

원 저

土茯苓의 抗酸化作用 및 抗菌 效果에 對한 研究

양기호

순천대학교 한약자원학과

Studies on the Antioxidation and Antimicrobial Effect of *Smilacis Glabrae Rhizoma*

Ki-Ho Yang

Department of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University

Objectives : This study was performed to investigate the effects of *Smilacis Glabrae Rhizoma* on antioxidation and antimicrobial activity.

Methods : In this study, we investigated the effects of peroxide radicals on hydrogen donating activity and linoleic acid, and the MDA contents on the hepatic lipids of rats, via methanol extractions and subfractions of *Smilacis Glabrae Rhizoma*.

Results : 1. Hydrogen donating activity was very great for the radical scavenging effects, depending on the additional concentration at the fraction level of chloroform and ethyl acetate.

2. The peroxide radicals in linoleic acid were lower depending on the additional concentration, at the fraction level of ethyl acetate, than the controls. We concluded that both had significant anti-oxidation effects.

3. MDA contents of the hepatic lipid had also inhibition effects on lipid radicals, in proportion to the concentration of n-hexane, chloroform, and ethyl acetate fraction level.

4. After extracting *Smilacis Glabrae Rhizoma* with 80% methanol, we experimented with the extracts the antibiosis each concentration, for 5 bacilli, *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonela typhimurium*, and *Alcaligenes faecalis*. While the effects showed differentiations by concentration, they had usually the significant inhibition effect for the multiplication at 37.5~75ug/ml. To identify the effective constituents, we identified the antibiosis of the fractions assaying cyclically hexane, chloroform, ethyl acetate, and butanol. The result showed that antimicrobial activation of both Gram-positive and Gram-negative bacillus except for *E. coli* was measured highest at the fraction level of BuOH and water.

Conclusions : This result suggest that the extractions of *Smilacis Glabrae Rhizoma*, at ethyl acetate fraction, had significant anti-oxidation effects and at BuOH and water fraction had relatively strong antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus*, *Salmonela typhimurium*, and *Alcaligenes faecalis*.

Key Words: *Smilacis Glabrae Rhizoma*, free radical, antioxidation, antimicrobial activity

서 론

· 접수 : 2003년 5월 26일 · 논문심사 : 2003년 10월 23일

· 채택 : 2003년 11월 3일

· 교신저자 : Ki-Ho Yang, Department of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University, Sunchon 315, Korea
(Tel: 061-750-3665, Fax: 061-750-3608, E-mail: nattier4@hanmail.net)

老化와 成人病疾患의 原因이 活性酸素에 起因된 것이라는 學說이 점차 인정되어짐에 따라 活性酸素를 조절할 수 있는 물질로 알려진 抗酸化劑의 研究開發이 活潑히 진행되어 왔다. 酵素系 抗酸化劑인

Table 1. Effect of *Injinchunggan-tang* on TGF- β 1 mRNA Expression

Strains	No.	Cultivation conditions(°C)
Gram(+) bacteria		
<i>Bacillus subtilis</i>	NFRI 8013	NB ^a , 30
<i>Staphylococcus aureus</i>	KCTC 1928	NB, 37
Gram(-) bacteria		
<i>Escherichia coli</i>	NFRI 8263	NB, 37
<i>Salmonella typhimurium</i>		NB, 37
<i>Alcaligenes faecalis</i>	KCTC 2678	NB, 37

^aNutrient Broth

superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등과 天然 抗酸化劑인 tocopherol, ascorbic acid 등과 合成抗酸化劑인 Troxol-C, BHA(tert-butyl-4-hydroxyanisole), BHT(tert-butyl-4-hydroxytoluene)를 筆頭로 한 여러 가지 抗酸化劑가 알려져 있다^[3]. 韓藥材 中에 文獻의 으로 抗酸化作用 및 抗菌效果가 있을 것으로 추측된 土茯苓抽出液을 가지고 실험을 하게 되었다.

土茯苓 (*Smilacis Glabrae Rhizoma*)은 百合科에 屬한 多年生 攀援狀灌木인 민청미래덩굴의 根莖^[4,5,6]이다. 氣味는 甘淡平無毒하고, 歸經은 肝胃의 二經, 效能으로는 清熱解毒, 除濕, 利關節 등의效果가 있어서 濕瘡, 熱淋, 惡瘡, 梅毒, 癰腫을 治療하고, 水腫을 수반하는 腎炎의 蛋白尿를 제거하는데 효과가 있으며 急性細菌性痢疾, 脈管炎, 乾癬에 사용하고 또한 水銀中毒을 解毒하는 작용이 있다^[4,5,7,8,9]. 주요성분으로는 saponin, tannin을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다^[10,11,12,13]. 異名으로 山草薢, 刺豬苓, 山豬糞, 草禹餘糧, 仙遺糧 등이 있다.

土茯苓에 대한 연구로는 土茯苓을 이용한 Rats의 水銀中毒解毒에 關한 研究^[10]와 土茯苓抽出液이 腎臓器에서 카드뮴 毒性解毒에 미치는 效果가^[8] 있으며 抗菌에 대한 研究는 간혹 있었으나, 抗酸化에 대한 研究는 아직까지 미미하여 이에 본 저자는 土茯苓의 抗酸化作用 및 抗菌效果를 측정하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

本 實驗에 사용된 土茯苓 은 圓光大學校 韓醫科大學 附屬光州韓方病院에서 구입한 후 精選하여 使用하였다.

2) 사용균주 및 배지

本 實驗에 사용한 菌株는 Table 1과 같으며, gram 양성균으로 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 2종과 gram음성균으로는 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Alcaligenes faecalis* 3종을 유전자은행 (KCTC)과 일본식품개발연구원(NFRI)

에서 분양 받아 사용하였다. 菌 生育 培地는 5종의 菌株에 대하여서는 Nutrient Broth(Difco Co.)를 사용하였다.

2. 방법

1) 土茯苓 용매추출 분획물의 조제

환자 플라스크에 土茯苓 300g을 넣고 80%MeOH로 수욕상에서 3시간씩 2회 반복 추출한 후 여과하고, 濾液을 rotary evaporator로 감압 농축시킨 후 동결 건조하여 시료로 사용하였다. 80%MeOH 추출물은 다시 증류수로 혼탁시켜 용매의 극성을 증가시키는 계통분획법에 따라 n-hexane, chloroform, ethyl acetate 및 n-butyl alcohol를 2배량 가하여 1시간 동안 funnel shaker로 shaking하여 3회 순차분획하여 각각의 fraction을 얻은 후 감압 농축시키고 동결건조하여 각각의 시료로 사용하였다.

2) 수소공여능 측정

시료에 대한 수소공여능은 α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazine(DPPH)의 환원성을 이용하여 516nm에서 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다^[14]. 대조

구로 사용한 BHT의 농도를 0.1%되게 조제하고 土茯苓의 용매별 추출물 각각 1ml와 4×10-4M DPPH용액 3ml를 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 종류수에 대한 흡광도를 측정하고, 대조구는 시료대신에 탄올 1ml을 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

$$\text{수소공여능} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

3) Linoleic acid에 대한 항산화력 측정

Hayase 등의 방법^[16,17,18]에 따라 linoleic acid의 과산화물가(peroxide value, POV)를 측정하여 항산화능을 측정하였다. 삼각플라스크에 linoleic acid 1g, ethanol 25ml 및 土茯苓 분획물을 첨가한 후 0.2M 인산완충용액 25ml를 가하여 50℃에서 일정기간(2days) 저장한 다음 chloroform 25ml를 가하여 2-3회 반복 추출하였다. Chloroform 추출액에 acetic acid 25ml과 포화 KI용액 1ml를 가하여 암소에서 10분간 방치한 다음 종류수 50ml를 가하여 1/100 N Na₂S₂O₃용액으로 적정하여 다음식에 의해 과산화 물가를 측정하였다.

$$\text{Peroxide value(meq/kg)} = \left(\frac{S \times f}{\text{Linoleic acid 채취량(g)}} \right) \times 10$$

S : 0.01N 차아황산나트륨용액의 소비ml

f : 0.01N 차아황산나트륨용액의 factor

4) 간 지질과산화 억제효과

土茯苓 용매분획물의 지질과산화 억제효과를 훈취의 liver homogenate를 사용하여 *in vitro*로 관찰하였다^[19]. 훈취의 간장을 적출하여 phosphate buffer(pH 7.4)로 균질화한 다음 균질액에 H₂O₂(1M)와 FeSO₄(50mM) 및 土茯苓 분획물을 가하여 37℃에서 30분간 배양한 후 생성된 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 함량을 측정하였다.

5) 항균 활성

土茯苓의 용매분획물에 대한 항균력은 액체배지 희석법^[20]을 이용하여 측정하였으며, 유전자은행(KCTC)과 일본식품개발연구원(NFRI)에서 분양 받

은 주요 식중독균 5종, 즉 *Bacillus subtilis* 등 Gram 양성균 2균주, *Escherichia coli* 등 Gram 음성균 3균주를 사용하여 검사하는데, 균주의 종류 및 배양조건은 Table 2와 같다. 배양된 균주는 10ml broth 생육배지에 접종하고, 30℃에서 24시간씩 3회 계대 배양하여 사용하였다.

土茯苓 MeOH추출물과 용매분획물을 물과 10% DMSO에 용해 시킨 후, 96 well plate에 각 시료의 농도를 최고농도 300 μg/ml에서 최저농도 9.38 μg/ml까지 2배씩 연속적으로 희석하였다. 각 균주는 단일 콜로니를 액체배지에 접종하고, 37℃ 배양기에서 18시간 배양한 균주를 10 CFU/ml를 접종하여, 37℃ 배양기에서 24시간 배양한 후, ELISA reader(Molecular devices, spectra MAX 250, USA)에 의한 흡수파장 540 nm에서 흡광도를 측정하여 배지의 탁도를 확인하였고, 순수 배양액의 흡광도값과 같은 결과를 얻은 것을 최소증식 저해 농도(Minimal inhibitory concentration, MIC)^[21,22]로 결정하였으며, 최소증식억제농도수치가 낮은 것을 항균효과가 높은 것으로 판정하였다.

결과

1. 항산화 효과

1) 수소공여능

본 실험에서는 기존에 잘 알려져 있는 항산화제인 BHT를 대조군으로 하여 DPPH라디칼 소거작용에 의한 항산화력을 측정하였다(Table 2).

용매에 따른 수소공여능은 土茯苓의 Chloroform, Ethyl acetate 분획총에서 농도증가에 따라 라디칼 소거효과가 증가하고 있다. 특히 Ethyl acetate 분획에서의 효과가 다른 분획물들보다 높았으며, 그 중 100 μg/ml에서는 32.10%, 1000 μg/ml의 농도에서 수소공여능은 76.10%로 0.1% BHT의 87.46%에 근접하게 나타나 상당한 항산화효과를 나타내었다. Chloroform 분획총에서도 0.1% BHT에 미치지 못했으나 1000 μg/ml의 농도에서 79.56%의 강한 항산화작용을 나타내었다.

Table 2. Hydrogen Donating Activity of Solvent Fractions of *Smilacis Glabrae Rhizoma*(%)

Fraction	Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Hydrogen donating activity
0.1% BHT		87.456 ± 0.010
Hexane	10	8.816 ± 0.008
	50	5.124 ± 0.004
	100	4.594 ± 0.005
	500	6.537 ± 0.007
	1000	12.073 ± 0.003
Chloroform	10	8.716 ± 0.008
	50	17.903 ± 0.002
	100	17.256 ± 0.015
	500	68.728 ± 0.006
	1000	79.564 ± 0.003
EtOAc	10	8.009 ± 0.003
	50	19.435 ± 0.003
	100	32.097 ± 0.002
	500	66.431 ± 0.003
	1000	76.090 ± 0.010
BuOH	10	12.544 ± 0.005
	50	10.247 ± 0.003
	100	9.835 ± 0.008
	500	11.661 ± 0.002
	1000	19.022 ± 0.008
Water	10	12.014 ± 0.004
	50	9.187 ± 0.023
	100	9.305 ± 0.010
	500	7.715 ± 0.003
	1000	0.006 ± 9.776

Table 3. Antibacterial Activity of *Smilacis Glabrae Rhizoma* Extracts and Fraction

Tested microorganism	MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ^{a)}					
	MeOH Ext.	Hexane Fr.	CHCl ₃ Fr.	EtoAc Fr.	BuOH Fr.	Water Fr.
Gram positive bacteria						
<i>Bacillus subtilis</i>	37.5	— ^{b)}	—	>150	37.5	37.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	37.5	>150	—	37.5	18.75	18.75
Gram negative bacteria						
<i>Escherichia coli</i>	75	>150	—	>150	75	—
<i>Salmonella typhimurium</i>	37.5	>75	—	37.5	37.5	>37.5
<i>Alcaligenes faecalis</i>	37.5	>150	—	37.5	18.75	18.75

^{a)} Data are the average of three experiments.^{b)} Very weak or not determined.

2) Linoleic acid에 대한 항산화 효과

土茯苓 용매분획물의 linoleic acid에 대한 항산화력은 linoleic acid에 0.1%BHT와 土茯苓 용매 분획물을 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 첨가한 후 50°C에서 2일간 저장 후 과산화물을 측정하였는데, Ethyl acetate 추출물 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 첨가시 대조구와 비슷하나 추출물의 농도를 높게 할 수록 과산화물가는 낮게 나타나 항

산화 효과가 높았으며, Hexane분획과 Chloroform분획총에서도 과산화물가가 농도 의존적으로 낮게 나타나 상당한 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 1).

3) 지질 과산화 억제효과

간장 조직의 지질 과산화물을 측정하여 土茯苓의 유기용매 분획물들에 대한 지질 과산화 억제 효과를 시료를 첨가하지 않은 대조구와 비교하여 TBARS

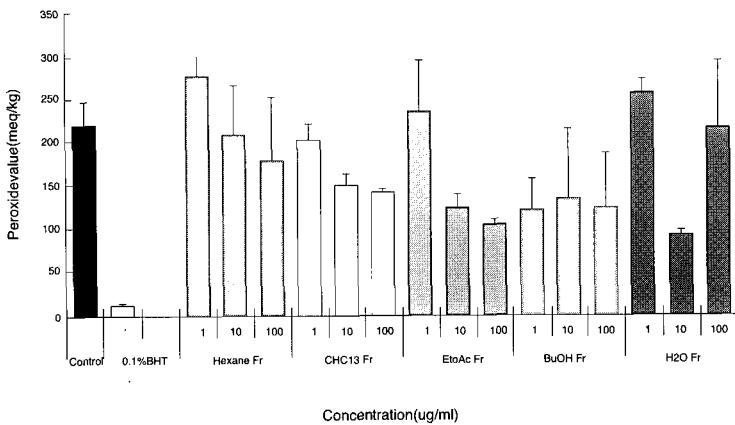


Fig. 1. Peroxide value of linoleic acid added solvent extracts of *Smilacis Glabrae Rhizoma* after autoxidation at 50°C for 2 days.

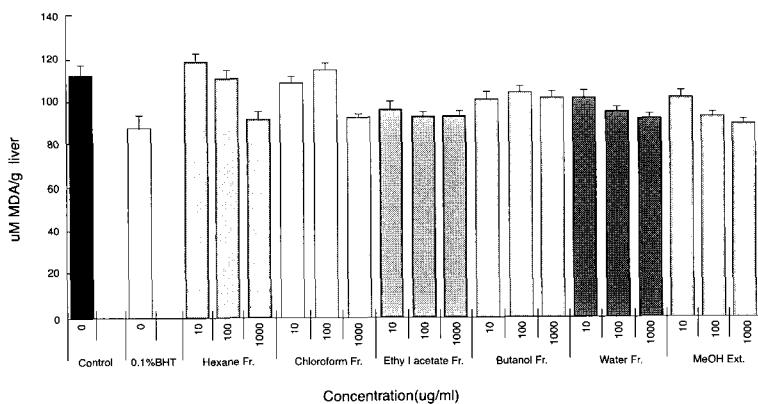


Fig. 2. Effect of solvent fractions obtained from *Smilacis Glabrae Rhizoma* extract on TBA value of rat liver.

함량을 측정한 결과는 Fig 2.와 같다.

Hexane 분획과 Chloroform 분획, Ethyl acetate 분획에서 농도 의존적으로 지질과산화 억제작용이 나타났으며, 시료를 첨가하지 않은 대조구의 TBA가가 114.7 μ mol malondialdehyde (MDA)/g liver에 비해, Ethyl acetate분획물에서 1000 μ g/ml 농도에서 23%로 TBARS의 생성을 억제하여 가장 높은 지질과산화물 감소를 보였다. 이는 합성 산화제인 0.1%BHT와 비교해 보았을 때 거의 같은 항산화효과를 나타내어

상당한 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다.

2. 메탄올 추출물의 계통분획별 항균활성

土茯苓 80% MeOH추출물의 항균활성은 그람양성 및 음성균 모두에서 최소증식저해농도(MIC)가 37.5-75 μ g/ml로 측정되었으며, 이 메탄올 추출물을 극성 및 비극성용매를 이용하여 순차별로 항균활성을 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다.

BuOH분획총과 Water분획총에서 그람 양성 세균

인 *S. aureus*와 그램 음성세균인 *A. faecalis*에 대한 항균력은 MIC가 $18.75\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 측정되었으며, *E. coli*를 제외한 나머지 다른 균주에 대해서도 MIC가 $37.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 측정되었다. 한편 Ethyl acetate 분획에서는 *B. subtilis*을 제외한 모든 균에서 MIC가 $37.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 측정되었다.

고 칠

土茯苓 (*Smilacis Glabrae Rhizoma*)은 百合科에 屬한 덩굴성 灌木으로 중국, 일본에 널리 분포하며, 氣味는 甘淡平無毒하고, 歸經은 肝胃의 二經, 效能으로는 清熱解毒, 除濕, 利關節 등의效果가 있어서 濕瘡, 熱淋, 惡瘡, 梅毒, 癰腫을 治療하고, 水腫을 수반하는 腎炎의 蛋白尿를 제거하는데 효과가 있으며, 民間에서는 胃癌, 食道癌, 直腸癌의 治療劑 및 糖尿病, 食慾增進, 嘔吐減少, 食道狹窄의 疏通, 利尿, 赤血球나 hemoglobin의 증가를 유지하는데 그 뿌리를 藥材로 사용하고 있다. 뿐만 아니라 黃色葡萄球菌, 綠膿菌, 大腸菌 등에 대하여 菌成長抑制作用이 있다고 알려져 있다²³⁾.

보통 유해산소라 불려지는 活性酸素는 가장 안정한 형태의 酸素인 triplet oxygen(O_2)이 酸化, 還元과정에서 還元을 받아 생성되는 singlet oxygen인 superoxide anion('O₂'), hydrogen peroxide(H_2O_2)과 hydroxyl radical(·OH)과 같은 free radical로서, 이들이 蛋白質, DNA, 酵素 및 T-Cell과 같은 면역계의 인자를 손상시켜 각종 질환을 일으키며, 특히 문제가 되는 것은 活性酸素가 細胞 生體莫의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하여 脂質과산화 반응을 일으켜 體內 過酸化 脂質을 축적함으로 인해 生體 機能이低下되고 동시에 老化 및 成人病 疾患을 誘發하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾.

유리라디칼은 老化, 發癌, 動脈硬化 및 食品의 酸化에 관련이 있다고 보고되어 있는데²⁵⁾ 본 실험에서 이용한 DPPH의 hydrazyl은 질소원자가 불안정한 상태로 항산화성 물질과 반응하여 수소원자를 받아들임으로써 자체의 정색성을 잃는 성질을 가진다.

실험결과 용매에 따른 수소공여능은 土茯苓의 Chloroform, Ethyl acetate 분획층에서 농도증가에 따라 라디칼 소거효과가 증가하고 있다. 특히 $1000\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 양성대조약물로 이용한 0.1%BHT와 대등할 정도의 항산화능을 보였다. linoleic acid에 대한 항산화력은 Ethyl acetate 분획층에서 농도의존적으로 과산화물가가 낮게 나타났다.

지질과산화 작용은 생체막의 손상을 야기 시킬 뿐만 아니라 동맥경화증, 심장질환, 암 등과 깊은 관련이 있으며 불포화 지방산과 그들의 에스테르 형태는 금속이온 또는 free radical연쇄반응을 통한 과산화물의 존재 하에서 일어난다²⁶⁾. 또한 Free Radical에 의한 과산화반응은 세포막의 구성성분인 인지질과 활성산소의 반응으로 지질막의 과산화가 유발되어 세포손상을 유발시킨다. 일반적으로 지질과산화 유도에 이용되는 비효소적 유도 물질로는 Fe^{2+} 또는 Fe^{3+} 의 금속이온이며 또한 천연물의 경우에는 화합물중의 폐놀성수산기가 지질과산화에 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 이를 근거로 土茯苓 추출물을 대한 분획물들을 농도별로 첨가시킨 뒤 과산화지질의 함량변화를 측정한 결과 대조구에 비해 Hexane 분획과 Chloroform 분획, Ethyl acetate 분획에서 농도의존적으로 지질과산화 억제작용이 나타났다.

한편, 土茯苓 메탄올추출물에 대하여 시험균 5종 *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. typhimurium* 및 *A. faecalis*를 선택하여 항균성을 검색한 결과 최소증식 저해농도(MIC)는 $37.5\text{-}75\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고, 이 추출물을 여러 가지 유기용매로 추출하여 항균력을 측정하였다. 그 결과 BuOH 분획층과 Water 분획층에서 그램 양성균인 *B. subtilis*, *S. aureus*과 *E. coli*를 제외한 음성균 *S. typhimurium* 및 *A. faecalis*에서 MIC가 $18.75\text{-}37.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 높게 나타났으나 그램음성균인 *E. coli*에 대한 항균 활성은 나타나지 않았다. 이는 송²⁸⁾등의 청미래 덩굴뿌리에서 추출한 methanol 추출물과 수용성추출물의 항균활성에 대한 보고에서와 같이 청미래 덩굴 수용성추출물이 methanol 추출물에 비해 상대적으로 항균활성이 높으며, *A. rhizogenes*와 *B. subtilis*등의 균에서 비교적 강한 항균활성을 나타내

었다는 보고와 일치한다.

이상에서 土茯苓은 Ethyl acetate 분획과 Chloroform 분획총에서 항산화 효능이 있었고 BuOH 분획과 Water 분획총에서는 항균활성이 나타났으므로, 향후 그 성분의 분리와 작용기전에 대한 연구는 지속적으로 진행되어야 할 것이다.

결 론

본 연구에서는 土茯苓 메탄올추출물과 분획물들에 대해 수소공여능과 linoleic acid에 대한 과산화물가 및 흰쥐의 간 지질에 대한 MDA의 함량을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 수소공여능은 Chloroform, Ethyl acetate 분획총에서 첨가 농도에 의존적으로 라디칼 소거효과가 크게 나타났다.
2. linoleic acid에 대한 과산화물가도 Ethyl acetate 분획총에서 대조구에 비하여 농도 의존 적으로 낮게 나타나 상당한 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.
3. 흰쥐의 간지질에 대한 MDA의 함량도 Hexane 분획과 Chloroform 분획, Ethyl acetate 분획에서 농도에 비례하여 지질과산화 억제작용이 나타났다. 이상의 항산화 실험결과 土茯苓의 Ethyl acetate 분획총에서 상당한 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.
4. 土茯苓을 80%메탄올로 추출하여 5종의 균주 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Alcaligenes faecalis*에 대하여 농도별 항균성을 시험한 결과 균종에 따라 차이는 있지만 일반적으로 37.5~75 μ g/ml에서 상당한 증식 저지효과를 보였다. 이 유효성분을 확인하기 위하여 n-hexane, Chloroform, Ethyl acetate, BuOH 순으로 분획하여 얻은 분획물의 항균성을 확인한 결과, BuOH 분획총과 Water 분획총에서 그람양성균과 *E. coli*를 제외한 음성균 모두에서 항균력이 나타났다.

참고문헌

1. Hatano T. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species tannins and related polyphenols. Natural Medicines. 1995;49: 357-363.
2. Kitahara K, Matsumoto Y, Ueda H and Ueoka R. A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of irradiated methyl linoleate. Chem. Pharm. Bull. 1992;40:2208-2209.
3. Masaki H, Sakaki S, Atsumi T and Sakurai H. Active-oxygen scavenging activity of plant extracts. Bull. Pharm. 1995;18:162-166.
4. 이귀녕, 이종순. 임상병리파일. 서울:의학문화사. 1974:345.
5. 李炳辛. 鍼道源流重. 서울:杏林書院. 1974:292-293,353.
6. 林種國. 鍼灸治療學. 集文堂. 서울:의학문화사. 1990:345.
7. 環境廳. 有害化學物質解説集(1). 서울:環境廳. 1988:243-254.
8. 강성호. 土茯苓抽出液이 흰쥐 臟器에서 카드뮴 毒性解毒에 미치는 效果. 圓光大 韓醫學 科大學院 碩士論文. 1995.
9. 고정수. 腎俞, 志室 八味地黃湯 水鍼處理가 輸送 stress를 준 토끼의 血液上에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 1995;12(2):75-85.
10. 于貞祿. 鍼灸經穴解說. 서울:杏林書院. 1973:99.
11. 崔容泰 外. 鍼灸學 卷上. 서울:集文堂. 1988;489-490,724-725.
12. 최석영. 독성학. 서울:신일상사. 1992:133.
13. 허인희. 독성학. 서울:신일상사. 1993:258,355,440.
14. 崔光敦. 土茯苓 藥鍼刺較이 HgCl₂ 中毒 흰쥐의 損傷腎에 미치는 影響. 圓光大 韓醫學科 大學院 碩士論文. 1996.
15. Farag RS. Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. J. Food. Prot. 1989;52:665-668.
16. Hayase F and Kato H. Antioxidative components of sweet potatoes. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 1988;30:37-40.
17. 카와미시 순로엮음, 기능성식품소재연구회 옮김. 식품중의 생체기능조절물질 연구법. 송현문화사. 1996.
18. 최홍식, 박경숙, 문갑숙, 박건영. 지방질의 산화에 대

- 한 원장 및 그 추출물의 항산화 특성. 한국영양식량학회지. 1990;19(2):163-167.
19. Gutteridge JMC. Free-radical damage to lipids, amino acids, carbohydrates and nucleic acids determinated by thiobarbituric acid reactivity. Int. J. Biochem. 1982;14.
 20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A5. NCCLS, Wayne, Pa. 2000.
 21. Jorgensen JH and Sahm DF. Antimicrobial susceptibility testing. general considerations. In Murray, P.R. et al.(eds), Manual of Clinical Microbiology, 6th ed., ASM, Washington. 1995:1277.
 22. Lorian V. Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed., Williams & Wilkins, Baltimore. 1996.
 23. 陣存仁. 圖說漢方醫藥大事典(한국판). 서울:東都文化社. 1984;4:257.
 24. 皆川信子. 活性酸素が關與する 代表的疾患. フアルマシア. 1993;29:1029.
 25. Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. 1993;90:7915-7920.
 26. Hu ML and Shin MK. Ascorbic acid inhibits lipid peroxidation but enhances DNA damages in Rat liver nuclei incubated with Iron ions. Free Rad. Res. 1997;26:585.
 27. Sachino K and Ryokuero S. Effects of Iron(II) and Vitamins C and E on Lipid Peroxidation in Normal and Tumor-Bearing Mice Treated with an Excessive Amount of α -Linoleic Acid. J. Home Econ. Jpn. 1998;49:1273.
 28. 송종호, 김한수, 김용균, 손병구, 최영환 및 강점순. 청미래덩굴 추출물의 항균활성. 農技研報. 1999;3:1-6.