

## 채소류 메탄올 추출물의 *In Vitro*와 Cell System에서의 항산화능 비교

이영아<sup>1</sup> · 김현영<sup>2</sup> · 조은주<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>부산대학교 식품영양학과

<sup>2</sup>서울대학교 약학과

## Comparison of Methanol Extracts from Vegetables on Antioxidative Effect under *In Vitro* and Cell System

Young A Lee<sup>1</sup>, Hyun Young Kim<sup>2</sup> and Eun Ju Cho<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

### Abstract

The comparison on antioxidative activity of 13 kinds of vegetables that showed efficient oxygen radical absorbance capacity was carried out under *in vitro* and cellular model using LLC-PK<sub>1</sub> renal epithelial cell, and also the total phenol contents were analyzed. Beets, eggplant, and kale exerted the strong 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging effect and also these vegetables showed high contents of total phenol, indicating the positive relationship between DPPH radical scavenging effect and total phenol content. In addition, the treatment of 1 mM 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride for 24 hrs to LLC-PK<sub>1</sub> cell susceptible to oxidative stress led to the decline of cell viability to 68.1%, whereas the cellular oxidative damage was ameliorated by vegetables, especially eggplant and cauliflower, resulting in the elevation of cell viability to higher than 90% at the concentration of 5 µg/mL. This study suggests that 13 kinds of vegetables exert antioxidative activity under *in vitro* and cellular oxidative damage model, in particular among them eggplant showed the most effective antioxidative activity with higher total phenol content.

**Key words:** antioxidative activity, vegetable, DPPH, LLC-PK<sub>1</sub> cell

### 서 론

활성 산소의 생성과 항산화 방어 시스템 간의 불균형으로 인한 oxidative stress 증가는 암과 심혈관 질환 및 알츠하이머와 같은 만성 질환의 병리학적 진행과 노화과정에 있어 중요한 원인으로 생각되어지고 있으며, 이러한 과정의 활성 산소를 제거하거나 불활성화 하는 것은 항산화 방어 시스템에 대해서 이루어지게 된다(1-3). 항산화 방어 시스템으로는 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase와 같은 효소에 의한 항산화 시스템과 vitamin C나 vitamin E, β-carotene 등과 같은 항산화제에 의해 free radical을 소거시키는 비효소적 항산화 시스템을 들 수 있다(4,5).

이와 같은 항산화 방어 체계에도 불구하고 과정의 활성 산소 생성으로 인한 산화적 스트레스 상황에서는 효소적 항산화 방어 체계의 활성 감소나 plasma에서의 항산화제 농도 감소 등이 나타나게 된다(6,7). 따라서 이러한 효소적인 항산화 체계의 활성을 증가시키거나 직접적으로 활성 산소를 제거할 수 있는 항산화제에 대한 관심이 높아지게 되었고, 현

재 α-lipoic acid, coenzyme Q<sub>10</sub>, glutathione 등과 같이 인체 내 세포적 수준에서 생성되는 항산화제나 vitamin C나 vitamin E 등과 같이 인체내에서 생성되지 않아 식품으로 섭취해야 하는 다양한 항산화제에 대한 연구가 이루어지고 있다(8). 그러나 합성 항산화제의 경우 자체의 독성 뿐 아니라 고농도 섭취에 따른 유해성이 문제로 되고 있으며, 또한 보충제보다 식품을 통해 섭취하는 천연 항산화제가 더 효과적인 것으로 여겨지면서 식품을 통해 섭취할 수 있는 천연 항산화제에 대한 연구에 많은 관심이 집중되고 있다.

이 중 채소류는 vitamin C, E 뿐만 아니라 carotenoids, lycopene, flavonoids와 phenolic compounds 등의 다양한 천연 항산화제가 함유되어 있어 그 섭취량의 증가는 산화적 스트레스에 의한 만성 퇴행성 질환의 위험을 감소시킬 수 있는 것으로 보고되고 있으나(9,10), 실제로 이들 채소류의 항산화 활성의 비교에 대한 연구는 미흡한 실정이다. Kuhn의 보고에 의하면 채소류의 oxygen radical absorbance capacity(ORAC)가 가장 우수한 것으로 캐일, 비트, 옥수수, 시금치 등을 들고 있으며 이들 채소류가 free radical에 의한

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: ejcho@pusan.ac.kr  
Phone: 82-51-510-2837, Fax: 82-51-583-3648

산화적 손상으로부터 보호하는 항산화능이 우수할 것으로 보고한 바 있다(11). 또 Cao 등은 케일, 시금치, 알팔파, 브로콜리, 비트, 흥피망, 가지, 컬리플라워와 양배추 등을 포함한 22가지 채소류의 peroxy radical과 hydroxy radical의 소거 능을 비교한 결과, 케일, 시금치, 알팔파와 브로콜리 등의 효과가 우수한 것으로 보고하였다(12). 반면, 국내에서는 이러한 채소류의 free radical에 의한 산화적 손상에 대한 보호 및 항산화 효과에 대한 연구보고는 거의 행해지지 않은 실정으로, 한국에서 상용하는 채소류 중 깻잎, 돌나물, 돌미나리, 부추, 시금치, 쭈갓과 참취의 항산화능 및 항돌연변이 효과에 대한 검토결과, 돌나물, 돌미나리가 항산화 효과가 우수하고, 또한 돌미나리, 깻잎, 부추, 쭈갓이 항돌연변이가 우수한 것으로 보고한 바 있다(13). 또한 Park 등(14)은 26종류의 녹황색 채소 중 돌깻잎, 배추, 케일 등의 우수한 항돌연변이 및 항암효과를 보고한 바 있다. 그러나 채소류의 종류에 따른 라디칼 소거능의 비교 연구와 아울러 세포실험에서의 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 phenol 함량과 연관시킨 연구는 행해지지 않은 실정이다.

이에 본 연구에서는 먼저 야채류를 선정하기 위하여 과일이나 야채의 oxygen radical 흡수용량을 측정하여 free radical에 의한 손상을 줄이는 산화방지 능력을 나타내는 지표로서 ORAC를 중요한 지표로 사용하고 있는데, Kuhn(11)과 Cao 등(12)의 연구결과를 토대로 ORAC 결과 항산화능이 우수한 채소류 13종류를 선정하여 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) 소거능을 관찰하고 이들의 phenol 함량을 분석하였다. 또한 산화적 손상을 받기 쉬운 세포로 화립된 LLC-PK<sub>1</sub> 신장 상피 세포를 이용한 생물학적 체계에서 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride(AAPH)에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 개선효과를 살펴봄으로써 채소류의 free radical 생성에 의한 산화적 스트레스의 개선 효과를 *in vitro*와 세포실험 모델을 통해 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 실험장치

Folin-Ciocalteu's phenol reagent와 chlorogenic acid는 Junsei chemical Co., Ltd.(Kyoto, Japan)와 Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 각각 구입하여 사용하였으며, DPPH와 AAPH는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide(MTT)은 Amresco(Solon, Ohio, USA)에서 구입하여 사용하였다. LLC-PK<sub>1</sub> cell(porcine renal epithelial cell)은 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 분양받아 사용하였으며, Dulbecco's modified Eagle medium/nutrient mixture F-12(DMEM/F-12)와 fetal bovine serum(FBS)은 Invitrogen Co.(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였고, methanol, dimethylsulfoxide(DMSO)

등은 일제 특급시약을 사용하였다.

### 실험 재료

ORAC 시험결과 산화방지 능력이 뛰어나다고 보고되어진 13가지 채소류로서(11,12), 케일(*Brassica oleracea L. var. acephala Alef. D.C.*), 시금치(*Spinacia oleracea L.*), 알팔파 스프라우트(*Medicago sativa L.*), 브로콜리(*Brassica oleracea var. italica*), 비트(*Beta vulgaris var. conditiva Alef.*), 흥피망(*Capsicum annuum var. angulosum Mill.*), 양파(*Allium cepa L.*), 가지(*Solanum melongena L.*), 컬리플라워(*Brassica oleracea var. botrytis L.*), 감자(*Solanum tuberosum*), 고구마(*Ipomoea Batatas*), 양배추(*Brassica oleracea L. var. capitata L.*), 당근(*Daucus carota L. var. sativa D.C.*)은 부산 동래시장에서 구입하여 세정, 동결 전조하여 실험 전까지 -80°C에서 냉동 보관하였다.

### 시료의 제조

시료의 메탄올 추출물을 전조시료 일정량에 20배의 95% 메탄올을 가하여 실온에서 12시간 동안 추출한 후 여과하는 과정을 3회 반복하였다. 이때 얻은 메탄올 추출물은 회전감압 농축기로 농축한 후 동결 전조하여 실험 전까지 -80°C에서 냉동 보관하였다.

### 총 phenol 함량 측정

총 phenol 함량은 Vinson 등(15)의 방법을 이용하였으며, 전조한 샘플을 50% methanol과 1.2 M HCl 용액에 혼합하여 90°C에서 2시간 가열추출한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 수집한 추출액은 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다. 추출액 100 μL를 취하여 methanol에 희석하여 Folin-ciocalteu reagent와 20% sodium carbonate와 혼합하여 23°C에서 1시간 incubation한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선은 chlorogenic acid를 농도별로 조제하여 사용하였다.

### DPPH 라디칼 소거능

Ethanol에 녹인 각 농도별 시료 100 μL와 60 μM DPPH 용액 100 μL를 96-well plate에 주입하여 혼합해서 30분간 실온에 방치한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(16). 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 소거효과를 백분율과 IC<sub>50</sub>(DPPH radical 생성을 50%까지 억제하는데 필요로 하는 샘플 농도)로 나타내었다.

### 세포배양

LLC-PK<sub>1</sub> cell은 DMEM/F-12가 함유된 5% FBS를 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 만에 phosphate

buffered saline으로 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA로 2차 배양한 후, 부착된 세포를 분리하여 원심분리해서 집적된 세포를 배지에 넣고 퍼펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 6~7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양시 각각의 passage number를 기록하여 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 세포를 다시 배양하여 실험하였다.

LLC-PK<sub>1</sub> cell을 이용한 산화적 스트레스 개선효과 검토 세포가 confluence 상태가 되면 96-well plate에 well당 10<sup>4</sup> cells/mL로 seeding하여 2시간 후 1 mM AAPH를 처리하였다. 그 후 시료를 농도별로 처리하여 24시간 동안 동일한 조건에서 배양한 후, 50 μL MTT(1 mg/mL) solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 4시간 재배양하였다. Medium에서 MTT solution을 제거하고 formazan 결정을 100 μL DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다(17).

#### 통계분석

실험 결과는 평균±표준편차(n=5)로 나타내었고, 대조군과 실험군의 실험 결과는 one way ANOVA로 검증한 후 Duncan's multiple range test로 유의수준  $\alpha=0.05$ 에서 유의성을 검증하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 총 phenol 함량 측정

식물에는 다양한 phenol성 또는 polyphenol성 화합물들이 shikimate, mevalonate 그리고 phenylpropanoid pathway를 통한 2차 생성물로 생성되어 단당류나 이당류와 결합하거나 다당류, 지질, 아민등과 복합체를 형성하여 다양한 구조나 양으로 존재하게 된다. 이러한 phenol성 화합물은  $\mu$ -electron system 주위의 delocalization에 의한 unpaired electron을 지원하고, 또한 aromatic hydroxyl group에서 활성 산소로 hydrogen 원자를 쉽게 내어줌으로써 항산화능을 나타내는데 중요한 요인이다(18). 본 실험에서 사용한 13가지 채소류의 총 phenol 함량은 chlorogenic acid를 표준으로 하여 나타내었을 때 Fig. 1과 같이 나타났으며, 케일이 100.68 μg/mL으로 가장 함량이 높고, 다음으로 알팔파 스프라우트(alfalfa sprout), 가지, 브로콜리에서 총 phenol 함량이 높은 것으로 나타났으며, 당근, 고구마, 감자 등에서는 상대적으로 총 phenol 함량이 낮은 것으로 나타났다. 비트(뿌리), 가지, 흥미망에는 phenol성 화합물의 aglycon으로 붉은색의 anthocyanin이 함유되어 있으며, 당근, 고구마, 감자 등의 뿌리 채소류는 cinnamic acid, chlorogenic acid 등의 simple polyphenol이 함유되어 있고, 브로콜리, 양배추, 시금치 등의 잎 채소류에는 glycoside form으로 flavones이나 flavonols 등이 함유되어 있다고 보고되고 있으며, 이러한 다양한 aglycon들의 폐놀성 hydroxyl기의 수나 산도, 전자 친화도

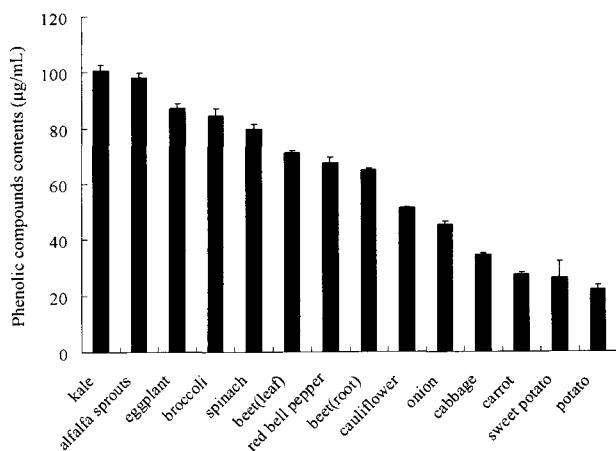


Fig. 1. Total phenol contents of vegetables.

The values were expressed as μg of the chlorogenic acid equivalent per mL of sample solution.

의 차이는 phenol성 화합물들의 항산화성에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(19,20). 그러나 총 phenol 함량을 조사함으로써 채소류의 항산화 기능성을 미리 예측해 볼 수 있어 많은 연구에서 Folin-Ciocalteu assay와 항산화능간의 상관관계를 밝히는 실험이 실시되고 있으며(16,21-23), 본 실험에서도 총 phenol 함량 측정을 통해 케일, 가지, 브로콜리, 비트 등의 항산화성이 우수할 것으로 예상되어졌다. 한편 알팔파 스프라우트(alfalfa sprout)는 98.07 μg/mL의 높은 총 phenol 함량을 가진 싹 채소로 이러한 싹 채소는 성숙한 채소에 비해 양질의 단백질 뿐 아니라 불포화 지방산이나 비타민 등의 함량이 높아, 이들의 영양학적 가치 뿐 아니라 인체에서의 활성에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

##### DPPH 라디칼 소거능

항산화제는 활성 산소를 제거하는 생물 의학적 반응을 촉매하지만 이러한 반응으로 인한 변화나 손상을 주지는 않으며 유해한 활성 산소를 이동시키거나 안정적인 상태로 만드는데, 식품에서는 vitamin이나 mineral, flavonoid, polyphenol 등이 이러한 항산화능을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다(8). 본 연구에서는 항산화제의 활성 정도를 측정하기 위해 DPPH radical을 직접적으로 제거함으로써 항산화제의 산화 가능한 기를 흡광도의 감소 정도로 적정해내는 DPPH system을 사용하였다. 본 실험에서는 13가지 채소류의 DPPH 라디칼 소거 효과를 Table 1에 나타내었으며 그 결과를 IC<sub>50</sub>로 살펴보면, 비트(잎)이 36.98 μg/mL으로 가장 우수한 라디칼 소거능을 나타냈으며, 그 다음으로 가지, 비트(뿌리), 케일 등에서 라디칼 소거능이 높은 것으로 나타났으며, 당근, 양파에서 라디칼 소거능이 가장 낮은 것으로 나타났다. DPPH 라디칼은 안정적이며, 간단하고, 재현성이 높아 널리 사용되는 라디칼 소거능 측정 방법으로 hydrogen 원자를 공여하는 성향에 있어 polyphenol 성분을 측정하는 Folin-Ciocalteu assay와 상관성이 높다. 본 연구에서는

**Table 1.** DPPH radical scavenging activity of MeOH extracts from vegetables

Material	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
Beets (leaf)	36.98±1.09 <sup>1)a2)</sup>
Eggplant	40.33±0.67 <sup>a</sup>
Beets (root)	47.33±0.42 <sup>a</sup>
Kale	65.98±1.78 <sup>a</sup>
Sweet potato	100.82±6.59 <sup>b</sup>
Red bell pepper	107.23±4.35 <sup>b</sup>
Potato	183.83±7.58 <sup>c</sup>
Broccoli flower	199.06±6.93 <sup>c</sup>
Cauliflower	458.03±20.04 <sup>d</sup>
Spinach	474.89±19.08 <sup>d</sup>
Cabbage	653.29±56.52 <sup>e</sup>
Alfalfa sprout	718.30±18.30 <sup>e</sup>
Carrot	>1000
Onion	>1000
Ascorbic acid	0.92±0.03

The solvent used in this experiment is 50% EtOH solution. IC<sub>50</sub> is concentration in μg/mL required to inhibit DPPH radical formation by 50%.

<sup>1)</sup>Values are mean±SD (n=5).

<sup>2)</sup>Means with the different letters are significantly different ( $\alpha=0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

DPPH 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타난 채소류는 Fig. 1에서 제시한 총 phenol 함량 또한 높아 이들 사이의 양의 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 반면, 알팔파 스프라우트(alfalfa sprout), 시금치에서는 phenol 함량은 높은 것에

비해 DPPH 라디칼 소거능은 그다지 우수하지 못했다.

#### LLC-PK<sub>1</sub> cell을 이용한 산화적 스트레스 개선효과

LLC-PK<sub>1</sub> 세포는 nephron에서 유도된 MDCK보다 산화적 스트레스에 더 민감하며, oxidant에 의한 sodium-dependent glucose와 phosphate transport의 간섭으로 인해 ion gradient를 붕괴시키고 이로 인해 ATP 결핍과 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase의 불활성화를 유도하며 세포손상을 유도하는 것으로 보고되고 있으며, 특히 초기 cytotoxicity에 있어서는 lipid peroxidation이 중요한 요인으로 생각되어지고 있다(24,25). 이처럼 산화적 스트레스에 민감한 LLC-PK<sub>1</sub> cell에 radical generator인 AAPH를 처리하여 산화적 스트레스를 가하고 이에 대한 개선효과를 비교해 볼 수 있다.

Free radical generator로 사용된 AAPH는 다른 효소의 작용이나 생리적 변화 없이 단분자적으로 변성이 되며, 이렇게 변성된 AAPH는 두 carbon radical과 질소로 분해되고 이 carbon radical은 다른 carbon radical과 다시 결합하여 안정적인 구조를 취하기도 하지만 대부분은 산소와 반응하여 peroxy radical을 생성하게 되어 protein, lipid 또는 cell에 산화적 스트레스를 주는 요인으로 작용을 하게 된다(26). 따라서 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 radical generator인 AAPH 처리를 함으로써 채소류의 산화적 스트레스에 대한 개선효과를 알 수 있으며 Table 2에서 그 결과를 살펴보면, 1 mM AAPH를

**Table 2.** Effect of MeOH extracts from vegetables on viability of LLC-PK<sub>1</sub> cells treated with AAPH

Treatment (μg/mL)	Cell viability (%)	Treatment (μg/mL)	Cell viability (%)
AAPH-treated control	68.1±1.0	AAPH-treated control	68.1±1.0
Kale	5	5	78.0±3.7 <sup>a</sup>
	25	25	76.9±1.4 <sup>a</sup>
	50	50	81.1±1.7 <sup>a</sup>
Alfalfa sprouts	5	5	94.1±0.7 <sup>a</sup>
	25	25	95.3±7.4 <sup>a</sup>
	50	50	95.9±3.0 <sup>a</sup>
Eggplant	5	5	74.5±1.7 <sup>a</sup>
	25	25	76.7±4.4 <sup>a</sup>
	50	50	79.4±5.3 <sup>a</sup>
Broccoli flower	5	5	75.2±2.4 <sup>a</sup>
	25	25	74.0±0.8 <sup>a</sup>
	50	50	76.1±0.7 <sup>a</sup>
Spinach	5	5	68.1±3.6 <sup>b</sup>
	25	25	70.7±4.2 <sup>b</sup>
	50	50	81.2±3.3 <sup>a</sup>
Beets (leaf)	5	5	77.0±1.4 <sup>a</sup>
	25	25	76.8±1.7 <sup>a</sup>
	50	50	78.2±3.4 <sup>a</sup>
Red bell pepper	5	5	78.5±2.9 <sup>a</sup>
	25	25	78.9±0.9 <sup>a</sup>
	50	50	78.3±2.8 <sup>a</sup>
Normal	100.0±1.2	Normal	100.0±1.2

<sup>1)</sup>Values are mean±SD (n=5).

<sup>2)</sup>Means with the different letters are significantly different ( $\alpha=0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

24시간 처리한 대조군의 세포 생존율은 68.1%였으나 각 채소류를 처리함으로써 세포 생존율이 점차 상승하여 가지와 컬리플라워는 저농도인 5 µg/mL에서도 90% 이상의 세포 생존율을 보여 가장 우수한 산화적 스트레스 개선 효과를 가진 것으로 나타났으며, 그 다음으로 비트(뿌리), 당근 등의 산화적 스트레스 개선효과가 높은 것으로 나타났다. 특히 가지는 앞서 제시한 결과에서 알 수 있듯이 총 phenol 함량도 높을 뿐 아니라, DPPH 라디칼 소거능과 세포모델에서의 산화적 스트레스에 대한 개선효과가 뛰어나 우수한 항산화 기능성을 지닌 채소류로 사료된다. 반면 컬리플라워는 총 phenol 함량은 그다지 높지 않고, DPPH 라디칼 소거능도 뛰어나지 못했으나, AAPH에 의한 세포의 손상에 대한 보호 효과는 우수한 것으로 나타났다. 이 결과를 미루어 가지와 컬리플라워는 우수한 항산화 기능성을 지닌 채소류로서 이용가능성이 높을 것으로 사료된다.

## 요 약

채소류의 산화방지 지표로서 ORAC 측정결과 산화방지 능력이 우수하다고 보고되어진 13가지 채소류를 선정하여 DPPH 라디칼 소거능을 관찰하고 이들의 phenol 함량을 분석한 결과, 비트, 가지, 케일의 DPPH 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났으며, 이들은 총 phenol 함량 또한 높아 이들 사이의 양의 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 반면, 알팔파 스프라우트(alfalfa sprout), 브로콜리, 시금치 등에서는 phenol 함량은 높은 것에 비해 DPPH 라디칼 소거능은 그다지 우수하지 못했다. 또한 세포모델에서 LLC-PK<sub>1</sub> 세포에 radical generator인 AAPH 처리를 함으로써 채소류의 산화적 스트레스에 대한 개선효과 살펴본 결과, 가지와 컬리플라워가 높은 세포 생존율을 보여 가장 우수한 산화적 스트레스 개선 효과를 가진 것으로 나타났으며, 그 다음으로 비트, 당근 등의 산화적 스트레스 개선효과가 높은 것으로 나타났다. 특히 가지는 총 phenol 함량도 높을 뿐 아니라, DPPH 라디칼 소거능과 세포모델에서의 산화적 스트레스에 대한 개선효과도 뛰어나 우수한 항산화기능성을 지닌 채소류로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2004-003-F00044).

## 문 헌

- Bokov A, Chaudhuri A, Richardson A. 2004. The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech Ageing Dev* 125: 811-826.
- Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L,

- Novembrino N, De Franceschi M, Belardinelli R, Guazzi MD. 2001. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem* 47: 887-892.
- Gibson GE, Huang HM. 2005. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 26: 575-578.
- Nuttall SL, Kendall MJ, Martin U. 1999. Antioxidant therapy for the prevention of cardiovascular disease. *QJM* 92: 239-244.
- Peng J, Jones GL, Watson K. 2000. Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. *Free Radic Biol Med* 28: 1598-1606.
- Redon J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves V, Iradi A, Saez J. 2003. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension* 41: 1096-1101.
- Sanchez-Moreno C, Dashe JF, Scott T, Thaler D, Folstein MF, Martin A. 2004. Decreased levels of plasma vitamin C and increased concentrations of inflammatory and oxidative stress markers after stroke. *Stroke* 35: 163-168.
- Merrily A. 2003. Oxygen free radicals antioxidants. *Am J Nutr* 103: 58-62.
- Joshiipura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, Colditz G, Ascherio A, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC. 2001. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 134: 1106-1114.
- Steinmetz KA, Poter JD. 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc* 96: 1027-1039.
- Kuhn MA. 2003. Oxygen free radicals antioxidants: An overview of how antioxidants protect the body from disease. *Am J Nutr* 103: 58-62.
- Cao G, Sofic E, Prior RL. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric Food Chem* 44: 3426-3431.
- Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1344-1350.
- Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
- Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem* 46: 3630-3634.
- Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Meth* 65: 55-63.
- Duthie G, Crozier A. 2000. Plant-derived phenolic antioxidants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 3: 447-451.
- Martins HF, Leal JP, Fernandez MT, Lopes VH, Cordeiro MN. 2004. Toward the prediction of the activity of antioxidants: experimental and theoretical study of the gas-phase acidities of flavonoids. *J Am Soc Mass Spectrom* 15: 848-861.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
- Kaur C, Kapoor HC. 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int J Food Sci*

- Technol* 37: 153-161.
22. Katsume T, Tabata H, Ohta Y, Yamasaki Y, Anuurad E, Shiwaku K, Yamane Y. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. *J Agric Food Chem* 52: 2391-2396.
23. Kakkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 47: 3954-3962.
24. Andreoli SP, Mallett CP. 1997. Disassociation of oxidant-induced ATP depletion and DNA damage from early cytotoxicity in LLC-PK<sub>1</sub> cells. *Am J Physiol* 272: F729-F735.
25. Andreoli SP, McAtee JA, Seifert SA, Kempson SA. 1993. Oxidant-induced alterations in glucose and phosphate transport in LLC-PK<sub>1</sub> cells: mechanisms of injury. *Am J Physiol* 265: F377-F384.
26. Niki E. 1990. Free radical initiators as source of water- or lipid-soluble peroxy radicals. *Meth Enzymol* 186: 100-108.

(2005년 7월 6일 접수; 2005년 8월 9일 채택)