제수영시킨다. 이후 쥐의 기력이 다하여 익사하기 직전까지의 시간을 측정하면 SOD 유사활성물질이 산소상태에 대응하여 작용하는 효과를 분석할 수 있을 것이다. 그러나 본 연구진의 실험결과로는 각 쥐의 수영시간에 편차가 커서 좋은 결과를 얻지는 못하였다. 이 강제수영법은 원래 stamina식품 또는 소재의 개발에 적용되어 왔던 실험법이다.

3.6 Cell line이용법

현재 각종 plant cell line이 필요한 물질의 생산이나 어떤 효능평가에 이용되고 있고 human cell

line 중 3T3-L1선유아세포는 비만 또는 체중감량 연구에 임파구 T또는 B Cell은 면역기능 부활 또는 항체생성능력 실험에, human tumor cell은 항암제 검색 등에 이용되고 있다. 이 cell은 사람의 세포이기 때문에 어느 면에서는 실험동물을 사용할 때 보다 더 임상실험에 접근된 결과를 얻을 수 있으나 배양이 쉽지 않고 cell line유지도 용이하지는 않아 적용하기 쉬운 방법으로 판단되지는 않는다.

3.7 임상실험

사람을 대상으로한 실험은 하나밖에 없는 생명과도 연과되고 예기치 못한 부작용도 발생할 수 있으므로 최고의 안전성을 검토한 후 실행해야 한다. 또한 병약자도 요즈음은 암이나 AIDS처럼 죽음이 불가피할 경우에는 할 수 없이 실험대상으로 응하지만 중증이 아닐 경우에는 자원자가 별로 없어 실험이 곤란한 것도 사실이다. 여하튼 임상실험의 경우 식품업계에서는 흔히 실험의 편이를 위하여 개발제품만을 대상으로 효능을 평가하고 있으나 이는 의학적으로는 별의미를 지니지 못한다. 즉, 임상실험은 개발 제품과 placebo를 함께 평가하는 double-blind study이어야 한다. Double-blind실험의 근본은 주어진 목적의 평가를 위하여 대상자를 두 군으로 나누어 한 실험구에는 개발제품을, 다른 실험구에는 placebo(위약)를 투여해야 하며 모든 대상자에게는 이 사실을 알리지 각자가 받은 시료는 진품인지 위약인지 모르게 해야 하며 실험주체도 누구에게 무엇을 주었는지 모르는 상태 아니 편견이 없도록 기억을 못하는 상태에서 평가하는 방법이다. 이럴 때만이 진정한 효과를 분석할 수 있다.

여기 소개한 몇가지 방법에 각각의 목적에 맞는 실험방법을 택하고 개발하여 개발 제품의 효능을 평가하고 긍정적인 결과를 얻는다면 이것이 진정한 의미에서 인체에서 효능이 발휘되는 기능성식품의 개발이 될 것이다.