

포도씨 추출물의 항산화성

장재권* · 한지영¹

청강문화산업대학 식품생명과학과, ¹해태제과 연구소

The Antioxidant Ability of Grape Seed Extracts

Jae-Kweon Jang* and Ji-Young Han¹

Department of Food Biotechnology, Chungkang College of Cultural Industries

¹HaiTai Food Confectionery Research Center

The study was carried out to evaluate the antioxidant activity of grape seed extracts by measuring acid value, peroxide value (POV), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS value) and electron donating ability by 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil (DPPH) method. Total phenol content of freeze dried crude solvent extracts increased in the order of ethanol>acetone>hot water. Among extracts, the total phenol content of 70% ethanol extract of grape seed (GSE) was the highest, 51%. Besides the total phenol, the other major components of GSE were crude carbohydrate (29.63%), crude protein (3.38%) and crude lipid (2.84%). The acid values of crude rice bran oil containing GSE or several antioxidants at the concentration of 0.01% were 52.3 for the control, 0.5 for GSE, 2.3 for dibutyl hydroxytoluene (BHT), 45.0 for tertiarybutyl hydroxy quinone (TBHQ), 29.9 for tocopherol and 37.7 for ascorbic acid. The POVs for linoleic acid methyl ester in the presence of 0.01% antioxidants were 1220 meq/kg in control, 55 meq/kg in GSE, 104 meq/kg in BHT, 952 meq/kg in tocopherol and 71 meq/kg in ascorbic acid. The antioxidant activities for TBARS (%) in the presence of 0.01% antioxidants were 53% in GSE, 37% in BHT, 37% in tocopherol and 52% in ascorbic acid. The electron donating abilities by DPPH in the presence of 0.01% antioxidants were 95.3% in GSE, 75.0% in BHT, 96.3% in tocopherol and 98.2% in ascorbic acid. These results indicated that the antioxidants activities of GSE were significantly higher than those of several antioxidants compared.

Key words: antioxidant activity, grape seed extract (GSE), acid value, POV, TBARS, DPPH

서 론

식용유지나 지방질식품의 가공 및 저장 중에 산화로 인한 냄새, 풍미변화, 유지의 산패, 변색 등의 방지뿐만 아니라 생체 내에서 DNA, RNA, 단백질, 지방질 등과 반응하여 각종 염증, 암, 생체의 노화 등을 유발하는 superoxide anion radical, hydroxy radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성산소 생성을 방지할 목적으로 항산화제가 널리 사용되고 있다⁽¹⁻⁴⁾. 이러한 항산화제로는 tocopherol류, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole(BHA), propyl gallate(PG), tertiarybutyl hydroxy quinone(TBHQ), ascorbic acid 등이 있으며, 그 중 항산화효과가 뛰어난 BHT와 BHA는 변이원성 및 독성이 지적되어 사용량이 격감되어 안전성과 관능상 문

제가 되지 않는 식물기원의 천연 항산화제의 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있다⁽⁵⁾. 식품가공공정에서 포도과육 제조공정의 부산물로 얻어지는 포도씨에는 polyhydroxy flavan-3-ol units의 oligomer와 polymer인 proanthocyanidin 이라고 하는 폴리페놀 화합물이 유용물질로서 함유되어 있다⁽⁶⁾. 이러한 포도씨의 유용물질은 동맥경화억제, 노인성치매, 당뇨, 대장암예방 등에 관한 생체내의 효과에 대한 많은 연구가 행해지고 있다⁽⁷⁻⁸⁾. 본 연구는 식품에 대한 천연 항산화제로의 이용 측면에서 포도씨를 용매로 추출하여 페놀화합물의 함량을 비교하고 산가, 과산화물가, TBARS, DPPH의 4가지 항목에 대해 기존 항산화제들과 항산화력을 비교하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

포도씨는 서울 후암시장에서 판매하는 적포도를 구입하여 과육으로부터 분리하여 수세 건조한 후 본 실험의 시료로 사용하였다. 미강유는 (주)오뚜기에서 공급받았으며 시약은

*Corresponding author : Jae-Kweon Jang, Department of Food Biotechnology, Chungkang College of Cultural Industries, Ichon-Si San 37, Korea
Tel: 82-31-639-5905
Fax: 82-31-637-9696
E-mail: jkjang@chungkang.ac.kr

linoleic acid methylester, linoleic acid, 2-thiobarbituric acid (TBA), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), butylated hydroxytoluene(BHT), α -tocopherol은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며 그의 시약은 특급이나 일급을 사용하였다.

포도씨 추출물의 제조 및 총페놀함량 분석

포도씨의 유용물질인 폴리페놀이 가장 많이 추출될 수 있는 용매 추출조건을 선별하기 위하여 포도씨의 지방을 석유에테르로 제거하고 건조한 후 건조한 포도씨 50 g에 용매를 300 mL를 넣어 6시간 동안 추출하여 냉각시킨 후 잔사를 다시 600 mL의 용매를 넣어 반복 3회 추출하였다. 용매추출조건은 용매로 물, 에탄올, 아세톤을 사용하였으며 mantle heater에서 열을 가해 환류하면서 추출하였다. 추출물은 Whatman (No. 2) 여과지로 여과한 후 회전증발기로 감압 농축한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다. 추출율은 추출전 건조 포도씨 분말의 무게에 대해 추출물의 무게 백분율로 계산하였다. 한편 포도씨 유용물질인 총 페놀 함량은 Folin-Denis법에 의해 행하였다. 즉 100 mL 메스플라스크에 75 mL의 증류수와 분획물 1 mL을 넣고 잘 혼합한 후, Folin-Denis 시약 5 mL와 탄산나트륨 포화용액 10 mL를 넣은 후 증류수로 100 mL 용량으로 채웠다. 이것을 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 부터 % tannic acid 당량으로 환산하였다⁽⁹⁾.

일반성분의 분석

70% 에탄올로 추출하고 동결건조한 포도씨 추출물 건조분말(grape seed extract, GSE)의 일반성분은 AOAC 방법⁽¹⁰⁾에 따라 수분은 상압건조법, 조단백질은 micro-Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet법, 조회분은 건식회화법 및 조섬유는 산알칼리 분해법으로 분석하였다.

산가의 측정

GSE와 비교구로서 BHT, tertiarybutyl hydroxy quinone (TBHQ), ascorbic acid, tannic acid를 미강유와 linoleic acid 각각에 대해서 0.01%(w/v)의 농도가 되도록 첨가하고 60°C에서 30일간 저장한 후 AOAC 방법⁽¹¹⁾에 따라 산가를 측정하였다.

과산화물가의 측정

Linoleic acid를 기질로 한 과산화물가는 GSE와 비교구로서 BHT, ascorbic acid, α -tocopherol 각각을 linoleic acid에 대해 전체 농도가 0.01%(w/v)가 되도록 에탄올 20 mL와 0.2 M 인산완충액(pH 7) 25 mL를 가해 혼합한 다음 50 mL cap tube에 넣어 60°C에서 30일간 저장하였다. 그 후 이 반응용액을 300 mL 분액여두에 옮긴 다음 소량의 물과 식염 2g을 가하고 chloroform 25 mL를 사용해 3회 추출한 다음 총을 250 mL 삼각플라스크에 모으고 초산 25 mL와 포화 KI 용액 1 mL를 가해 1분간 진탕한 후 암소에서 10분간 방치한 다음 증류수 50 mL를 가하고 1% 전분용액을 지시약으로 하여 0.01 N 티오황산나트륨($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 용액으로 적정하여 측정하였다⁽¹²⁾.

Linoleic acid methyl ester에 대한 과산화물가는 100 μL 를 기질로 하여 GSE와 비교구로서 BHT, ascorbic acid, α -tocopherol을 methanol에 0.01%(w/v)로 용해한 용액 50 μL 를 시험관에 넣고 50°C 항온기에 24시간 저장하여 산화를 촉진시킨 다음 chloroform-acetic acid(2:3, v/v) 35 mL에 용해시켰다. 이 용액을 공전 삼각 플라스크에 넣고 질소가스로 플라스크내의 공기를 치환시킨 후 포화 KI 수용액 1 mL를 첨가하고 1분간 격렬하게 혼합하여 암소에서 5분간 방치시킨 다음 증류수 75 mL와 1% 전분시액 1 mL를 첨가 혼합하여 0.01 N 티오황산나트륨 용액으로 I_2 를 청남색이 무색으로 될 때까지 역적정하여 과산화물가(POV)를 측정하였다. 이때 POV는 다음과 같은 식으로 산출하였다⁽¹³⁾.

$$\text{POV (meq/kg)} = \frac{(T_v - B_v) \times 0.01 \times 1000 \times F}{W}$$

Tv: 적정에 소비된 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 소비량(mL)

Bv: 사용된 기질(linoleic acid methyl ester)의 적정에 소비된 0.01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 소비량(mL)

W: 사용된 linoleic acid methyl ester의 량(g)

F: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 역가

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 분석

육 등⁽¹³⁾과 강 등⁽¹⁴⁾의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 ethanol을 4:1로 혼합한 용매에 linoleic acid methyl ester를 10 μL 첨가하여 기질용액을 조제하였다. 기질용액에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 GSE와 비교구인 BHT, ascorbic acid, α -tocopherol 0.01%(w/v) 농도의 각 시료액을 첨가한 후 shaking incubator (60°C)에서 100 rpm으로 계속 진탕하면서 경시적으로 TBA(2-thiobarbituric acid)값을 측정하였다. 즉 경시적 반응액에 35% TCA(trichloroacetic acid) 1.0 mL, 0.75% TBA 시약 2.0 mL를 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 90°C에서 45분간 가열시키고 얼음에 식힌 후 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고, 그 상등액의 흡광도를 spectrophotometer(8452A Hewlett-Packard, USA)로 532 nm에서 측정하였다. TBARS 값은 시료 첨가군의 흡광도와 증류수를 대조군으로 한 흡광도로 부터 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{TBARS(\%)} = (A - B) / A \times 100$$

A: 물 첨가군의 흡광도(대조군)

B: 시료첨가군의 흡광도

전자공여능(electron donating ability)

전자공여능 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil) 라디칼 소거법으로 측정하는데 DPPH는 분자내 radical을 함유하여 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만들고 있어 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이때의 DPPH의 거동은 hydroxyl radical과 유사하여 프리라디칼 소거실험에 활용된다⁽¹⁴⁾. 실험방법은 Blois의 방법⁽¹⁵⁾을 일부 변형하여 측정하였다. 60 μM DPPH 2 mL에 GSE와 비교구인 BHT, ascorbic acid, α -tocopherol 각각 0.01%(w/v) 농도의 용액 2 mL 가하여 5분간 쉬고 30분간 방치후 520

Table 1. Extraction yield and total phenol content of grape seed by various solvents

Solvent	Yield(%)	Total phenol content (%)
Hot water	6.0	14.3
70% acetone	4.0	40.3
70% ethanol	4.3	51.0

Table 2. Proximate composition of GSE

Composition (%)				
Protein	Moisture	Lipid	Ash	Carbohydrate
3.38	2.84	5.50	3.52	29.63

nm에서 측정하였다. 전자공여능은 100-[(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100]로 나타내었다.

통계분석

실험결과는 SPSS package를 사용하여 분산분석한 후 유의적인 차이가 있는 시료에 대해서는 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

용매별 추출물의 추출율 및 폴리페놀 함량

포도씨의 지방을 chloroform으로 추출 제거하고 열을 가한 추출조건에서 열수와 10~99%(v/v)의 에탄올과 아세톤으로 추출하여 동결건조 하였을 때 각 용매조건별로 추출수율과 총 페놀함량이 높았던 추출조건만을 선별하여 Table 1에 나타내었다. Table 1의 결과에서 볼 수 있는 바와 같이 동결건조 추출물의 추출율과 폴리페놀함량은 70%(v/v) 에탄올을 용매로 하여 추출물을 제조하였을 때가 가장 효율적임을 알 수 있었다. 포도씨에는 polyhydroxyflavan-3-ol units의 oligomer와 polymer인 proanthocyanidin으로 정의⁽⁶⁾되는 폴리페놀 화합물이 각종 기능성을 나타내는 유용물질로 보고되고 있다^(7,8). 이러한 폴리페놀화합물의 구조를 간략히 설명하면 녹차의 카테킨류의 구조⁽⁶⁾를 단량체로 볼 때 이와 유사하거나 동일한 화합물의 polymer로 구성되어 있다고 볼 수 있다. 항산화효과에 대한 측면에서 총페놀함량과 항산화 효과와는 밀접한 관계⁽⁹⁾가 있기 때문에 추출율과 폴리페놀 함량이 가장 많은

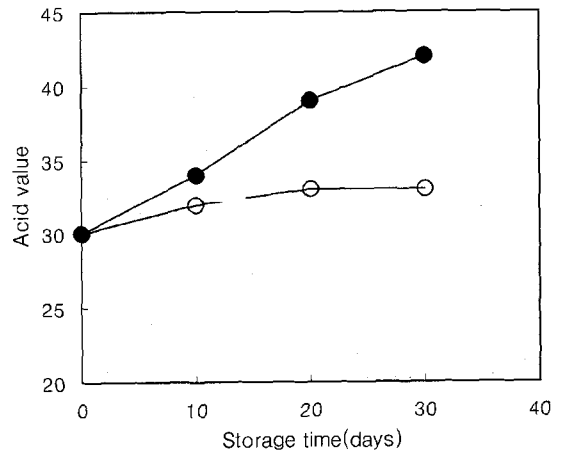


Fig. 1. Changes of the acid value of linoleic acid containing 0.01% grape seed extract (70% ethanol extract) stored at 60°C for 30 days.

○ - ○ : control, ● - ● : linoleic acid emulsion with 0.01% grape seed extract.

70% 에탄올 포도씨 추출물(GSE)을 항산화효과 실험용 시료로 결정하였다.

포도씨 추출물(GSE)의 일반성분

70% 에탄올을 용매로 한 포도씨 추출물(GSE)의 일반성분 함량을 Table 2에 나타내었다. GSE는 섬유질의 함량이 높고 단백질과 지방, 회분은 3% 내외를 함유하고 있었다.

산가

일반적으로 짙겨에 lipase나 lipoxidase가 존재하여 지방의 분해 및 산화에 관여하므로 산가의 급격한 상승이 일어날 것으로 기대되는 정제되지 않은 미강유⁽¹⁷⁾를 기질로 하여 GSE와 비교구로 BHT, α-tocopherol, ascorbic acid, tannic acid, TBHQ를 0.01%(w/v)의 동일 농도로 첨가하여 60°C에서 30일 저장 후 산가를 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 대조구의 산가는 초기 산가 0.2에서 동일한 조건인 60°C에서 30일 저장하였을 때 산가의 변화가 23~24의 범위로 측정되었던 결과⁽¹⁷⁾보다 다소 높은 결과를 얻었다. Table 3의 결과에서 볼 수 있는 바와 같이 미강유에 대해 GSE 첨가군이 가장 산화에 안정하였으며 BHT, α-tocopherol, ascorbic acid,

Table 3. Acid values of crude rice bran oil containing GSE and different antioxidants of 0.01% after 30 days storage at 60°C

Acid values						
Control	GSE	BHT	α-tocopherol	ascorbic acid	tannic acid	TBHQ
52.3 ^f	0.5 ^a	2.3 ^a	29.9 ^b	37.7 ^c	38.3 ^d	45.0 ^e

^{a-f}Mean values (n=3) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 4. Peroxide value (POV) of linoleic acid methyl ester containing GSE and different antioxidants of 0.01%

Peroxide value (POV, meq/kg)				
Control	GSE	BHT	α-tocopherol	ascorbic acid
1220 ^d	55 ^a	104 ^b	952 ^c	71 ^a

^{a-d}Mean values (n=3) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

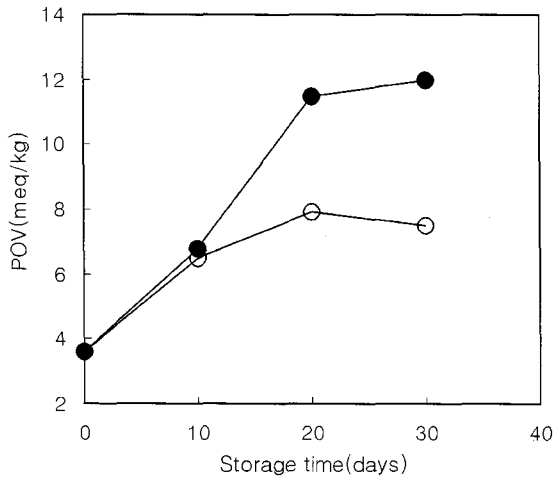


Fig. 2. Changes of the peroxide value of linoleic acid containing 0.01% grape seed extract (70% ethanol extract) stored at 60°C for 30 days.

○ - ○ : control, ● - ● : linoleic acid emulsion with 0.01% grape seed extract.

tannic acid, TBHQ의 순으로 산패 억제효과를 나타내었다. 또한 GSE 0.01%를 첨가하였을 때 동일한 저장조건에서 linoleic acid를 기질로 하여 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. GSE를 첨가하지 않은 linoleic acid는 초기 산가 30에서 저장 30일까지 42로 증가한 반면 GSE 0.01%(w/v)를 첨가한 linoleic acid는 저장 30일 까지 초기 산가를 계속 유지하여 산화에 안정함을 확인할 수 있었다.

과산화물가(POV, peroxide value)

Linoleic acid methyl ester를 기질로 하여 GSE와 비교구로 BHT, α -tocopherol, ascorbic acid의 동일한 첨가농도에 대해 유지의 초기 자동산화정도를 나타내는 지표로서 유지의 이중결합정도에 따라 차이를 나타내는 과산화물가(POV)를 측정된 결과를 Table 4에 나타내었다. Table 4에서 볼 수 있는 바와 같이 첨가된 항산화제들 중 GSE가 가장 강한 항산화 활성을 나타내었다. 사용된 항산화제 중 α -tocopherol의 낮은 항산화효과는 지용성인 비타민이어서 녹이는 용매를 상용적으로 사용되는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹이지 않고 페탄올로 용해시킨 데 따른 결과에 기인된 것으로 추측된다⁽¹⁸⁾.

또한 linoleic acid를 기질로 하여 60°C에서 30일간 저장하면서 GSE가 0.01%(w/v)첨가된 시료의 POV를 측정된 결과를 Fig. 2에 나타내었다. GSE를 첨가하지 않은 시료는 초기 POV 값이 3.8 meq/kg에서 저장 20일 경과 후 POV 11.5 meq/kg의 값을 나타내었고 GSE가 첨가된 시료는 저장 20일 경과 후 7.3 meq/kg의 POV 값을 나타내어 다소 높은 항산화 활성을 보이고 있었다.

TBARS

Linoleic acid methyl ester를 기질로 하여 GSE와 비교구로 BHT, α -tocopherol, ascorbic acid를 동일한 농도로 첨가하여 물을 대조군으로 한 상대적인 산화억제도인 TBARS(%)를 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다 산화억제는 GSE, ascorbic

Table 5. TBARS (%) of linoleic acid methyl ester containing GSE and other antioxidants of 0.01 %

TBARS (%)			
GSE	BHT	α -tocopherol	ascorbic acid
53 ^b	37 ^a	37 ^a	52 ^b

^{ab}Mean values (n=3) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

Table 6. Electron donating ability of GSE and other antioxidants at the concentration of 0.01 %

Electron donating ability(%)			
GSE	BHT	α -tocopherol	ascorbic acid
95.3 ^a	75.0 ^c	96.3 ^{ab}	98.2 ^b

^{abc}Mean values (n=3) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test (p<0.05).

acid, α -tocopherol 및 BHT의 순으로 GSE가 가장 강한 항산화효과를 보임을 알 수 있었다. 콜레스테롤 성분 중 LDL의 산화와 동맥경화증을 억제하는 것으로 알려진 GSE의 유용물질은 폴리페놀^(6,8)이라 할 수 있다. 이러한 페놀성 화합물들은 지방산 산화의 초기 생성물질인 hydroperoxide 및 기타 반응물질과 반응하여 산화를 억제시키는 것으로 보고되어져 있고^(14,19) 또한 페놀성 화합물이 radical 생성 촉진 물질인 metal ion(Fe, Cu)과 쉽게 결합하여 macrophage나 free cells 상태에서 free radical의 형성을 감소시킨다고 알려져 있다^(14,20).

DPPH에 의한 전자공여능

전자공여작용은 활성라디칼에 전자를 공여하며 유지의 자동산화과정 중 생성되는 라디칼에 전자(또는 수소)를 주는 능력으로 이러한 산화성 라디칼을 제거할 수 있는 항산화제는 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고, 인체내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다. GSE와 비교구로 BHT, α -tocopherol, ascorbic acid를 0.01%(w/v)의 동일농도로 하여 DPPH 유리라디칼 소거능을 측정된 결과를 Table 6에 나타내었다. 전자공여능은 BHT가 75%를 보였고 GSE, α -tocopherol, ascorbic acid는 95% 이상의 전자공여능을 나타내었다.

요 약

지방질 식품에 대한 천연항산화제로서 포도씨의 항산화력을 비교하기 위해 용매를 달리하여 추출하고, 그 추출물을 동결건조하여 건조수율, 페놀함량, 일반성분 및 항산화 효과를 측정하였다. 건조수율과 총 페놀함량은 70%(v/v) 에탄올을 용매로 하여 가열조건에서 추출하였을 때 각각 4.3%와 51%로 가장 높은 결과를 나타내었으며 일반성분함량은 섬유질이 가장 높았고 회분과 단백질 및 조지방이 3% 내외로 함유되어 있었다. 70% 에탄올 포도씨 추출물(GSE)과 기존 항산화제인 ascorbic acid, α -tocopherol 및 BHT 들과의 항산화효과를 비교하였을 때 산가, 과산화물가, TBARS에서 GSE가 가장 높은 항산화활성을 보였고 DPPH에서의 전자공여능도 95% 정도의 높은 항산화활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 대산농촌문화재단의 연구비 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

문헌

1. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-14 (1984)
2. Ames, B.N. and Saul, R.L. Oxidative DNA damage, cancer and aging. *Oxygen and human disease. Ann. Inter. Med.* 107: 536-539 (1987)
3. Chancem, B., Sies, H. and Boveris, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605 (1979)
4. Lee, Y.J. and Han, J.P. Antioxidative activities and nitrite scavenging abilities of extracts from *ulmus devidiana*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 893-899 (2000)
5. Branen, A.L. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-63 (1975)
6. Jorge, M. Ricardo, D.S., Jacques, R., Veronique, C., Annie, C. and Michel M. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds. *Phytochemistry* 30: 1259-1264 (1991)
7. Castillo, J., Benavente-Garcfa, O., Lorente, J., Alcaraz, M., Redondo, A., Ortuno, A. and A Del Rio, J. Antioxidant activity and radioprotective effect against chromosomal damage induced *in vivo* by X-rays of flavan-3-ols(procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): Comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1738-1745 (2000)
8. Ariga, T. Antioxidative functions. Preventive action toward disease and utilization of proanthocyanidins. *日本油化学會誌* 48: 1087-1096 (1999)
9. Ra, K.S., Suh, H.J., Chung, S.H. and Son, J.Y. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 595-600 (1997)
10. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, Vol. 2 chapter 32, pp. 1-43 (1995)
11. AOAC. Official Methods of analysis. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA, Vol. 2 chapter 33, p. 54 (1995)
12. Lim, W.Y., Kim, J.S. and Moon, G.S. Antioxidative effect and characteristics of different model melanoidins with same color intensity. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1045-1051 (1997)
13. Yook, H.S., Kim, S.A., Jo, S.K. and Byun, M.W. Effect of gamma irradiation on the antioxidative activity and *in vitro* genotoxicol safety of red ginseng powder. *J. Food Hyg. Safety* 11: 41-50 (1996)
14. Kang, M.H., Park, C.G., Cha, M.S., Seong, N.S., Chung, H.K. and Lee, J.B. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 138-142 (2001)
15. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200 (1958)
16. Park, C.O., Jin, S.H. and Ryu, B.H. Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 850-858 (1996)
17. Shin, D.H. and Chung, J.K. Changes during storage of rice germ oil and its fatty acid composition. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 77-81 (1998)
18. Lim K.T. and Shim J.H. Antioxidative effects of ethanol extracts from *Rhus Verniciflua Stokes* (RVS) on mouse whole brain cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 1248-1254 (1997)
19. Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 7915-7922 (1993)
20. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overviews. *Methods Enzymol.* 186: 1-85 (1990)

(2002년 3월 18일 접수)