

C H A P T E R



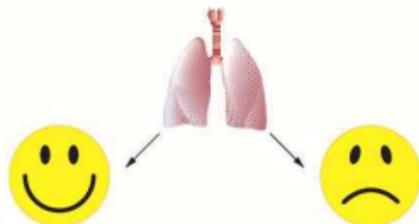
항산화 개선

# 1. 활성산소종과 산화적 스트레스

## 1) 활성산소

- 산소는 호흡을 통해 우리 몸에 들어와 혈액을 타고 각 조직세포로 이동하며 에너지를 생성.

- 산소는 에너지원인 영양소로부터 ATP를 생성하기 위해 반드시 필요하나, 산소의 일부는 에너지 대사과정에서 반응성이 높은 활성산소종(ROS)으로 됨.



생명유지를 위한 필수 불가결

매일 마시는 산소(약 500 L)의 1%는 유해산소로 만들어짐

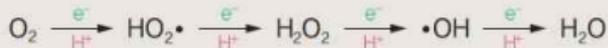
자동차 배기가스가 생기는 것처럼 우리 몸도 매일 약 5리터의 유해산소가 생긴다.

그림 4-1 산소의 두 얼굴



알아두기

생체 내 활성산소종의 생성 경로



## 2) 활성산소의 발생 과정

- 초과산화물 라디칼 : 미토콘드리아 전자전달계에서 발생  
효소 또는 비효소적 반응에 의해 과산화수소와 일중항산소로 바뀜
- 하이드록시 라디칼 : 가장 반응성이 강함, 펜톤반응(Fenton reaction)에 의해 생성
- 산화질소 : 아르지닌이 산화질소 합성효소에 의해 시트리닌으로 되면서 발생,  
초과 산화물 라디칼과 반응하여 퍼옥시나이트라이트로 변함
- 이 밖에도 담배연기, 매연, 오존, 자외선 등의 세포 외적인 요인에 의해 발생

## 3) 활성산소의 역할과 산화 스트레스

- 세포 내에서 세포와 세포 사이의 신호전달, 평활근 확장 등의 생리적 기능 나타냄
- 산화 스트레스 : 활성산소의 발생과 항산화 체계와의 불균형에 의해 생성
- 과생성된 활성산소는 세포 내 유기물질(단백질, DNA, 지질 등)과 반응
- 노화, 심혈관계질환

#### 4) 활성산소의 종류

- 정의 : 분자 내 산소를 가지며 반응성이 강하여 다른 유기물과 반응하는 물질

- 종류

라디칼형 : 초과산화물 라디칼( $\cdot\text{O}_2^-$ ), 하이드록시 라디칼( $\text{OH}\cdot$ ), 산화질소( $\text{NO}\cdot$ ),  
퍼옥시 라디칼( $\text{ROO}\cdot$ )

비라디칼형 : 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), 일중항산소( $^1\text{O}_2$ ), 차아염소산( $\text{HOCl}$ ),  
퍼옥시나이트라이트( $\text{ONOO}^-$ )

라디칼이란?

전자쌍을 이루지 못한 오비탈(orbital)을 가지고 있는 물질로 매우 불안정하여 화학반응에 쉽게 참여한다.

표 4-1 활성산소종

라디칼형		비라디칼형	
슈퍼옥시드 라디칼(superoxide radical)	$\cdot\text{O}_2^-$	오존(ozone)	$\text{O}_3$
하이드록시 라디칼(hydroxyl radical)	$\cdot\text{OH}$	일중항산소(singlet oxygen)	$^1\text{O}_2$
하이드로퍼옥시 라디칼(hydroperoxy radical)	$\text{HO}_2\cdot$	차아염소산(hypochlorous acid)	$\text{HOCl}$
알콕시 라디칼(alkoxyl radical)	$\text{RO}\cdot$	과산화수소(hydrogen peroxide)	$\text{H}_2\text{O}_2$
퍼옥시 라디칼(peroxyl radical)	$\text{RO}_2\cdot$		

# 1) 활성산소

## (1) Superoxide radical (Superoxide anion, $\bullet\text{O}_2^-$ )

- 초과산화물은 산소분자에 전자가 공여되어 생성(첫 단계로 생성되는 활성산소종)
- 초과산화물은 자유 라디칼임에도 불구하고 반응성이 높지 않으며, 지질막을 투과할 능력이 없기 때문에 생산된 구역에 그대로 존재한다.

## (2) 과산화수소 (Hydrogen peroxide, $\text{H}_2\text{O}_2$ )

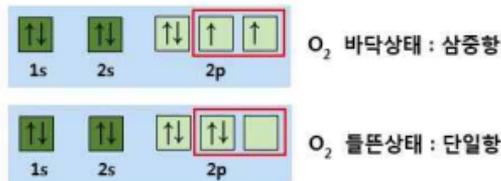
- 과산화수소는 superoxide radical( $\bullet\text{O}_2^-$ )에 수소이온( $2\text{H}^+$ )이 부가되어 반응성이 더 큰 Hydroxyl radical( $\bullet\text{OH}$ )이 되거나 dismutation되어  $\text{H}_2\text{O}_2$ 가 된다.
- $\text{H}_2\text{O}_2$ 는 자체적으로 강한 산화작용을 나타내지는 않으나,
- 철이나 구리 같은 전이금속이 존재하면 Fenton 반응 등을 통해 반응성이 훨씬 큰 Hydroxyl radical( $\bullet\text{OH}$ )을 생성.



### (3) 하이드록실라디칼 (Hydroxyl radical, $\cdot\text{OH}$ )

- 하이드록실라디칼은 가장 민감한 라디칼로 생체분자와의 강한 반응성 때문에 다른 ROS들보다 생체내에 더 큰 피해를 줄 수 있음.
- 알코올이나 지질류로부터 수소를 제거하거나 DNA나 RNA의 염기나 방향성환 구조에 결합하거나 생체분자에 전자를 제공.

### (4) 일중항산소( $^1\text{O}_2$ )



- 자유기(free radical)은 아니지만 전자가 정상적인 궤도보다 높은 들뜬 상태에 위치하게 되어 불안정함.
- 일중항산소는 전자로 채워지지 못하고 완전히 비어있는 전형적인 electrophile 물질로 전자가 풍부한 불포화 지방산과 쉽게 반응함.

표 4-2 삼중항산소와 일중항산소에 의한 지방산화 속도

	C18:1	C18:2	C18:3
삼중항산소	1	27	77
일중항산소	$3 \times 10^4$	$4 \times 10^4$	$7 \times 10^4$

## (5) 일산화질소 (Nitric oxide, NO)

- 소량의 일산화질소는 peroxy radicals, alkyl radicals와 같은 자유라디칼들과 쉽게 반응하여 반응성이 낮은 분자들을 생성하는, 자유라디칼 소거 기능을 하기도 한다.
- 그러나 많은 양의 초과산화물이 있는 상황에서 일산화질소가 생성된다면, 일산화질소와 초과산화물이 서로 반응하여 높은 세포독성이 높은 peroxyxynitrite( $\text{OONO}\cdot^-$ )를 생성한다.
- Peroxyxynitrite는 다양한 생체분자들과 직접적으로 또는 부가적 반응물을 통하여 LDL을 산화시키고, 다양한 단백질의 tyrosine 잔기들을 공격하기로 한다.

## 2) 산화적 스트레스

활성산소종 (ROS)들은 높은 반응성 때문에 체내 손상을 유발하기도 하며, 이로 인해 세포독성 및 돌연변이 등을 야기할 수 있다.

다양한 종류의 생체분자들이 활성산소종 (ROS)에 의한 손상의 표적이 되며, 이러한 손상의 축적은 다양한 질병으로 발전할 수 있다.

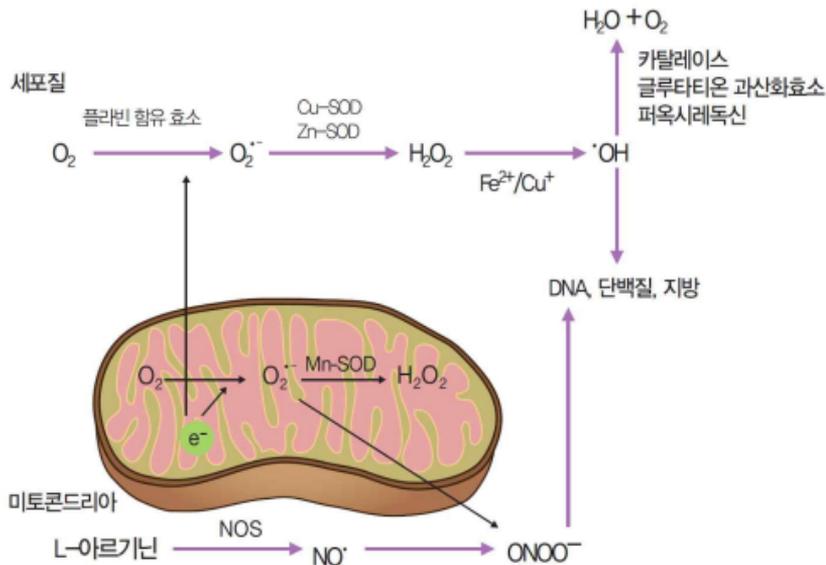


그림 7-1 산화적 스트레스 발생 경로 및 항산화 시스템

## (1) DNA

활성산소종 (ROS)은 DNA에 화학적 변이를 유발하여 나타나는 돌연변이를 유발한다. ROS (특히 ·OH)에 의해 DNA 절단, DNA-단백질 교차 결합, purine의 산화 등과 같은 DNA돌연변이성 변형을 유발된다. 만약 DNA repair 시스템이 즉시 본래의 DNA로 복구하지 못하게 된다면, DNA복제 과정에서 잘못된 염기쌍 배치로 인하여 돌연변이를 일으키게 된다.

## (2) 지질

지질산화는 ROS와 관련하여 가장 잘 알려져 있는 부분이다.

불포화지방산은 보통 다중의 이중 결합때문에 자유라디칼의 최적의 표적중 하나이다.

이러한 산화는 죽상동맥경화 죽상반(plaques)의 생성에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

## (3) 단백질

ROS는 여러 종류의 아미노산 잔기들과 반응할 수 있다. 이로 인하여 저활성의 또는 변성된 효소를 생성하게 되고, 이는 곧 단백질의 기능을 잃게 한다. ROS와 반응하여 변성이 가장 잘 일어나는 아미노산은 sulfur를 함유하는 아미노산 잔기들이다.

## 2. 산화 방지와 만성질병

### 1) 퇴행성 신경질환

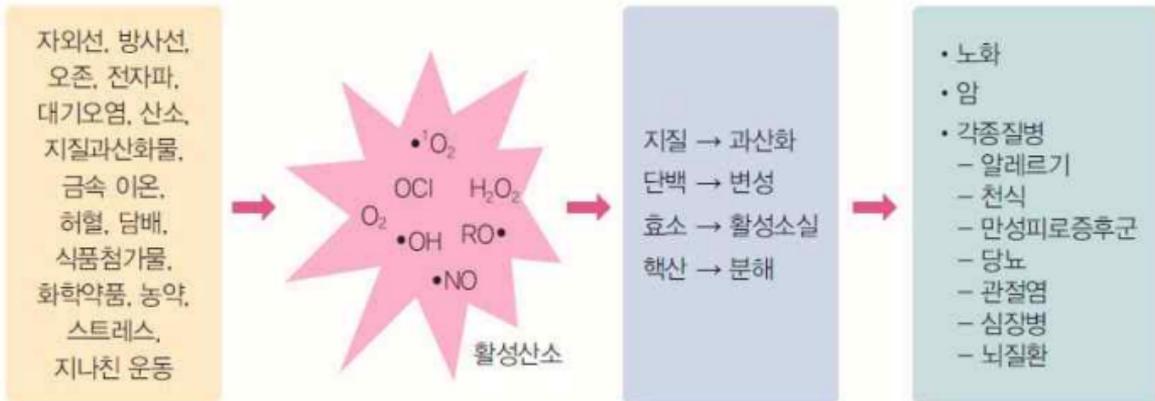
- 퇴행성 신경질환은 중추신경계나 말초신경계의 신경세포의 기능 감소 또는 소실로 인해 야기되는 인지기능, 지각기능, 운동조절기능, 감각기능에 이상이 발생하는 경우를 말한다.
- 신경세포의 미토콘드리아 기능 훼손, 흥분독성(excitotoxicity) 및 사멸(apoptosis)은 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease), 다발성 경화증(Multiple Sclerosis) 등의 퇴행성 신경질환들의 주요 원인으로 알려져 있음.
- 이러한 퇴행성 신경질환들은 유전적 요소와 환경적 요소가 복합적으로 작용해서 유발되는 것으로 알려져 있으며, 이 중에서 산화적 스트레스는 주요한 발병 원인 중 하나로 지목되고 있다.
- 산화적 스트레스 (oxidative stress)는 미토콘드리아에서 세포의 에너지원인 ATP를 생산하는 과정에서 발생하며, 이를 방지하는 항산화 시스템이 노화나 외부적 요인 등에 의해 충분히 균형을 맞춰 주지 못하면 활성산소의 과도한 생성으로 미토콘드리아 손상 및 신경세포 독성이 나타나게 된다.
- 산화방지제는 활성산소 및 자유라디칼을 소거하고, 활성산소로 인한 신경세포의 불포화지방산의 산화를 억제하며, 신경세포 내의 산화방지 효소의 발현 및 활성을 증대하여 산화적 스트레스 감소 효능을 가져올 수 있다.

## 2) 심혈관질환

- 심혈관질환은 심장과 혈관의 질환을 포함하는 질환으로서, 고혈압, 동맥경화증, 고지혈증, 뇌졸중, 심근경색 등이 있다.
- 심혈관질환은 혈관의 손상과 변형으로 인해 혈류가 원활하게 흐르지 못하여 심장과 다른 조직으로의 혈액 공급에 문제가 생기면서 발생하게 되는 경우가 많다.
- 심혈관질환의 위험인자에는 비만, 당뇨, 흡연, 생활습관, 유전적 요소, 산화적 스트레스가 포함된다.
- 심혈관질환과 밀접한 관련이 있는 ROS 종류에는  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OONO^-$ ,  $OH^-$  등이 있으며, 주된 공급원으로는 미토콘드리아의 NADPH oxidase, xanthine oxidase, lipoxygenase 등이 알려져 있다.
- 항산화제는 지질성분과 세포내에서의 항산화작용을 하여 혈관벽에서의 산화적 스트레스를 감소하여 심혈관질환에 도움이 되는 것으로 알려져 있다.
- 항산화제는 LDL의 산화를 방지하여 산화 LDL 형성을 억제하고 혈관세포 및 면역세포에 의한 산화작용을 감소시키는 것으로 여겨진다.

### 3) 암

- 세포의 DNA에 돌연변이가 지속적으로 축적이 되면, 세포의 형질이 변화되면서 정상세포가 암세포로 전환되게 된다. DNA의 돌연변이 축적은 노화로 인해 발생하는 현상이기도 하지만 외부의 다양한 요소에 의해 돌연변이 발생을 및 발암과정에 영향을 줄 수 있다.
- 식습관, 비만, 흡연, 음주, 감염, 스트레스 등의 다양한 위험요소들이 발암과정을 촉진할 수 있으며, 산화적 스트레스의 증가 또한 암 발생을 증가시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.
- ROS는 DNA와 직접적으로 반응하여 DNA의 구조 및 염기서열 등을 변화시킬 수 있으며, 돌연변이와 발암과정의 주요 촉진 인자이다. ROS는 DNA 사슬의 손상, purine이나 pyrimidine의 변질, DNA 교차결합 (cross-link) 등을 일으킬 수 있다.
- DNA의 손상은 염기서열 및 유전자에 변화를 일으키고 유전체 불안정성 (genomic instability), 비정상적인 유전자 발현 및 세포 신호전달 등을 유발한다.
- 이 외에도 ROS는 세포 내의 효소 등의 단백질과 지질 성분에도 산화를 초래함으로써 정상적인 세포 항상성 유지를 방해하여 발암 과정을 촉진할 수 있다.



**그림 4-2** 활성산소의 생성 원인 및 유발되는 질병

### 3. 항산화제

세포는 다양한 효소와 물질을 이용하여 산화적 스트레스에 대응하여 항상성을 유지할 수 있게 한다.

#### 1) 효소적 항산화제

##### (1) 초과산화물 불균등화효소 (superoxide dismutase (SOD))

- SOD는  $\cdot O_2^-$ 로부터 과산화물과 수소를 생성  
(2개의 초과산화물을 1개의 과산화수소( $H_2O_2$ )와 산소 분자( $O_2$ )로 변형할 수 있음)



- SOD는 3종류가 있음
  - ① 세포질 내에 존재하는 copper-zinc SOD(Cu/Zn-SOD),
  - ② 미토콘드리아에 있는 mitochondrial manganese SOD(Mn-SOD),
  - ③ 세포 외부에 존재하는 extracellular SOD(EC-SOD)

### 3. 항산화제

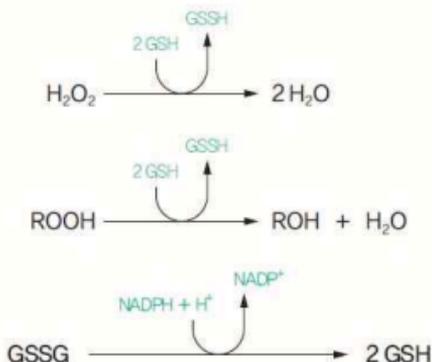
#### 1) 효소적 항산화제

#### (2) 카탈라아제 (catalase) $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$

- SOD가 만들어낸 과산화수소를 물과 산소로 분해하는 효소로 헴(heme)을 가지고 있음.
- Catalase는 주로 퍼옥시좀(peroxisome)에 주로 존재하여 과산화수소로부터 세포를 보호.

#### (3) 글루타티온 과산화효소 (glutathione peroxidase)

- Glutathione peroxidase (GPx)는 과산화수소나 과산화물을 각각의 알코올로 환원시키며, 이때 환원형 GSH를 산화형 GSSG로 전환.
- 생성된 GSSG는 glutathione reductase 효소들에 의해 glutathione (GSH)로 환원되어짐.



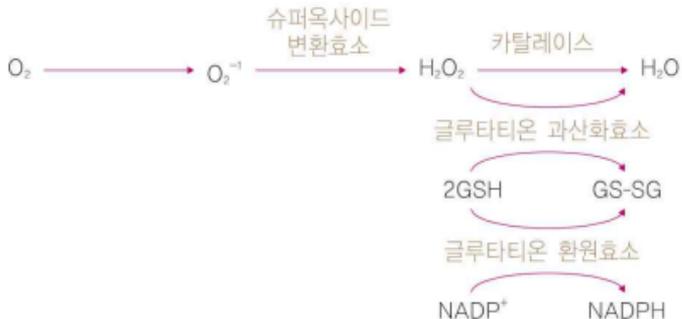


그림 4-1 효소 항산화제의 작용

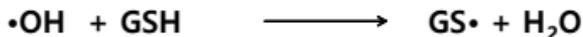
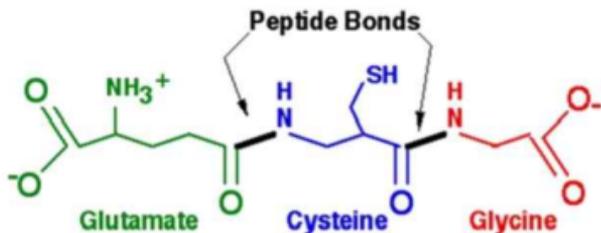
4-2 항산화제의 분류

효소 항산화제	비효소 항산화제	
	합성 항산화제	천연 항산화제
초과산화물 변환효소 (superoxide dismutase)	BHA(butylated hydroxyanisol)	비타민 C(ascorbic acid)
글루타티온 과산화효소 (glutathione peroxidase)	BHT(butylated hydroxytoluene)	비타민 E(tocopherol)
글루타티온 환원효소 (glutathione reductase)	TBHQ(tertiary butylhydroquinone)	플라보노이드(flavonoid)
카탈레이스(catalase)	PG(propyl gallic acid))	페놀산(phenolic acid)

## 2) 비효소적 항산화제 (nonenzymatic antioxidants)

### (1) 글루타치온 (glutathione, GSH)

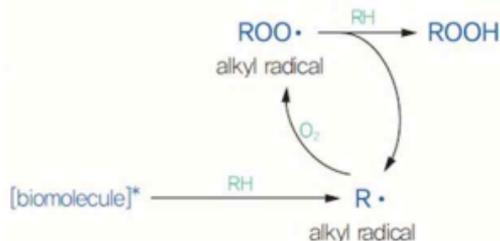
- 글루타치온(GSH)은 간에서 합성되는 매우 강력한 항산화물질로 글루탐산, 시스테인, 글리신 3가지의 아미노산이 결합되어 만들어지는 단백질.
- 자유라디칼을 즉시 소거하는 sulfhydryl(SH) group이 있는 cysteine을 가지고 있음.
- Glutathione의 SH는 산화되어 glutathione disulfide (GSSG)로 바뀌며, 이후 비타민 C, NADH, NADPH 등으로부터 전자를 제공받거나 glutathione reductase에 의한 환에 의해 GSH로 재생산됨.
- 이러한 순환 과정은 높은 수치의 ROS를 완충시켜 체내 손상을 보호하는 작용을 한다.
- GSH는 과산화수소( $H_2O_2$ )와 과산화유기물을 글루타티온퍼옥시데이스(GSH-PX)에 의한 효소반응을 통해 superoxide radical ( $\cdot O_2^-$ ), hydroxyl radical( $OH\cdot$ ), 일중항산소( $^1O_2$ )와 반응하여 무독화시킴.



## 2) 비효소적 항산화제 (nonenzymatic antioxidants)

### (2) 비타민 E (vitamin E)

- 활성산소에 의한 세포손상에 대해 이차적인 방어기전, 즉, 세포막에서 활성산소에 의한 연쇄반응을 중단시켜 (chain-breaking) 지질과산화를 막아주는 항산화제



- 비타민 E· 는 비타민 C와 coenzyme Q10에 의해 환원형으로 재생됨.
- 비타민 E는 superoxide radical ( $\cdot\text{O}_2^-$ )이나 일중항산소( $^1\text{O}_2$ ) 와 반응하여 지질을 보호.

### (3) 비타민 C (vitamin C)

- 비타민 C(ascorbic acid;  $\text{AH}_2$ )는 라디칼과 직접 반응하여 ascorbyl radical( $\text{AH}\cdot$ )이 되고, 두 분자의  $\text{AH}\cdot$ 는 ascorbic acid와 dehydroascorbic acid로 된다.



- 항산화제로서의 비타민 C 자신이 라디칼을 제거하여 막지질의 산화를 예방.

## 2) 비효소적 항산화제 (nonenzymatic antioxidants)

### (4) 베타카로틴

- 천연에 존재하는 노랑, 주황, 빨간색을 나타내는 카로티노이드의 일종으로 지용성.
- 세포막의 지질과산화를 막고 LDL의 산화를 방지하는 항산화제
- 일중항산소( $^1O_2$ ), 자유라디칼을 제거하여 폐암, 위암 등 암 예방 효과가 있으며,
- 면역세포의 수를 증가시켜 면역기능을 향상

### (5) 파이토케미칼 (Phytochemicals)

- 식물에 함유된 식물영양소로 라이코펜, 페놀 화합물, 엘라그산, 플라보노이드 화합물(안토시아닌, 헤스페리딘, 퀘세틴 등), 엘라그산, 알릴화합물 등이 알려져 있으며 이들 대부분은 항산화작용을 함.

표 4-5 식품에 존재하는 파이토케미칼의 종류와 기능

색	식품	파이토케미칼 종류	생리적 기능
빨강	토마토, 수박	라이코펜	전립샘암 예방, 심장질환 예방
	사과	페놀화합물	노화 지연, 암 예방, 콜레스테롤 강화
	딸기	안토시아닌 엘라그산	노화 지연, 폐기능 강화, 암 예방, 당뇨병성 합병증 예방
주황	살구, 당근, 늙은 호박	β-카로틴	항산화 작용, 암 예방, 심장질환 예방, 폐 보호 기능
노랑(주황)	고구마		
	감귤류(오렌지, 자몽, 귤 등)	헤스페리딘 리모넨	
초록	브로콜리, 케일	β-카로틴 솔포라판 인돌 루테인 퀘세틴	노화 지연, 암 예방, 폐기능 향상, 백내장 예방, 알레르기 염증반응 저하, 당뇨병성 합병증 예방
	시금치	β-카로틴 루테인 제아잔틴	노화 지연, 암 예방, 폐기능 향상, 황반 퇴화 및 백내장 예방, 시력감퇴 둔화, 당뇨병성 합병증 예방
	양배추	솔포라판 인돌	암 예방
	잎상추	퀘세틴	알레르기 염증반응 저하, 뇌와 기관지 종양의 성장 저지, 오염물질과 흡연으로부터 폐 보호
	부추	알릴화합물	암 예방, 콜레스테롤 및 혈압 강화
쪽파			

표 4-5 식품에 존재하는 파이토케미칼의 종류와 기능

색	식품	파이토케미칼 종류	생리적 기능
초록(흰색)	마늘	알릴화합물 퀘세틴	암 예방, 콜레스테롤 및 혈압 강하, 알레르기 염증반응 저하, 뇌와 기관지 종양 성장 저지
	양파		암 예방, 콜레스테롤 및 혈압 강하, 알레르기 염증반응 저하, 뇌와 기관지 종양 성장 저지, 오염물질과 흡연으로부터 폐 보호
	배	퀘세틴	알레르기 염증반응 저하, 뇌와 기관지 종양 성장 저지, 오염물질과 흡연으로부터 폐 보호
보라	블루베리	안토시아닌 엘라그산	노화 방지, 암 예방, 콜레스테롤 강하
	포도	레스베라트롤 엘라그산 퀘세틴	심장병 예방, 암 예방, 알레르기 염증반응 저하, 뇌와 기관지 종양 성장 저지, 오염물질과 흡연으로부터 폐 보호
검정	검은콩, 검은깨, 검은쌀, 해조류, 석이버섯, 블랙올리브	안토시아닌	암 예방, 노화 억제, 콜레스테롤 강하, 시력 개선 효과, 혈관 보호 기능, 항궤양 기능

## 4. 기능성평가

### 1) 시험관 내 실험

ORAC 시험법

TRAP 시험법

TOSC 시험법

FRAP 시험법

Copper reduction 시험법

DPPH 시험법

TEAC 시험법

### 2) 생체 외 시험

CAC 시험법

Comet 시험법

### 3) 동물실험 및 인체적용시험

DNA 손상 분석

항산화효소 활성 분석

항산화능 분석

GSH/GSSG

지질과산화물 분석

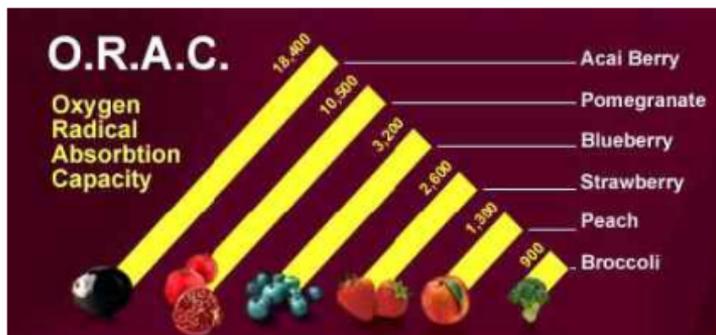
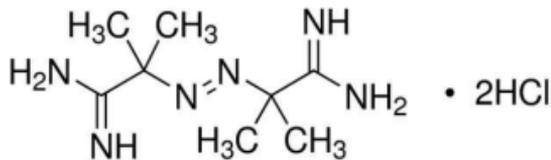
## (1) ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)시험법

- 세포막에 손상을 주는 활성산소종의 소거능을 측정하여 항산화 능력을 평가하는 HAT 시험법
- 특정 항산화 후보 물질이 peroxy radical( $\text{ROO}\cdot$ )에 의해 진행되는 산화에 대해 얼마나 저해 능력이 있는지를 형광을 나타내는 형광 분자(beta-phycoerythrin 또는 fluorescein)의 손상 정도를 측정하여 확인(항산화제는 형광물질을 보호)
- 측정결과를 trolox(대표적인 항산화제, 비타민 E 유사물질)와 비교하여 trolox 당량(Trolox equivalent, TE)으로 표기
- 단점으로는 주로 peroxy 라디칼에 대한 항산화 활성만 측정 가능.

# ORAC 시험법

- ORAC-assay는 일정 시간이 지남에 따라 AAPH에 의해 생성된 free radical에 의해 손상되어 발색되는 형광 값을 측정하여 결과를 확인.

AAPH ; 2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride



- 항산화물질은 형광 물질에 대한 free radical 손상을 방지하고, 안정적인 형광 시그널로 관찰되어진다.

## (2) TRAP 시험법

- AAPH 또는 ABAP로부터 생성된 퍼옥시 라디칼과 탐침과의 반응을 저해하는 항산화물질의 활성을 형광 또는 비색에 의해 측정하는 시험법
- 비효소적 항산화제(글루타치온, 비타민 등)의 활성을 측정할 수 있음

## (3) TOSC 시험법

- 하이드록시 라디칼, 퍼옥시 라디칼, 퍼옥시나이트라이트 같은 강력한 활성산소종이  $\alpha$ -keto- $\gamma$ -methiolbutyric acid(KMBA)와 반응하여 생성되는 에틸렌을 GC로 측정.
- 항산화제의 항산화활성은 에틸렌 가스 형성을 억제하는 능력으로 측정되어짐.
- GC로 여러 번의 주사가 요구되는 정도 관리, 품질 관리분석에는 현실적으로 사용하기 어렵다는 단점을 가지고 있음

#### (4) FRAP 시험법

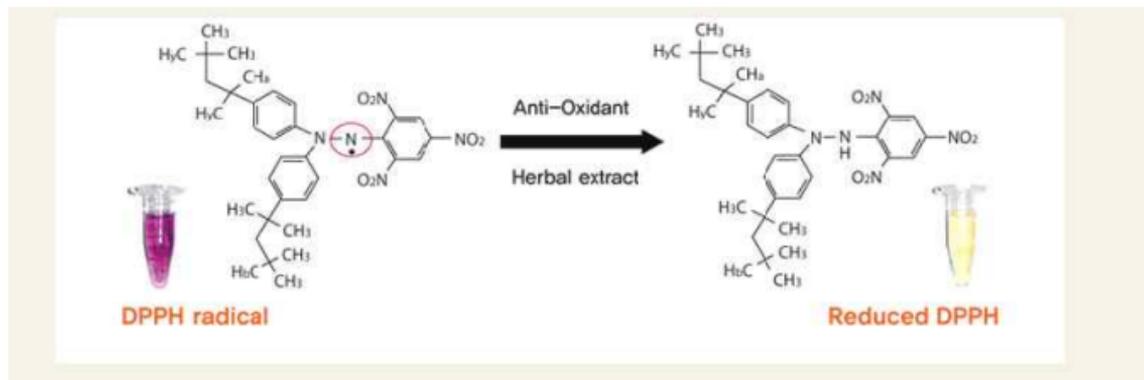
- $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ(ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine)를  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ로 환원시키는 능력을 측정하는 시험법
- 원리적으로 전자를 공여하는 능력을 측정하는 시험법이기에 항산화제가 보유한 라디칼을 소거하는 정도를 측정하는 것과는 차이가 있으므로 단독으로 확인하기보다는 다른 항산화 활성시험법의 결과와 함께 분석하여 항산화활성 작용기전을 분석하는데 활용.
- 10분 이내의 산화환원 반응을 측정하기 때문에 간단하고 신속한 장점.

#### (5) Copper reduction 시험법

- FRAP 시험법의 변형된 형태
- 철 대신에 구리를 이용하는 항산화 시험법으로 반응이 철보다 빠름
- 구리(II)가 구리(I)로 환원되는 정도를 측정

## (6) DPPH 시험법

- 보라색을 띠는 안정한 자유라디칼 DPPH가 항산화물질에 의해 환원되는 능력을 흡광도(515nm)에서 측정하는 시험법
- 항산화활성이 높을수록 보라색의 색깔이 감소하게 됨.



## (7) TEAC 시험법

- 수명이 긴 양이온 라디칼인 ABTS·+에 대한 항산화물질의 소거능력에 기초를 둔 항산화활성이 있는 물질은 ABTS의 청록색이 탈색되어짐.
- 수용성과 지용성 용매 모두 잘 녹음

## 2) 생체 외 시험

- 시험관시험은 인간의 생체 내 연관성이 떨어지는 경우가 많아 결과의 신뢰도에 한계가 있음.
- 시험 초기단계에서 동물이나 인간을 대상으로 항산화 활성을 확인하기에는 많은 시간과 비용이 소요되므로 이를 대체하기 위해
- 초기 배양된 세포를 이용하여 항산화물질의 생체이용도 등을 측정하는 방법

### (1) CAC 시험법

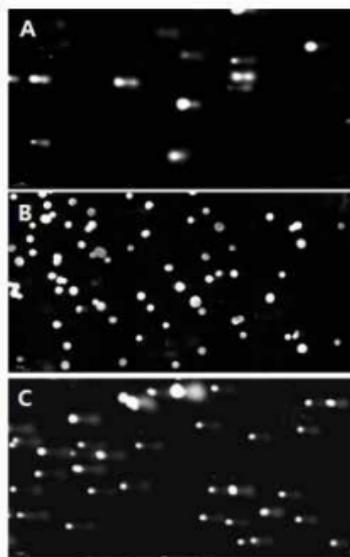
- 여러가지 산화제와의 반응을 통해 형광을 나타내는 2',7'-dichlorofluorescein di-acetate (DCFH-DA)라는 탐침을 이용하여 항산화 활성을 측정.
- DCFH-DA는 전하를 띠지 않는 비극성 물질이므로 세포막을 쉽게 통과.
- 세포질로 침투한 DCFH-DA는 세포내 에스테레이스 라는 효소에 의해 형광을 나타내지 않는 DCFH가 됨.
- 세포 내에서 생성되는 여러 활성산소에 의해 DCFH는 산화되어 형광을 띠는 DCFH가 되고 이 때 측정되는 형광은 세포내 산화도와 비례.
- 세포에 항산화제를 처리하면 형광이 감소함으로 활성정도를 확인할 수 있음.

## 2) 생체 외 시험

### (2) Comet 시험법

- 세포 내에서 발생하는 활성산소에 의해서 세포핵 DNA에 생긴 손상 정도를 분석하는 방법
- 세포에 산화제와 항산화물질을 특정시간 동안 처리한 후 소량의 세포를 현미경 슬라이드 위의 한천 겔에 고정.
- 고정된 세포의 세포막을 세포막 분해효소로 제거하고 알칼리 조건에서 핵의 DNA를 풀어 전기영동을 진행한 후 부로민화에티툼 으로 염색하여 형광현미경으로 관찰.

- DNA손상을 입은 세포는 혜성 꼬리 모양으로 나타남
- 꼬리의 길이 및 형광 강도를 측정하여 DNA 손상 정도를 정량화.
- 림프구는 코멧 시험에서 가장 많이 사용되는 세포로 림프구에서 일어나는 산화 스트레스에 관련된 문제를 연구하는데 유용



### 3) 동물 실험 및 임상 시험

#### (1) DNA 손상 분석

- 일정 기간 항산화 시료를 투여한 다음 산화 스트레스에 대한 시료의 항산화 작용을 분석하는 방법
- Comet test 또는 8-hydroxydeoxyguanin 함량 측정법을 사용

#### (2) 항산화효소 활성 분석

- 혈액과 간조직에서 카탈레이스, 초과산화물 변환효소, 글루타티온 과산화효소, 글루타티온 등의 환원효소의 활성을 측정하여 분석하는 방법

#### (3) 항산화능 분석

- 혈소판을 제거한 혈장이나 간조직을 사용하여 ORAC, FRAP, TEAC 등의 방법으로 항산화 능력을 측정

#### (4) GSH/GSSG

- GSH/GSSG의 비율은 분석하고자 하는 시료에 의한 생체 내 항산화 활성을 잘 나타내 주는 지표

#### (5) 지질과산화물 분석

- 생체 구성 성분 지질의 산화물인 지질과산화물을 분석하는 방법

#### (6) Comet 시험법

- 동물 또는 사람의 혈액을 가지고 분석하는 방법

# 5. 기능성원료

## 1) 고시형원료

표 7-1 항산화 관련 고시형 건강기능식품의 분류

구분	기능성원료	일일 섭취량 · 항산화에 도움
영양소	β-카로틴	0.42~7mg(합성물) 1.26mg(식품원료 유래)
	비타민 C	30~1,000mg
	비타민 E	300~400mg
	구리	0.24~7.0mg
	셀레늄	16.5~135μg
	망간	0.9~3.5mg
페놀류	녹차 추출물	0.3~1g(카테킨)
	프로폴리스 추출물	16~17mg(총플라보노이드)
	코엔자임 Q <sub>10</sub>	90~100mg(코엔자임 Q <sub>10</sub> ) 270~800mg(코엔자임 Q <sub>10</sub> 가용화분말)
터핀류	엽록소 함유 식물	8~150mg(총엽록소)
	클로렐라	8~150mg(총엽록소)
	스피루리나	8~150mg(총엽록소)
	스쿠알렌	10g(스쿠알렌)

## (1) 영양소

### ① 베타-카로틴( $\beta$ -carotene)

- 신체 보호 기능을 하는 항산화제
- LDL-콜레스테롤 산화의 감소, 혈청 지질과산화물 감소, DNA 사슬 절단 등

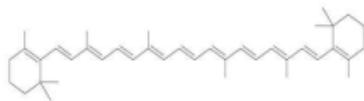


그림 4-3 베타-카로틴의 구조



그림 4-2 베타-카로틴 함유식품: 당근

### ② 비타민C

- 합성 불가능, 식품형태로 섭취
- 활성산소종(ROS), 활성질소종(RNS) 등 자유기 제거

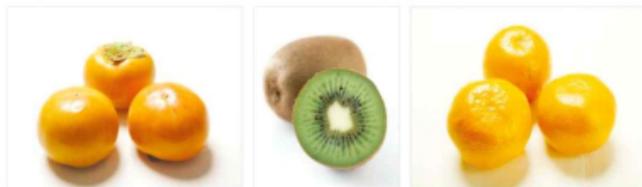


그림 4-4 비타민 C 함유식품: 과일류

### ③ 비타민 E

- 알파-토코페롤
- 세포막을 구성하는 불포화지방산의 과산화 억제

### ④ 구리

- 철분의 흡수 및 이용 도움
- 구리 부족 시, 철의 이용률 감소, 적혈구 합성저하, 빈혈 발생, 신경장애, 골다공증



그림 4-5 비타민 E 함유식품: 식물성 기름

그림 4-6 구리 함유식품: 견과류(호두, 잣, 밤 등)

### ⑤ 셀레늄

- 글루타티온 과산화효소, 티오레독신 : 체내 생성된 과산화수소 분해
- 셀레늄 결핍 시, 근육통, 근육소모, 심근증 등

### ⑥ 망간

- 주로 미토콘드리아에 존재(간, 신장, 췌장 등)
- 초과산화물 변환효소 : 초과산화물 라디칼 파괴
- 아르지네이스 : 요소 형성 반응 촉매
- 글루타민 합성효소 : 체내 암모니아 제거 반응 촉진



그림 4-7 셀레늄 함유식품: 해산물(게, 조개, 다랑어 등)



그림 4-8 망간 함유식품: 땅콩



## (2) 터핀류

### ① 엽록소 함유 식물

- 엽록소a, b는 과산화수소로 유발된 DNA 손상 감소
- 항산화 비타민, 카탈레이스, 초과산화물 변환효소의 활성이 증가

### ② 클로렐라

- 활성산소 등 자유 유리기 생성을 저해
- 직접적인 항산화작용, 항산화효소 활성을 촉진시킴으로 세포 내 산화 스트레스 감소에 도움

### ③ 스피루리나

- 카로티노이드 등의 색소와 리놀렌산 등의 필수지방산이 풍부
- 엽록소 분해 산물 총페오포르바이드 0.1% 이하로 관리

## 2) 개별인정형 원료

표 7-2 항산화 관련 개별인정형 건강기능식품의 분류

기능성원료	지표성분	일일 섭취량
끼꼬망 포도종자 추출물	Proanthocyanidin	200~300mg(끼꼬망 포도종자 추출물)
피크노제놀-프랑스 해안송껍질 추출물	Proanthocyanidin	50~300mg(피크노제놀)
복분자 주정 추출 폴리페놀 EA108	Ellagic acid	-
유니벡스 대나뭇잎 추출물	Tricin, p-coumaric acid	300~600mg(대나뭇잎 추출물) 0,345~2,07mg(트리신) 1,095~6,57mg(p-쿠마르산)
PME-88 멜론 추출물	SOD	500~1,000IU(SOD)
비즈왁스알코올	1-tetracosanol, 1-hexacosanol, 1-octacosanol, 1-triacotanol, 1-dotriacotanol, 1-tetraltriacontanol	50mg(비즈왁스알코올)
토마토 추출물	(all-trans)-lycopene	5.7~15mg(all-트랜스-라이코펜)

## 2) 개별인정형 건강기능식품

### (1) 끼꼬망 포도종자 추출물

- 포도종자 추출물 섭취 시, 프로안토시아닌 증가
- 인체의 항산화능 증진에 도움을 줄 수 있음

### (2) 피크노제놀(picnogenol)- 프랑스 해안송껍질 추출물

- 피크노제놀이 항산화 관련 효소 활성 증가 확인
- 혈소판 응집 감소됨
- 유해한 활성산소를 제거하는데 도움을 줄 수 있습니다

### (3) 복분자 주정추출 폴리페놀 EA108

- 지표성분-엘라그라산(ellagic acid)
- 항산화능 증진에 도움을 줄 수 있으나 임상 시험에서의 확인이 필요합니다

### (4) 유니벡스 대나무잎 추출물

- 염증치료 및 해열, 뇌졸중에 효능
- 지표성분 -트리신, 파라-쿠마르산
- 혈중 콜레스테롤과 중성지방 감소
- 항산화 효능



그림 4-11 대나무잎