

밤꽃(*Castanea Crenata Flos.*) 메탄올 추출물의 항산화 효과

최창숙¹ · 송은승¹ · 김장수^{2,3} · 강명화^{1,2,*}

¹호서대학교 자연과학부, ²호서대학교 벤처전문대학원 첨단기술, ³(주)수진바이오텍

Antioxidative Activities of *Castanea Crenata Flos.* Methanol Extracts

Chang-Suk Choi¹, En-Sung Song¹, Jang-Su Kim^{2,3} and Myung-Hwa Kang^{1,2,*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Hoseo University

²Graduate School of Venture, Hoseo University

³Su-Jin BioTech. Co. LTD

The antioxidative activities of methanol extracts of chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*) were determined in vitro using an experimental model system. Solid yield of chestnut flower extracts was 6.26% and total phenolic acid accounted for about 20% of the crude extract. The DPPH radical scavenging activity of methanol extracts prepared from chestnut flower was 17.22%. Although the DPPH radical scavenging activity of chestnut flower extracts was lower than that of other antioxidants, chestnut flower extracts showed continuous activity by time course. The SOD-like activities of methanol extracts prepared from chestnut flower were 65.10%, 95.70% in BHT, 93.29% in quercetin, and 30.30% in ascorbic acid. Chestnut flower extracts showed 51.45% inhibitory effect on peroxidation of egg yolk lecithin.

Key words: antioxidant, *Castanea Crenata Flos.*, SOD-like, phenolic acid

서 론

최근 노화촉진 및 각종 성인병 발병의 주된 원인으로 활성산소종(reactive oxygen species)과 자유라디칼의 관련성이 밝혀지면서, 생체내 항산화 효소계에 변화를 일으킬 수 있는 천연항산화제의 개발에 관심이 주목되고 있다. 활성산소는 생체막의 인지질을 과산화시키고 자유라디칼의 연쇄반응을 진행시켜 세포노화, 동맥경화, 당뇨병 및 암과 같은 질환이 유발되는 것으로 알려져 있다. 약용식물 중에서 블나무추출물(*Rhus javanica* L.)과 소목추출물(*Caesalpinia sappan* L.)이 팜유 및 돈지의 유도기간을 연장시키는데 효과적이고^(1,2), 황금추출물(*Scutellariae baicalensis*)은 BHA와 비슷한 정도의 항산화 효과가 있는 것으로 보고되었으며⁽³⁾, 솔잎추출물(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)도 α -tocopherol 및 BHA보다 효과가 높은 것으로 나타났다⁽⁴⁾.

밤나무(*Castanea miller*)는 거의 모든 부위에 걸쳐 약리적인 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 밤열매는 栗子라 하여 養胃, 建脾, 補腎, 强筋骨, 活血, 止血의 효능이 있고, 栗樹根은 紅腫牙通에 栗葉은 喉火毒에, 栗花는 下痢, 血便의 치료

효과가 있다⁽⁵⁾. 권 등⁽⁶⁾은 밤 귀피로부터 강한 항산화 효과를 나타내는 gallic acid를 동정하였고, 밤 삽피에는 gallic acid가 존재하여 BHA나 α -tocopherol과 비교해 높은 항산화 활성을 나타내며⁽⁷⁾, 밤 삽피 식이가 혈장과 간의 총지방, 중성지방과 총콜레스테롤 농도를 유의적으로 낮추었다고 보고하였다⁽⁸⁾. 그리고, 밤나무 잎의 메탄올 추출물이 BHA와 항산화 활성이 비슷하였고⁽⁹⁾, 밤꽃의 개화전과 개화후 수꽃을 이용한 용매별 추출물이 *S. aureus*, *E. coli* 및 *S. typhimurium*에 대해 높은 항균활성을 나타내었다⁽¹⁰⁾. 강 등⁽¹¹⁾은 SDE (simultaneous steam distillation)법으로 밤꽃과 밤꽃의 향기성분을 추출하였고, 밤꽃에는 1-phenyl ethyl alcohol을 비롯한 aromatic alcohol이 주요한 성분이며, 밤꽃에는 향기성분 중 지방산류가 63.96%으로 가장 높은 비율을 차지하는 것으로 보고하였다. 또한, 밤꽃에서 얻은 밤꽃 중 페놀화합물, citric acid 함량 및 당과 아미노산의 조성에 대한 연구가 이루어졌다⁽¹²⁻¹⁵⁾.

최근 꽃을 기능성 소재로 개발하려는 연구가 한창 진행되면서, 진달래꽃(*Rhododendron mucronulatum* Turcz)으로부터 α -tocopherol보다 항산화 활성이 높은 p-coumaric acid와 afzelin을 분리하였고^(16,17), 오동나무꽃(*Paulownia coreana* flower)의 메탄올 추출물도 강한 항암활성을 나타내었다⁽¹⁸⁾. 해당화(*Rosa rugosa* Thunb)의 뿌리와 줄기에서 β -carotene과 비타민 C가 다량 추출되었고, 이 부위 추출물에서 높은 항산화 활성을 보였다⁽¹⁹⁾. 또한, 양지꽃(*Potentilla fragarioides*)의 메탄올 추출물로부터 자유라디칼 소거능이 강한 EtOAc, BuOH 그리

*Corresponding author : Myung-Hwa Kang, Hoseo University, 29-1 Sechul-ri, Baebang-myeon, Asan 336-795, Korea
 Tel: 82-41-540-5973
 Fax: 82-41-548-0670
 E-mail: mhkang@office.hoseo.ac.kr

고 H_2O 분획물을 얻었고, 이들 분획물로부터 (+)-catechin, isoquercitrin, quercetin, quercetin-3-O- β -D-glucopyranosyl- β -D-xylopyranoside, caffeic acid, 4-O-caffeooyl-L-threonic acid를 분리하였다⁽²⁰⁾.

따라서, 본 연구에서는 밤꽃을 기능성 소재로써 활용 가능성을 검토하고자 개화 후에 피어난 밤의 수꽃으로부터 메탄올추출물을 제조하였고, 이를 추출물의 항산화 활성 분석을 통해 천연항산화제로써의 개발 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 밤꽃(*Castanea crenata Flos*)은 개화 후 수꽃으로 경기도 양평 일대의 야산에서 채취하여 음건하여 냉장보관(4°C 이하)하면서 시료로 사용하였다.

추출방법

건조된 밤꽃(3%, w/v)을 약 3~4 cm 길이로 절개하여 메탄올을 넣고 24시간 동안 상온에서 침지 시킨 후 filter paper (Watman No. 2)에 여과시켰다. 여과액은 감압농축기로 농축하여 여분의 메탄올을 제거하고, 수율을 측정하였다. 농축액은 항산화 분석 전까지 -70°C에서 냉동보관하면서 각종 분석에 사용하였다.

페놀성 화합물 정량

AOAC의 Folin-Denis법⁽²⁰⁾을 일부 변형하여 비색정량 하였다. DMSO에 녹인 시료 0.2 mL에 Na_2CO_3 (2%, w/v)를 2.0 mL 가하고 2분간 실온에 방치한 후 1 N Folin-Denis 시약을 0.2 mL 가하고 혼합하여 실온에서 30분 정지한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Chlorogenic acid의 농도를 달리하여 조제한 후 표준 곡선을 작성하여 계산하였고, 모든 처리는 3회 반복하였다.

DPPH radical 소거능

각 시료의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자 공여능(electron donating ability)을 측정하였다. 각 시료는 1 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 사용하였고, 각 추출물 0.1 mL에 DPPH 시약 3.4 mL를 가하고 잘 섞은 후 실온에서 30분 방치 후 517 nm에서 시간에 따른 흡광도의 변화를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 각 시료를 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer 3 mL와 0.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 방치 한 후 1 N-HCl로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$SOD\text{-liked activity} (\%) = 100 - [(\text{시료첨가군의 흡광도}/\text{시료무첨가군의 흡광도})] \times 100$

지방산파

일정량의 egg yolk lechitin을 chloroform에 녹인 후 질소 가

스로 용매를 완전히 날리고 일정한 농도의 추출물, 2 mM $FeSO_4$, 2 mM ascorbic acid를 첨가하여 잘 섞은 후 37°C에서 30분간 incubation 한 후 과산화 지질 생성량을 2-thiobarbituric acid reactive-substance(TBARS)법⁽²²⁾에 의하여 측정하였다. 각 추출물의 항산화 효과는 시료대신 DMSO를 첨가하여(control) 비교하였고 계산은 다음과 같이 하였다.

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

A: 시료 무첨가군의 흡광도

B: 시료 첨가군의 흡광도

통계처리

본 연구의 결과는 평균으로 나타내었고 실험군간의 비교분석은 SAS system을 이용하여 ANOVA 분석 후 $\alpha=0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성 검증을 하였다.

결과 및 고찰

추출수율 및 페놀성화합물

밤꽃을 메탄올로 추출하여 수율을 측정한 결과 6.26%였고, 조추출물의 총페놀함량은 0.199 mg/mL(약 20%)였다. 이 등⁽¹⁰⁾의 연구에서도 물, 메탄올 및 에틸 아세테이트를 이용하여 밤꽃을 추출한 결과, 메탄올의 수율이 가장 높았다고 보고했으며, 가장 용이한 추출용매로써 메탄올을 선택하였다. 본 실험에서 동일한 용매인 메탄올을 이용하여 밤꽃을 추출했지만, 냉침법의 경우 환류추출법보다 수율적인 면에서 각각 6.26%와 13.12%로 약 47.7% 낮은 수치를 나타내었다. 오동나무꽃⁽¹⁸⁾의 경우에는 메탄올로 냉침법에 의해 추출했을 때 약 6.13%로 밤꽃의 수율과 비슷하게 나타나, 추출방법에 따라 수율의 차이가 있는 것으로 생각된다. 밤 삽피의 페놀산 조성과 항산화 활성 연구⁽⁷⁾에서는 메탄올 추출물의 경우 수율은 33.35%로 본 연구에 사용된 밤꽃의 메탄올 추출물 보다 높았지만, 페놀성 물질함량은 밤 삽피가 6.56%, 밤꽃은 20%로 높게 나타났다.

DPPH radical 소거능

수소공여능 측정에 사용되는 1,1-diphenyl 2-picryl hydrazyl (DPPH)은 안정한 자유라디칼로서 그것의 홀수 전자에 의해 517 nm 부근에서 흡수 극대를 나타내는데 전자 또는 수소를 받으면 흡광도가 감소하며 다시 산화되며 어려워진다. DPPH 법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인해 환원되어 자색이 틸색되는 정도로 항산화능을 나타내는 것이다. Fig. 1에 밤꽃 메탄올 추출물의 전자공여능을 나타낸 것과 같이 ascorbic acid 55.89%, BHT 43.94%, chlorogenic acid 55.85%, tannic acid 56.43%, quercetin 53.52%, 밤꽃 추출물 17.22%로 기존의 항산화제에 비해 낮은 활성을 나타내었다. 밤 삽피의 메탄올 추출물이 BHA와 α -tocopherol과 비교해서 활성이 높은 것으로 나타났고⁽⁷⁾, 밤잎의 메탄올 추출물의 경우도 BHA와 α -tocopherol과 유사한 활성이 보고되어 있다⁽⁹⁾. 또한, 민들레 잎과 뿌리의 물추출물도 첨가농도가 1 mg/mL 일 때 50% 이상의 DPPH radical 소거능이 나타나 항산화제로의 개

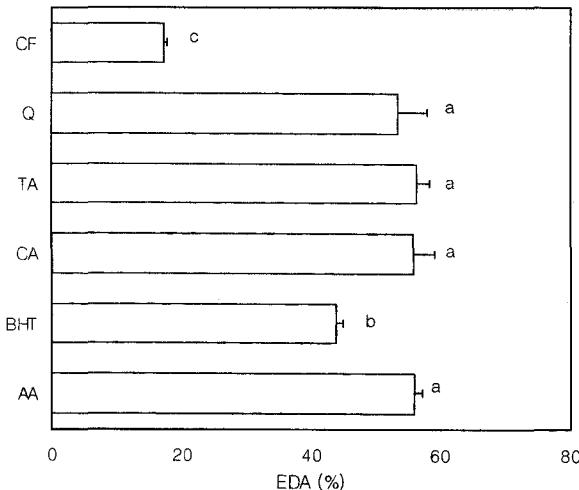


Fig. 1. Electron donating ability (EDA) of chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*) methanol extracts by DPPH assay.

The results are the mean \pm S.D. from three replications.

AA: Ascorbic acid, BHT: Butylated hydroxytoluene, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, Q: Quercetin, CF: Chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*)

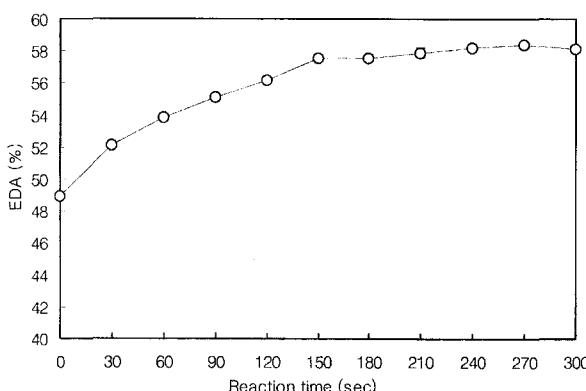


Fig. 2. Electron donating ability (EDA) of chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*) methanol extracts according to time lapse changes.

The results are the mean \pm S.D. from three replications.
○--○ CF: Chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*)

발가능성을 보여주었고⁽²³⁾, Duh와 Yen⁽²⁴⁾의 허브추출물에 대한 항산화연구에서도 국화(*Chrysanthemum morifolium Ramat*)가 69~92% 까지의 높은 활성을 나타내었다. 본 연구결과에서는 밤꽃 메탄올 추출물의 활성이 밤의 다른 부위에 비해 낮은 활성을 나타내었고, 유용식물 자원에 대한 실험결과와 비교해 다소 상반되는 결과를 보였지만, 강 등⁽²⁵⁾의 활나물 에탄올 추출물에 대한 연구보고와는 비슷한 경향을 나타냈다. 활성비교에 있어서는 기존의 항산화제 비해 활성이 낮은 것으로 관찰되었지만, 한국약용 및 식용식물들의 항산화성 식품탐색에 대한 결과에서 포도씨와 음양과를 제외한 나머지 약용식물들의 활성이 20% 이하인 것으로 나타났으며⁽²³⁾, 밤꽃 추출물을 0.3 mL로 반응시켰을 때 기존의 항산화제는 반응 직후 활성이 급격히 떨어지는데 반해 시간경과에 따른 밤꽃 추출물의 지속력이 유지되고 있어 천연항산화제로써의 가능성이 기대된다(Fig. 2). 따라서, 앞으로 높은 지속력 및

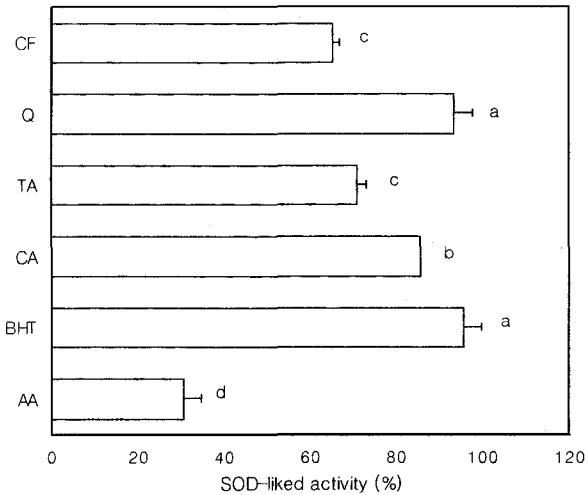


Fig. 3. SOD-like activity of chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*) methanol extracts. Pyrogallol was used as an oxidant.

The results are the mean \pm S.D. from three replications.

AA: Ascorbic acid, BHT: Butylated hydroxytoluene, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, Q: Quercetin, CF: Chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*)

활성을 갖는 농도 결정에 대한 후속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

SOD 유사활성

Pyrogallol은 수용액에서 자동산화가 빠르게 일어나는데 여기에는 superoxide가 관여한다고 알려져 있다. 그러므로 SOD나 SOD유사활성물질이 존재하는 경우 이의 자동산화가 억제될 수 있고, 이 억제되는 정도를 비교하여 실험대상 물질의 효능을 비교하게 된다. 즉, 밤꽃 추출물을 pyrogallol 산화가 일어날 수 있는 수용액에 첨가한 후 superoxide가 관여하는 pyrogallol의 자동산화를 감소시키는 효과를 측정하는 것이다. SOD효소 자체는 아니더라도 SOD의 작용과 미찬가지로 superoxide를 소거하는 역할이 있어 pyrogallol의 산화를 유사활성물질이라고 한다. 분석결과 BHT(95.70%)와 quercetin(93.29%)이 가장 높은 SOD유사활성을 보였고, 밤꽃 추출물 65.10%로 ascorbic acid(30.30%)보다 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 3). 각 부위별 활나물 추출물에 대한 연구결과에서도 부위에 상관없이 기존의 항산화제와 유사한 활성을 지니고 있는 것으로 관찰되었고⁽²⁵⁾, EPR(electron paramagnetic resonance)을 이용한 superoxide anion radical 소거능 측정결과 민들레의 잎과 뿌리 추출물에 대한 활성 비교에서 잎의 물추출물이 superoxide anion radical 제거에 보다 효과적인 것으로 보고되었다⁽²³⁾. 또한, SOD 활성 염색법을 활용한 정 등⁽²⁶⁾의 연구결과에서는 60여종의 약용작물에 대한 항산화검증결과 평균 34.77% 정도의 활성을 나타내었다. 결론적으로 밤꽃 추출물이 50% 이상의 활성을 보이고 있어, 생체 산화에 중요한 역할을 하는 superoxide radical 소거능이 있는 것으로 나타났다.

지방산파

Lecithin을 기질로 하여 지질과산화물 생성 억제 시험에서

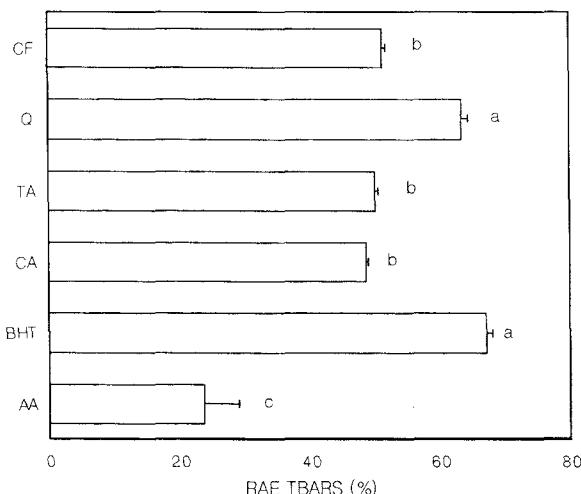


Fig. 4. Relative antioxidative effects (RAE) of chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*) methanol extract on the peroxidation of egg yolk lecithin.

The results are the mean \pm S.D. from three replications.

AA: Ascorbic acid, BHT: Butylated hydroxytoluene, CA: Chlorogenic acid, TA: Tannic acid, Q: Quercetin, CF: Chestnut flower (*Castanea Crenata Flos.*)

는 Fig. 4에 나타낸 것과 같이 ascorbic acid 23.60%, BHT 67.08%, chlorogenic acid 48.76%, tannic acid 50.10%, quercetin 63.46%, 밤꽃 추출물은 51.45%의 지질과산화 억제 효과를 나타냈다. SOD 유사활성과 같이 BHT와 quercetin의 활성이 가장 높았으며, 밤꽃 추출물은 ascorbic acid, chlorogenic acid 그리고 tannic acid 보다 높은 활성을 나타내었다. 김 등⁽⁷⁾의 linoleic acid을 기질로 하여 밤 껌피의 메탄을 조추출물이 지질과산화의 생성억제에 미치는 영향을 연구한 결과에서는 60~70% 정도 억제하였고, 밤 껌피의 메탄을 추출물도 90% 이상의 높은 억제효과를 나타냈다⁽⁶⁾. 그리고, 강 등⁽²³⁾은 linoleic acid를 기질로 했을 때 1.0 mg/mL에서 만들 레 일과 뿌리 추출물이 지방산에 대한 항산화력을 나타내었고, Duh 와 Yen⁽²⁴⁾은 국화(*Chrysanthemum morifolium Ramat*)의 물추출물이 α -tocopherol과 비슷한 정도의 활성을 나타내는 것으로 보고하였다. 또한, 금은화(*Lonicera japonica Thunb*)와 제비꽃(*Viola mandshurica Becker*)의 애탄을 추출물의 경우도 IP(induction period)나 AI(antioxidant index)가 다른 약재와 비교해서 항산화 효과가 우수한 것으로 조사되었다⁽¹⁾. 밤꽃의 폐놀성 물질함량이 높았음에도 불구하고 활성이 낮은 것은 지질과산화물 생성 억제 시험에 사용된 기질에 따른 차이에 기인된 것으로 생각되며, 기존의 항산화제와 유사한 활성을 보이고 있어, 밤꽃 추출물이 지질과산화물 억제효과가 충분히 있는 것으로 판단되었다.

요 약

밤꽃의 항산화효과를 측정하기 위해 밤꽃의 수꽃을 수집하여 메탄올로 추출한 후 추출물의 항산화 효과를 측정하였다. 밤꽃 조추출물의 추출수율은 6.26%였으며, 총 폐놀함량은 0.199 mg/mL인 것으로 나타났다. DPPH법으로 free rad-

ical 소거능을 측정한 결과 밤꽃 추출물이 17.22%로 기존의 항산화제에 비해서는 소거능이 다소 낮은 것으로 측정되었다. SOD 유사활성 측정은 밤꽃 추출물이 65.10%로 BHT (95.70%)와 quercetin(93.29%)에 비해 낮았지만, ascorbic acid(30.30%) 보다는 높은 활성을 나타내었다. Lecithin 산화저해율은 밤꽃 추출물이 51.45%, BHT(67.08%), quercetin (63.46%), ascorbic acid(23.60%), chlorogenic acid(48.76%), tannic acid(50.10%)로 나타났다. 이상의 연구결과 밤꽃 추출물이 DPPH free radical 소거능에서 기존 항산화제에 비해 낮은 활성을 나타냈지만, 시간경과에 따른 활성의 지속성과 50% 이상의 지질과산화 억제효과가 있어 천연항산화제로서의 가능성이 충분히 있는 것으로 추정된다.

문 헌

1. Choi, U., Shin, D.H., Chang, Y.S. and Shin, J.I. Screening of natural antioxidant from plant and antioxidative effect. Korean J. Food Sci. Technol. 24: 142-148 (1992)
2. Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. Antioxidative activity of ethanol extract from korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 83-89 (1996)
3. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee, B.Y. Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 80-85 (1995)
4. Cha, B.C., Lee, S.K., Lee, H.W. and Lee, E. Antioxidative effect of domestic plants. Korean J. Pharmacogn. 28: 15-20 (1997)
5. Hirokawa, S. *Tennen Yakuishyo*. Hirokawa Shyoten, Tokyo, Japan (1986)
6. Kwon, E.J., Kim, Y.C., Kwon, M.S., Kim, C.S., Kang, W.W., Lee, J.B. and Chung, S.K. Antioxidative activity of solvent fraction and isolation of antioxidative compound from chesnut husk. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 726-731 (2001)
7. Kim, Y.C., Kim, M.Y. and Chung, S.K. Phenolic acid composition and antioxidative activity of chestnut endoderm. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 45: 162-167 (2002)
8. Yook, G.J., Lee, H.J. and Kim, M.K. Effect of chesnuts and acorn on lipid metabolism, antioxidative capacity and antithrombotic capacity in rats. Korean Nutr. 35: 171-182 (2002)
9. Choi, Y.H., Kim, J.H., Kim, M.J., Han, S.S. and Rim, Y.S. Antioxidative compounds in leaves of *Castanea crenata* S. et Z. Korean J. Med. Crop Sci. 8: 373-377 (2000)
10. Lee, Y.S., Seo, K.I. and Shin, K.H. Antimicrobial activities of chestnut flower extracts (*Castanea crenata*). Korean J. Postharvest Sci. Technol. 6: 104-109 (1999)
11. Kang, K.H. Volatile flavor components of chestnut honey produced in Korea. Agri. Chem. Biotechnol. 41: 84-88 (1998)
12. Amito, M.J., Aubert, S., Connet, M. and Tacchini, M. The phenolic compounds in honeys preliminary study on identification and family quantification. Lab. De biochimie metabolique et technologie station de technologie des produits vegetaux apidologie. 20: 115-126 (1989)
13. Talpay, B. The ingredients of honey citric acid(citrate). Dtsch. Lebensm-Rundsch. 84: 41-44 (1988)
14. Battaglini, M.B. Sugar composition of some uniflora honey and the nectars they are derived from. Apic. Abstn. 25: 123-129 (1974)
15. Kullmann, E. Qualitative determination of free amino acids in some honey dew honeys mixed honey and honeys from flowers. Apidologie. 5: 21-38 (1974)
16. Jong, T.Y., Kim, M.A. and Jones, A.D. Antioxidative activity of phenolic acids isolated from jindalrae flower (*Rhododendron mucronulatum* Turcz.). Agri. Chem. Biotechnol. 39: 506-511 (1996)
17. Jong, T.Y., Kim, M.A. and Jones, A.D. Antioxidative activity of

- flavonoids isolated from jindalrae flower (*Rhododendron mucronulatum* Turez.). Agri. Chem. Biotechnol. 39: 320-326 (1996)
18. Oh, J.S., Moon, H.I. and Zee, O.P. Cytotoxic compounds from the flowers of *paulownia coreana*. Korean J. Pharmacogn. 31: 449-454 (2000)
19. Kim, M.J., Kim, J.S., Kim, K.E., Shin, K.H., Heo, K., Cho, D.H., Park, C.H. and Yu, C.Y. Comparison of antioxidative activities from different organs of *rosa rugosa thunb.* Korean J. Med. Crop Sci. 9: 40-44 (2001)
20. Choi, Y.H., Kim, M.J., Lee, H.S., Yun, B.S., Hu, C. and Kwak, S.S. Antioxidative compounds in aerial parts of *potentilla fragarioides*. Korean J. Pharmacogn. 29: 79-85 (1998)
21. AOAC. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1984)
22. Buege, J.A. and Aust, S.D. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52: 302-306 (1978)
23. Kang, M.J., Shin, S.R. and Kim, K.S. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion (*Taraxacum officinale*). Korean J. Food Preser. 9: 253-259 (2002)
24. Dun, P.D. and Yen, G.C. Antioxidative activity of three herbal water extracts. Food Chem. 60: 639-645 (1997)
25. Kang, M.H., Choe, C.S., Kim, J.S., Chung, H.K., Min, K.S., Park, C.G. and Park, H.W. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 1098-1102 (2002)
26. Chung, I.M., Kim, K.H. and Ahn, J.K. Screening of Korean medicinal and food plants with antioxidant activity. Korean J. Med. Crop Sci. 6: 311-322 (1998)

(2003년 8월 14일 접수; 2003년 10월 1일 채택)