

미나리와 돌미나리의 돌연변이 유발 억제작용과 항산화 효과

이 경 임 · 이 숙 희* · 박 건 영*
양산대학 호텔조리과 · 부산대학교 식품영양학과*

Antimutagenic and Antioxidative Effects of Water Dropwort and Small Water Dropwort

Lee, Kyeoung Im · Rhee, Sook Hee · Park, Kun Young*
Dept. of Hotel Culinary Arts, Yangsan College, Yangsan, Korea
Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan, Korea*

ABSTRACT

The purpose of this study is to research the antimutagenic and antioxidative effects of water dropwort and small water dropwort by Ames test and by measuring malondialdehyde(MDA) production. Water dropwort and small water dropwort were extracted with methanol and then further fractionated to hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water, stepwise. The methanol extracts from both samples reduced the mutagenicities by aflatoxin B₁(AFB₁) in *Salmonella typhimurium* TA 98. The production of MDA also decreased when the methanol extracts were added to the system. The hexane, chloroform and ethyl acetate fractions revealed higher antimutagenic activities against AFB₁ than the butanol and water fractions. Among the five fractions, the ethyl acetate fraction showed the highest level of antioxidant activity. From the results of the experiment, water dropwort and small water dropwort seem to be good antimutagenic and antioxidative sources of food.

Key words: water dropwort, small water dropwort, antimutagenic, antioxidative

I. 서 론

미나리(*Oenanthe stolonifera* DC.)는 미나리과에 속하는 다년생 초본이며 물기가 있는 곳이나 냇가에서 자라는 호습성으로 원산지는 중국 북부에서 대만, 인도, 말레이 반도, 인도네시아 등 동남 아시아 일대에 걸쳐 광범위하게 분포·자생하고 있다(박원기 1991). 미나리는 신선한 빛깔과 특유

의 방향을 지니고 있으므로 미각을 돌구는 채소로 이용되어 왔으며 식용뿐만 아니라 민간요법에서는 루머티즘, 토사과란 등에도 달여 마시며 갈증을 없애고 피를 맑게 하고 숙취제거, 이뇨작용과 변비에 효과가 있으며 고혈압 및 신경통 등에 치료효과가 있다고 알려져 있다(김상순 1985). 특히 돌미나리는 약리작용이 강하여 암환자들의 암치료 민간요법으로도 많이 이용되고 있다.

접수일: 2004년 1월 8일 채택일: 2004년 1월 30일
Corresponding author: Lee, Kyeoung Im Tel: 82-55-370-8148,
Fax: 82-55-370-8256 E-mail: Kylee@mail.yangsan.ac.kr

미나리는 상쾌하고 부드러운 맛과 냄새를 가지고 있는데 이러한 입안에서 burning sensation을 느끼게 하는 독특한 맛과 냄새에 기여하는 성분은 황이 함유되어 있는 β -phenylethyl isothiocyanate 라고 보고되고 있다(Freeman et al. 1972). 또한 미나리의 줄기와 잎 부위에는 향기성분으로 다양한 hydrocarbon류, aldehyde류, alcohol류, ester류 등이 함유되어 있으며 이러한 향기성분의 함량은 시기별로 변화된다고 한다(이행재 1993). 미나리에 함유되어 있는 비타민 C의 함량은 대체로 낮으나, 김 등의 보고(김영옥 1995)에서 수경미나리의 비타민 C 함량은 높고 비타민 A의 함량도 크게 증가될 뿐만 아니라 회분, 칼슘 및 유리당의 금원이 되는 알칼리성 식품으로 영양적 가치가 있다고 하였다. 미나리의 생리활성에 관한 연구에서 미나리 추출물을 토끼에게 투여하였을 때 간장 기능장애의 회복도가 증가되었으며(서화중 등 1985), 미나리의 methanol 추출물은 이질 원인균인 *Shigella dysenteriae* ATCC 9361에 대한 항세균 활성을 나타낸다고 보고되었다(이홍렬 등 2001). 또한 미나리는 발암 promotion 억제 활성도 강한 것으로 평가되고 있다(Natake et al. 1989). 한편 고혈압 예방에 효과가 있다고 알려진 국내산 11종의 채소에 대한 ACE(Angiotensin I Converting Enzyme) 저해효과를 살펴본 연구에서 돌미나리가 가장 고혈압의 예방 효과가 높다고 하였다(박은진 1998).

지금까지 한국인에게 식용과 약용으로 가치를 지니는 미나리와 돌미나리의 항돌연변이 및 항산화 활성에 대한 연구가 미비하여 본 연구에서는 이러한 생리활성을 지니는 성분을 분석하기 위하여 우선 methanol 추출물과 용매 분획물에 대해 항돌연변이 및 항산화 효과를 측정하였으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 추출 및 분획

실험에서 사용한 미나리는 부산시 장전시장에서 구입한 것으로 깨끗이 씻어 동결건조하여 분쇄한 후 잘 밀봉하여 냉동 보관하면서 시료로 사

용하였다. 미나리 분말은 methanol로 3회 추출하여 감압 농축한 후 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol로 분획하여 용매를 제거하고 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

2. 항돌연변이 실험

사용한 균주는 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100으로 미국 캘리포니아 대학의 Ames 박사로부터 제공받아 실험에 사용하였으며 실험하기 전 histidine 요구성, deep rough(rfa) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 돌연변이 유발물질로 사용한 aflatoxin B₁(AFB₁)은 미국 Sigma 회사(Sigma chemical Co., USA)에서 구입하여 DMSO에 녹여 실험에 사용하였다.

Maron 등(Maron et al. 1983)의 방법에 따라 Sprague-Dawley rat의 간을 적출하여 S9을 만들었으며 이 S9 fraction(10%)을 MgCl-KCl salts(2%), 1M glucose-6-phosphate (0.5%), 1M NADP(4%), 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수와 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다. 돌연변이 유발억제 실험은 Ames 등(Ames et al. 1975)의 방법을 이용하여 preincubation test로 행하였다. S9 mix 0.5ml, 하룻밤 배양된 균주($1\sim2\times10^9$ cells/ml) 0.1ml, 희석된 시료(50 μ l)와 돌연변이 유발물질(50 μ l)을 ice bath에 담긴 cap tube에 넣고 가볍게 vortex한 후 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 숫자를 계수하여 돌연변이유발 억제율(inhibition rate)을 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate}(\%) = [(a-b)/(a-c)] \times 100$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이주의 수, b는 돌연변이원과 시료를 첨가였을 때의 복귀돌연변이주의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연 복귀돌연변이주의 수이다.

3. 항산화 활성 측정

1) 실험동물

웅성의 ICR계 마우스를 한국생명과학연구소(대구)로부터 구입하여 1주일간 고형사료(삼양주식회사)로 예비 사육한 다음 체중 30g 전후의 것을 실험에 사용하였다.

2) Malondialdehyde(MDA)의 측정

마우스의 간을 채취하여 50mM의 phosphate buffer(pH 7.4)로 10배 회석한 homogenate 1.4ml에 50mM phosphate buffer(pH 7.4)를 0.3ml 가한 정상군, 0.5% H₂O₂ 0.3ml, 10mM FeSO₄ 0.3ml 및 50mM phosphate buffer 0.3ml를 가한 대조군과 0.5% H₂O₂ 0.3ml, 10mM FeSO₄와 미나리의 methanol 추출물, hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol총을 각각 6mg/ml씩 가한 처리군으로 나누고, 5분, 10분, 20분 동안 37°C에서 incubation 시킨 다음 stopper solution (TBA-TCA-HCl-BHT 용액)을 3ml 가하였다. 그리고 95°C에서 20분간 가열하여 발색시킨 다음 냉각시키고 3000rpm에서 30분간 원심 분리하여 상등액을 535nm에서 흡광도를 측정하였다(Shah et al. 1983).

III. 결과 및 고찰

1. Methanol 추출물의 항돌연변이 효과

미나리와 돌미나리의 methanol 추출물에 대한 돌연변이유발 억제 작용을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 미나리의 methanol 추출물을 plate당 2.5%, 5% 및 10% 첨가하였을 때 균주 *Salmonella typhimurium* TA98에서 AFB₁의 돌연변이 유발이

대조군에 비하여 15%, 33% 및 54% 억제되는 것을 알 수 있었다. 돌미나리의 methanol 추출물에서는 같은 농도로 첨가하였을 때 각각 9%, 56% 및 74%의 억제 효과가 나타났으므로 미나리의 methanol 추출물에 비하여 돌연변이 억제 작용이 더 높은 것을 알 수 있었다.

서화중 등(1985)은 미나리의 methanol 추출물을 경구 투여하여 간장기능에 미치는 효과를 검토하였는데 미나리 추출물을 투여하였을 때 간장 기능 장애가 회복되었으며 특히 혈청 중의 GPT, 총콜레스테롤 및 BSP치가 정상과 가깝게 되었다고 하였다. 또한 이홍렬 등(2001)은 미나리의 methanol 추출물에서 *Shigella dysenteriae* ATCC 9361에 대한 항세균 활성을 측정한 결과 뿌리나 줄기보다 잎 부분의 항균활성이 강하며 물미나리에 비하여 밭에서 재배한 불미나리의 활성이 더 강하게 나타났다고 보고하였다.

2. Methanol 추출물의 항산화 효과

다음으로 미나리와 돌미나리의 methanol 추출물을 첨가하여 *in vitro*에서 배양시간에 따른 malondialdehyde의 생성량의 변화를 살펴보았다. MDA는 FeSO₄와 H₂O₂에 의하여 생성이 촉진되고 thiobarbituric acid에 의하여 complex를 형성하기 때문에 535nm에서 흡광도를 측정하면 생성되는 양을 알 수 있다(Halliwell et al. 1987). Fig. 1은 배양시간을 달리하면서 MDA 생산량의 변화를 검토한 것이다. 대조군(control)에서는 FeSO₄와 H₂O₂에 의해 지질파산화가 촉진되었으며 여기에 미나리와 돌미나리의 methanol 추출물을 처리하

Table 1. Effect of methanol extract of water dropwort and small water dropwort on the mutagenicities induced by aflatoxin B1(AFB₁, 1 μ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98

Treatments	Revertants/plate	
	Water dropwort	Small water dropwort
Spontaneous	46±4	33±1
AFB ₁	1689±13	1402±81
AFB ₁ +Methanol ext.	2.5% ¹	1443±66(15) ²
"	5.0%	1152±43(33)
"	10.0%	795±3(54)

¹ Percent represents the level of dried methanol extract in DMSO

² The values in parenthesis are the inhibition rate(%)

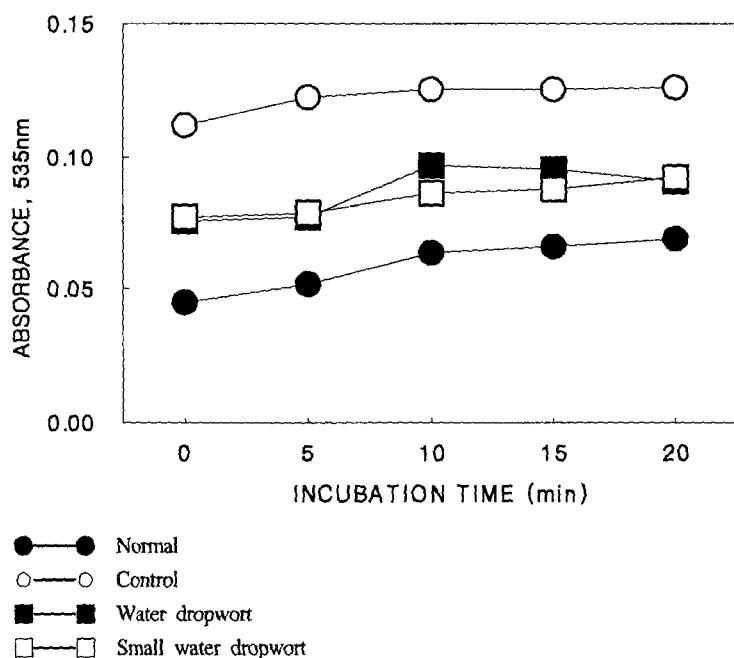


Fig. 1. Inhibition of *in vitro* microsomal lipid peroxidation by methanol extract from water dropwort and small water dropwort

였을 때 두 시료 모두에서 MDA의 생성이 억제되는 것을 볼 수 있었다. 이것은 배양시간이 20분 경과하면서 계속적으로 낮은 흡광도를 나타내므로 미나리는 지질파산화를 억제하는 것으로 생각된다.

미나리파에 속하는 참당귀, 돌미나리 및 고수에 대한 항산화 효과를 비교한 허 등의 연구(허수진 등 2001)에서 3가지 산채를 소시지 제조 직후에 첨가하였을 때 저장 중의 TBA가가 대조군에 비하여 낮게 나타나 산화억제 효능이 있다고 하였다.

3. 용매 흡분의 항돌연변이 효과

미나리와 돌미나리의 용매 분획물에 대한 항돌연변이 작용을 알아보기 위하여 극성에 따라 용매분획을 하였다. *Salmonella typhimurium* TA100에서 AFB₁에 대한 돌연변이유발 억제 작용은 hexane, chloroform 및 ethyl acetate층에서 강하게 나타났다. 즉 미나리와 돌미나리의 각 용매

획분을 5%와 10% 되게 실험군에 첨가하였을 때 hexane층에서는 69~78%와 79~84%의 돌연변이 유발 억제 작용을 나타내었으며 chloroform층에서는 59~89%와 82~96%, ethyl acetate층에서는 85~87%와 87~92%의 높은 항돌연변이 작용을 나타내었다. 그러나 butanol층에서는 시료 농도를 5% 첨가하였을 때 14%, 10% 첨가시 38~60%의 저해효과를 나타내었으므로 hexane, chloroform 및 ethyl acetate 흡분보다 효과가 낮았으며 수층에서는 두 농도 모두에서 거의 저해 작용을 나타내지 않았다(Table 2). 따라서 미나리와 돌미나리에 존재하는 지용성 물질이 강한 항돌연변이 작용을 나타내는 것으로 사료된다. 이것은 똑 같은 방법으로 추출한 마늘(김소희 1991) 및 와송(박희준 1991) 추출물에서도 비슷한 결과를 나타내었다.

4. 용매 흡분의 항산화 효과

미나리의 hexane층, chloroform층, ethyl acetate

Table 2. Effect of fractionated samples from methanol extracts of water dropwort and small water dropwort on the mutagenicities induced by aflatoxin B₁(AFB₁, 1 μ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatments	Revertants/plate	
	Water dropwort	Small water dropwort
Spontaneous	134±9	115±4
AFB ₁	948±165	1260±18
AFB ₁ +Hexane Fr.	5% ¹ 10%	313±12(78) ² 261±25(84)
AFB ₁ +Chloroform Fr.	5% 10%	225±55(89) 164±8(96)
AFB ₁ +Ethyl acetate Fr.	5% 10%	254±29(85) 202±17(92)
AFB ₁ +Butanol Fr.	5% 10%	831±49(14) 641±89(38)
AFB ₁ +Aqueous Fr.	5% 10%	1065±5(-) 876±110(9)

¹ Percent represents the level of dried each solvent extracts in DMSO

² The values in parenthesis are the inhibition rate(%)

총, butanol총 및 수총으로 항산화 실험을 한 결과는 Fig. 2와 같다. MDA의 생성에 대한 억제 효과는 돌연변이 유발억제 효과가 높았던 ethyl acetate총에서는 높은 활성을 나타내었으나 항돌연변이 효과가 높게 나타났던 hexane총, chloroform총 및 butanol총에 대한 MDA 생성 억제효과는 거의 없는 것으로 관찰되었다.

역시 돌미나리의 용매 획분에서의 MDA 생성 억제도 미나리와 마찬가지로 ethyl acetate총에서만 나타났으며 hexane총, chloroform총, butanol총 및 수총은 나타나지 않았다(Fig. 3).

따라서 미나리와 돌미나리에서 극성의 차이를 나타내는 용매로 차례로 분획하여 얻은 획분에 대한 항산화작용을 조사한 바 ethyl acetate총에서 강하게 활성을 나타내었으므로 미나리에서는 ethyl acetate총에 있는 물질이 주요한 생리활성을 가질 것으로 추정된다.

IV. 요약 및 결론

미나리와 돌미나리에서 돌연변이 유발 억제작용과 MDA 생성 억제 실험을 한 결과 두 시료

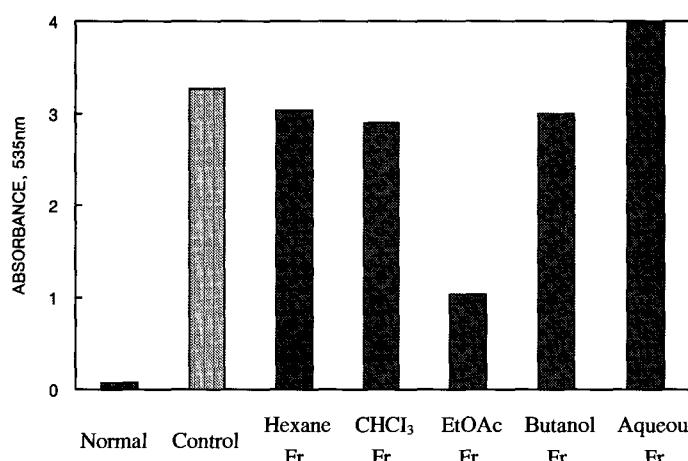


Fig. 2. Lipid peroxidation in microsomes of ICR mouse liver induced by FeSO₄ and H₂O₂ after incubation for 10 minutes. Each samples are solvent extracted fractions from methanol extract of water dropwort

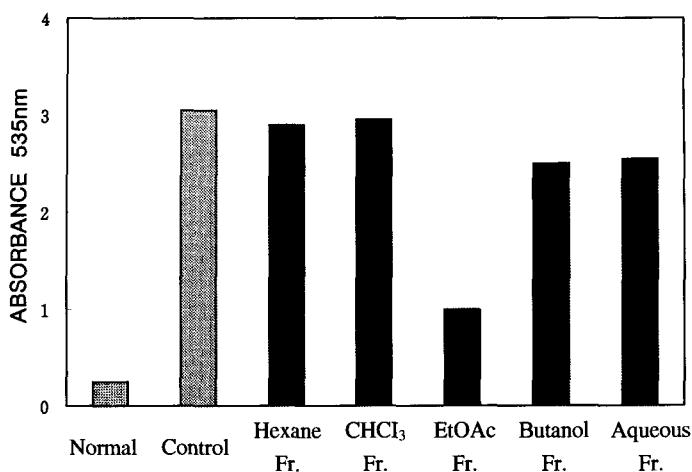


Fig. 3. Lipid peroxidation in microsomes of ICR mouse liver induced by FeSO_4 and H_2O_2 after incubation for 10 minutes. Each samples are solvent extracted fractions from methanol extract of small water dropwort

모두 강한 활성을 나타내었다. Methanol 추출물을 plate당 5%와 10% 첨가하였을 때 미나리에서는 각각 33%와 54%, 돌미나리에서는 56%와 74%의 돌연변이유발 억제효과를 나타내었다. 또한 methanol 추출물은 미나리와 돌미나리 모두에서 MDA 생성 억제효과를 나타내었다. 이들을 극성이 다른 용매를 사용하여 5개의 fraction으로 분획하여 각각의 활성도를 측정한 결과 ethyl acetate, chloroform과 hexane층에서 높은 돌연변이 억제작용을 나타내었으나 butanol과 수층은 활성이 낮게 나타났다. 또한 MDA 생성 억제 작용은 미나리와 돌미나리 모두 ethyl acetate층에서 높게 나타났다. 따라서 미나리는 항돌연변이와 항산화 효과를 가지며 두 종류의 미나리에서 활성 정도는 크게 차이를 나타내지 않았다. 향후 항돌연변이 및 항산화 효과가 강하게 나타난 ethyl acetate 층에서 생리활성을 나타내는 물질에 대한 연구를 계속할 것이다.

참고문헌

- 김상순(1985). 한국전통식품의 과학적 고찰. 숙명여자대학교 출판부. 286-289.
- 김소희(1991). 김치성분의 보돌연변이 유발 및 항돌연변이 효과. 부산대학교 박사학위 논문.
- 김영옥(1995). 수경미나리의 가식부위별 영양성분 분석 및 조리과학적 연구. 서울대학교 석사학위 논문.
- 박원기(1991). 한국식품사전. 신팍출판사. 162.
- 박은진(1998). 돌미나리로부터 Angiotensin I Converting Enzyme 저해물질의 분리 및 구조 분석. 한양대학교 석사학위논문.
- 박희준(1991). 와송의 화학성분 및 항돌연변이 활성에 관한 연구. 부산대학교 박사학위논문.
- 서화중·이명렬(1985). 미나리 추출물이 家兔의 간장기능에 미치는 영향. 한국영양식량학회지 14, 72-76.
- 이행재(1993). 미나리(*Oenanthe javanica* D.C.)의 향미 성분에 관한 연구. 전남대학교 박사학위논문.
- 이홍렬·유맹자·정희종(2001). 재배방법이 다른 미나리의 항세균 활성. 한국식생활문화학회지 16(3), 243-249.
- 허수진·양미옥·조은자(2001). 미나리과 산채의 성분분석 및 육가공품에 대한 항산화 효과-참당귀, 돌미나리, 고수-. 한국조리과학회지 17(5), 36-43.
- Ames BN, McCann J, Yamasaki E(1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat Res 31, 347-364.
- Freeman GG, Mossadeghi N(1972). Studies on sulphur nutrition and flavor production in watercress. J Hort Sci 47(3), 375.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Aruoma OI(1987). The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Anal Biochem 15, 165(1), 215-219.
- Maron DM, Ames BN(1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutat Res 113, 173-215.
- Natake M, Kanazawa K, Mizuno M, Ueno N, Kobayashi T, Danno G, Minamoto S(1989). Herb water-extracts markedly suppress the mutagenicity

of Trp-p-2. Agric Biol Chem 53(3), 1423-1425.
Shah SV, Cruz FC, Baricos WH(1983). NADPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. Kidney Int 23, 691-698.