

모과 에탄올 추출물의 항산화 효과

이유미 · 신형덕 · 이재준 · 이명렬[†]
조선대학교 식품영양학과

Antioxidative Effect of *Chaenomeles Fructus* Ethanol Extract

Yu-Mi Lee, Hyoung-Duck Shin, Jae-Joon Lee and Myung-Yul Lee[†]
Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antioxidant effect of 80% (v/v) ethanol extracts from *Chaenomeles Fructus* (CF). Total flavonoids and total polyphenols in the extract were also measured spectrophotometrically. The extraction yield was 9.23 g/100 g CF. The extract was further fractionated by partition with n-hexane, chloroform, ethylacetate, butanol, and water. The water fraction showed the highest extraction yield of all fractions. The n-hexane fraction was highest in flavonoids and polyphenols. Antioxidative activities of different fractions were examined by 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical generation, the Rancimat test, and the thiobarbituric acid (TBA) method, and compared with the properties of the commercial antioxidant BHT. The activities of the n-hexane fraction were the highest of all fractions. In addition, there was strong positive correlation between antioxidant activities and levels of antioxidative compounds, such as flavonoid and polyphenols, in CF fractions, suggesting that these antioxidative compounds may contribute to the antioxidative effect of CF.

Key words : antioxidant activity, *Chaenomeles Fructus* (CF), polyphenol

서 론

최근 우리나라는 지속적인 경제성장으로 식생활 패턴이 빠르게 바뀌면서 노화, 뇌혈관 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등 각종 만성 퇴행성 질환이 증가하는 추세이며 이로 인한 사망률도 점차 증가하고 있다(1,2). 따라서 건강에 대한 관심이 고조되고 있으며 이와같은 만성질환의 직접적인 원인이 활성산소 및 지질과산화물 생성 과다로 알려지면서 이를 감소시키기 위한 항산화물질에 대한 연구가 활발히 진행 중이다(3). 항산화제는 크게 천연 항산화제와 합성 항산화제로 나누는데, 천연 항산화제로는 식품의 가공 또는 저장 중 발생하는 산화를 방지하기 위하여 가장 많이 사용되는 vitamin E(tocopherol)가 있는데, 이 물질은 안정성은 높으나 단독으로는 산화반응 저지능이 낮으며(4) 가격이 비싸다는 단점이 있다. 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole

(BHA)와 butylated hydroxytoluene (BHT)는 효과는 우수하나 이들 페놀계 합성 항산화제의 안정성에 대하여 논란이 제기되어 소비자들의 거부반응으로 인하여 그 사용이 감소되고 있는 추세이다(5-7). 이러한 문제점이 제기되면서 천연으로부터 항산화물질을 찾고자 많은 연구가 진행되고 있다(8,9).

모과(*Chaenomeles Fructus*)는 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne)의 성숙과실로 중국이 원산지이고 고려 이전에 들어와 재배되고 있는 장미과에 속한 원형 또는 타원형의 과실이며 9월에 황색으로 익고 향기가 좋다(10).

모과의 효능으로는 감기나 기관지염의 기침, 가래의 완화제로 많이 알려져 있고 특히 루머티즘, 폐렴 등에 좋다고 알려져 있으며(11), 이외에도 모과는 향기가 좋아서 방향제로도 많이 이용되고 있다. 그러나 모과는 이러한 약리적 기능에도 불구하고 일반 과실에 비해 수분함량이 적고 짠 맛이 강하며 석세포 및 목질이 발달하여 육질이 거칠기 때문에 식용하기에는 어려움이 있다.

모과에 관한 연구로는, Kim 등(12)의 *in vitro* 에서 모과의

[†]Corresponding author. E-mail : mylee@mail.chosun.ac.kr,
Phone : 82-62-230-7722, Fax : 82-62-225-7726

정미성분으로 생각되는 polyphenol 성분, amino acid, 유기산 및 당 분석, Chung 등(13)의 모과의 휘발성과 비휘발성 flavor 성분 분석, 그 외에 모과·사과 혼합 청징음료 제조(14), 모과 주류의 생리기능성에 관한 연구(15) 등 모과의 가공에 관한 연구는 많으나 기능성 효능에 관한 실험은 매우 미비한 편이다.

따라서 본 연구에서는 모과의 항산화 활성을 평가하기 위하여 용매 추출과 분획을 통하여 총 flavonoid와 polyphenol의 함량을 분석하고, *in vitro* 에서 모과 에탄올 추출물 분획물에 대한 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical 소거능, 항산화지수, 지질과산화 억제효과 등을 측정하여 항산화력을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

모과(*Chaenomeles Fructus*)는 2005년 10월 시중에서 황색 과피를 갖는 것을 구입하여 실험재료로 사용하였다. 모과는 표면의 먼지와 이물질, 끈적이는 콜로이드성 물질을 중성세제로 제거한 후 흐르는 물로 깨끗이 씻고 물기를 잘 닦아 없앤 후 세절하여 -70°C에 냉동시킨 후 동결건조하여 시료로 사용하였다.

용매 추출

건조된 모과는 blender(Braun, MR 350, CA, USA)로 조분쇄하고 시료 100 g을 80% 에탄올 500 mL에 넣어 65°C에서 환류냉각기를 부착하여 3시간씩 3회 추출한 후 여과지(Whatman No. 2)로 여과하였다. 여액을 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator로 용매를 제거하고 감압·농축한 후 동결 건조시켜 고형물 함량을 산출한 다음(16), 시료의 산화방지를 위하여 -70°C에 냉동 보관하면서 사용하였다.

다용매 분획

모과 에탄올(80%) 추출물을 Fig. 1과 같이 separating funnel에 의한 용매별 분획으로 n-hexane, chloroform, ethylacetate 및 n-butanol로 연속 추출(17)한 후 각 분획물을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축한 다음 동결 건조시켜 Table 1과 같이 수율을 계산하고 항산화 활성 측정용 시료로 사용하였다.

총 flavonoid 함량

용매별 분획물의 총 flavonoid 함량은 Davis 등(18)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 모과 용매별 분획물 400 μ L에 90% diethylene glycol 4 mL를 첨가하고, 다시 1N NaOH 40 μ L을 넣은 다음 37°C water bath에서 1시간 동안 incubation한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였

다. 표준시약으로는 rutin(Sigma Co., USA)을 사용하였으며, rutin을 이용한 표준곡선은 rutin 0.01 g을 증류수 10 mL에 녹이고 최종농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 및 1.0 mg/mL 용액이 되도록 조제한 다음 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 420 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

총 polyphenol 함량

용매별 분획물의 총 polyphenol 함량은 AOAC법(19)에 의하여 측정하였다. 모과추출물 및 용매별 분획물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃ 용액 1 mL를 가하여 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid 0.01 g을 증류수 10 mL에 녹이고 최종농도가 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 및 1.0 mg/mL 용액이 되도록 조제하고 이를 일정량 취하여 위와 같은 방법으로 750 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

DPPH radical 소거 활성

시료의 DPPH radical 소거 활성은 Chen 등의 방법(20)에 따라, dimethyl sulfoxide (DMSO) 100 μ L를 대조군으로 하고, DMSO에 녹여 희석한 시료 100 μ L에 200 μ M DPPH 1,900 μ L를 가한 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에 대해 시료를 넣었을 때의 흡광도의 감소 정도를 측정하여 저해율(inhibition rate, %)을 구하였다. 대조군의 흡광도를 100%로 하여 시료를 첨가하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도(RC₅₀)를 계산하였다.

항산화지수 측정

항산화지수(antioxidant index, AI)는 Joo 등(21)의 방법에 의해 rancimat(Metrohm model 679, Herisan, Switzerland)을 이용하여 측정하였다. 각 분획물에 포함된 용매를 완전히 제거한 후 각 분획물의 함량이 600 ppm이 되도록 soybean oil(Sigma Co., USA)에 첨가하고, 초음파(Ultrasonic processor, UCX-750, USA)를 이용하여 시료 추출물과 유지가 잘 혼합되도록 하였다. Rancimat의 측정 조건은 시료 3.0 g을 반응용기에 취하고 증류수 70 mL를 측정용기에 넣은 후 110°C에서 air flow rate 20 L/h로 하여 산화안정성을 비교하였다(22). 항산화지수(antioxidant index, AI)는 분획물을 첨가한 실험군의 유도시간을 분획물을 첨가하지 않은 대조군의 유도시간으로 나눈 값을 구하였고, 모든 측정치는 3회 반복 실험하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다. 기존의 상업용 항산화제인 BHT를 유지에 대해 첨가하여 양성 대조군으로 비교 실험하였다.

지질과산화 억제효과

지질과산화 억제효능(thiobarbituric acid value, TBA

value)의 측정은 Ottolenghi(23)의 방법에 따라 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)와 에탄올을 4 : 1로 혼합한 용액에 linoleic acid를 0.03 M이 되도록 첨가하였다. 이 기질 용액 2.5 mL에 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 2.4 mL 및 0.1% 분획물 0.1 mL씩 첨가하여 반응액을 조제한 후 반응액 2.0 mL에 35% trichloroacetic acid(TCA) 1.0 mL와 0.75% thiobarbituric acid(TBA) 2.0 mL을 가한 다음 vortex mixer로 진탕하여 95℃ 수욕 상에서 40분간 반응하였다. 이 반응액을 실온까지 냉각시켜 glacial acetic acid 1.0 mL, chloroform 2.0 mL를 가하고 진탕시킨 후 3,000 rpm 에서 5분 동안 원심 분리하여 532 nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다. TBA값은 분획물 첨가구의 흡광도와 대조군의 흡광도로부터 산출하였으며 지질과산화 반응을 50% 억제시키는 농도를 IC₅₀으로 하였다.

$$\text{지질과산화 억제활성(\%)} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}})} \times 100$$

A_{control} : 대조군(분획물 미첨가)의 흡광도

A_{sample} : 실험군(분획물 첨가)의 흡광도

A_{blank} : 대조군(증류수 첨가)의 흡광도

통계처리

본 실험은 3회 반복 시행하였으며, 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0(Statistical package for the social science)P/C package를 이용하여 실험군당 평균을 계산하였고, 일원배치분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였으며, 사후검정은 Tukey's test(24)에 의하여 실행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검정은 p<0.05 수준에서 이루어졌다.

결과 및 고찰

에탄올(80%) 추출 수율 및 용매별 분획물의 수율

모과의 항산화효과를 검토하기 위해 냉동 건조하여 마쇄한 시료를 80% 에탄올로 추출한 후 동결 건조하여 얻은 모과 추출물의 추출수율은 9.23%이었다. 이를 용매별로 분획한 후 80% 에탄올 추출물에 대한 추출수율을 측정한

결과는 Table 1과 같다. 80% 에탄올 추출물의 용매별 분획물의 추출수율을 보면 water 분획이 1.52%로 가장 높았으며 ethylacetate, n-hexane, n-butanol, chloroform 순이었다. 연잎(25), 거봉(26), 엉겅퀴(27)등의 용매별 분획물의 수율과 비교하였을 때 hexane층을 제외하고 용매의 극성이 높을수록 분획물의 수율이 높은 것과 일치하였다. 본 실험에서 hexane층의 수율이 높은 것은 지질성분의 대부분이 hexane에 용해된 결과로 추정되어진다.

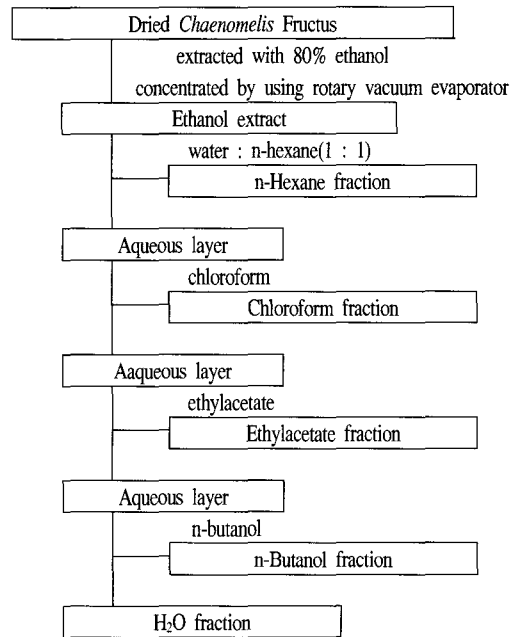


Fig. 1. Procedure for extraction and fractionation of *Chaenomelis Fructus* (CF) by various solvents.

총 flavonoid 함량

모과 에탄올 추출물 분획물의 총 flavonoid 함량을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 모과 80% 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량은 0.331±0.021 mg/mL이였으며, 이를 통한 각 분획물의 총 flavonoid 함량은 n-hexane 분획물이 0.653±0.046 mg/mL로 가장 많이 검출되었고, 다음으로는

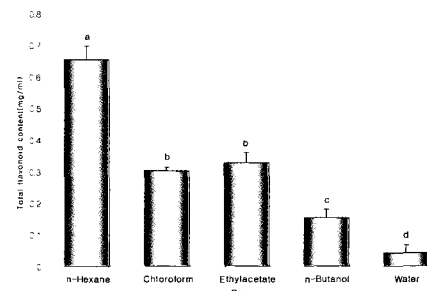


Fig. 2. Total flavonoid contents in solvent fractions from 80% ethanol extract of CF by various solvents.

^{a-d}Means(n=5) with different letters are significantly different (p<0.05).

Table 1. Yield of *Chaenomelis Fructus* (CF) ethanol extract and its solvent fraction from dried CF

Solvent	Fraction yield	
	Yield (g/100 g)	Ratio (%)
Ethanol extract	9.23	100.00
n-Hexane	1.21	13.11
Chloroform	1.03	11.16
Ethylacetate	1.46	15.82
n-Butanol	1.13	12.24
Water	1.52	16.47

ethylacetate 분획물이 0.326 ± 0.032 mg/mL로 chloroform 분획물 0.301 ± 0.012 mg/mL와 비슷하였다. Water 분획물에서는 가장 적은 flavonoid가 검출되었다.

총 polyphenol 함량

모과 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 0.279 mg/mL로 이를 분획 후 측정된 결과 Fig. 3와 같이 n-hexane 분획물이 0.712 ± 0.017 mg/mL로 총 polyphenol 함량이 가장 높았으며 ethylacetate, n-butanol, chloroform, water 순이었다. 이는 polyphenol을 다량 함유하고 있는 것으로 알려진 연근(28)의 잎에서 추출한 총 polyphenol 함량이 0.362 mg/mL 라고 보고한 Lee 등(25)의 연구결과와 유사하였다.

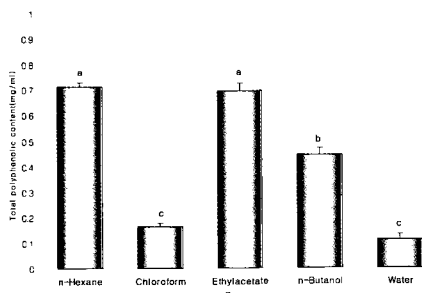


Fig. 3. Total polyphenol contents in solvent fractions from 80% ethanol extract of CF by various solvents.

*Means(n=5) with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

DPPH radical 소거작용

모과 에탄올 추출물 분획물의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 본 연구 결과 모과 에탄올 추출물이 항산화 물질로 알려진 flavonoid와 polyphenol을 다량 함유하고 있으므로 항산화력이 있다고 판단되어 DPPH radical 소거능을 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 n-hexane, ethylacetate, n-butanol, chloroform, water

Table 2. Scavenging effects of CF ethanol extract fractions on DPPH radical

Fraction	50% Reduction ($\mu\text{g/mL}$) ¹⁾
Control	0
n-Hexane	27.3^{c2}
Chloroform	57.9^b
Ethylacetate	50.7^b
n-Butanol	55.4^b
Water	70.5^a
BHT ³⁾	26.5^c

¹⁾ Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min.

^{2)a-c} Means(n=5) with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

³⁾ BHT: butylated hydroxytoluene.

분획물 순으로 나타났다. n-Hexane 분획물의 DPPH radical 소거활성이 $27.3 \mu\text{g/mL}$ 로 가장 강한 항산화 활성을 나타내었는데, 양성 대조군인 합성 항산화제 BHT의 RC_{50} 은 $26.5 \mu\text{g/mL}$ 으로 유사한 전자공여능을 나타냈다. 이와같이 n-hexane 분획물의 전자공여능이 높은 것은 모과에 함유하고 있는 항산화 물질이 n-hexane 분획물에 잘 용해되는 것으로 추정된다. 식물체의 총 polyphenol 함량이 높을수록 전자공여능이 높은 경향이 나타난다는 Seog 등(29)의 보고와도 유사하였다.

항산화지수

지질 산패도를 알아보기 위하여 Rancimat로 측정한 항산화지수는 Table 3과 같다. 항산화지수는 DPPH radical 소거작용에서 나타난 결과와 마찬가지로 n-hexane 분획물이 1.57로 가장 높게 나타났고 ethylacetate 분획물이 1.47, n-butanol 분획물이 1.33, chloroform 분획물이 1.09, 및 water 분획물이 1.02로 시료를 미첨가한 대조군의 항산화지수 1.00보다 높은 활성을 나타냈으며, 특히 n-hexane 분획물의 활성이 가장 높아 기존 합성 항산화제인 BHT와 유사한 수치를 나타냈다. 본 실험에서 모과 에탄올 추출물의 전 분획물에서 대조군보다 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이는 모과 에탄올 추출물에 항산화 활성을 나타내는 물질인 polyphenol과 flavonoid를 다량 함유하고 있기 때문인 것으로 사료된다. Polyphenol계 화합물을 다량 함유한 산수유 등 120여종의 한약재를 75% 에탄올 추출한 후 항산화 활성을 측정한 Lim 등(30)의 연구결과에서도 이들 물질이 산패 유도기간을 증가시켜 항산화 활성을 보였다.

Table 3. Antioxidative activities of CF ethanol extract fractions on soybean oil

Fraction ¹⁾	IP ²⁾	AI ³⁾
Control	6.12^{c4}	1.00^{c5}
n-Hexane	9.59^a	1.57^b
Chloroform	6.69^c	1.09^c
Ethylacetate	9.01^{ab}	1.47^b
n-Butanol	8.12^b	1.33^b
Water	6.23^c	1.02^c
BHT	10.87^a	1.78^a

¹⁾ Fractions were separated by separatory funnel.

²⁾ Induction period(IP) of oil was determined by Rancimat's test at 110°C .

³⁾ Antioxidant index(AI) was expressed as IP of oil containing various fraction/IP of soybean oil.

^{4)5)a-c} Means(n=5) with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

지질과산화 억제작용

모과 에탄올 추출물 분획물의 지질과산화 억제작용을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 각 분획물의 지질과산화

억제율은 n-hexane 분획물이 62.5%, chloroform 분획물이 60.0%, n-butanol 분획물이 40.6%, ethylacetate 분획물이 30.7%, water 분획물이 12.6%순으로, DPPH free radical 소거활성과 rancimat로 측정된 항산화지수와 동일하게 n-hexane 분획물에서 지질과산화 억제율이 가장 높게 나타났으며, 양성 대조군로 사용한 BHT의 지질과산화 억제율 보다는 낮게 나타났다. 이 결과는 모과에 다량 함유된 phenol의 OH기가 DPPH용액에 존재하는 free radical과 linoleic acid의 산화로 인해 생성되는 free radical에 작용하는 차이 때문으로 생각된다(31).

추출물의 항산화 효과를 관찰하였는데, 모과에탄올 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여한 후 흰쥐의 간 조직 손상에 대한 보호효과를 검토한 결과 알코올 투여로 증가된 유리기해독 효소인 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase 활성은 억제시키고, glutathione 함량은 증가시켰으며 지질과산화물 함량을 저하시켰다. 따라서 모과는 알코올 투여로 손상된 간조직의 보호에 도움을 줄 수 있을 것이라는 가능성을 제시해 주었다(32). 이상의 실험결과 모과에탄올 추출물은 *in vivo*와 *in vitro* 연구 모두에서 항산화 효과를 나타내었으며, 이는 모과가 우수한 천연 항산화제로서의 개발가능성을 제시해 주었다.

Table 4. Inhibitory rates of CF ethanol extract fractions on lipid peroxidation

Fraction	Inhibition of lipid peroxidation(%)
Control	0.0
n-Hexane	62.5 ^{a1)}
Chloroform	60.0 ^a
Ethylacetate	30.7 ^b
n-Butanol	40.6 ^b
Water	12.6 ^c
BHT	69.3 ^a

^{1)a-c} Means(n=5) with different letters are significantly different (p<0.05).

요 약

본 연구에서는 *in vitro* 에서 모과의 항산화 활성을 평가하기 위하여 용매별 분획물의 항산화능을 검토하였다. 모과 에탄올 추출물의 수율은 9.23%이었고, 이를 n-hexane, chloroform, ethylacetate, n-butanol, water로 계통 분획한 수율은 water 분획물이 1.52%로 가장 높았으며 그 다음으로 ethylacetate 분획물 1.46%의 순이었다. 모과 에탄올 추출물의 총 flavonoid 함량은 0.331±0.021 mg/mL이었고, 각 분획물의 총 flavonoid 함량은 n-hexane 분획물이 0.653±0.046 mg/mL로 가장 많이 검출되었다. 모과 에탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 0.279 mg/mL이었고, 각 분획물중 n-hexane 분획물이 0.712±0.017 mg/mL로 가장 많이 함유된 것으로 나타났다. *In vitro* 에서 모과 분획물별 항산화 효과를 측정하기 위해 DPPH radical에 대한 자유기 소거능을 측정한 결과 n-hexane 분획물이 27.3 µg/mL로 가장 강한 항산화 활성을 나타내었으며, 이는 양성 대조군인 합성 항산화제 BHT의 26.5 µg/mL와 유사한 전자공여능을 나타냈다. 또한 rancimat으로 측정된 항산화지수도 n-hexane 분획물이 BHT와 유사한 수치를 나타냈으며, 지질과산화물 생성 억제효과도 n-hexane 분획물이 62.5%로 가장 항산화력이 우수하였다. 또한 본 연구팀은 *in vivo* 에서 모과 에탄올

참고문헌

1. The economic planning board national statistical office. (2000) Mortality database 2000
2. Annual report on the cause of death statistics. (1996) National Statistical Office. Republic of Korea.
3. Yoo, J.H., Cha, J.Y., Jeong, Y.K., Chung, K.T. and Cho, Y.S. (2004) Antioxidative effects of pine (*Pine densiflora*) needle extracts. *J. Life Sci.*, 14, 863-867
4. Lee, Y.S., Joo, E.Y. and Kim, N.W. (2005) Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J. Food Preserv.*, 12, 75-79
5. Barene, A.L. (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 52, 59-63
6. Ito, N., Fukushima, S. and Hasebawa, A. (1983) Carcinogenicity of BHA in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 70, 343-352
7. Chan, K.M., Decker, E.A. and Means, W.J. (1993) Extraction and activity of camosine a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J. Food Sci.*, 58, 1-4
8. Park, S.Y. and Kim, J.W. (1992) Screening and isolation of the antitumor agents from medicinal plants (I). *Kor. J. Pharmacogn.*, 23, 264-267
9. Lee, J.H. and Lee, S.R. (1994) Some physiological activity of phenolic substance in plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 26, 317-323
10. Park, J.H. and Lee, C.K. (2000) The encyclopedia of medicinal plants. Shimilbooks. p.133
11. Lee, C.B. (1982) Forest Economics-mokchogangmok, Korean plant map. Hyangmunsa, Seoul. p.29
12. Kim, Y.S., Lee, S.W., Lee, K.R., Kim, S.K., Cho, S.Y. and Lee, J.H. (1971) Studies on tasty constituents in various foodstuffs. Part 1. Tasty constituents of chinese

- quince. Korean J. Food Sci Technol., 3, 163-167
13. Chung, T.Y., Cho, D.S. and Song, J.C. (1988) Nonvolatile/volatile flavor components in chinese quince fruits, *Chaenomeles sinensis* koehne. Korean J. Food Sci. Technol., 20, 293-302
 14. Song, J.C., Cho, E.K. and Park, H.J. (2002) Studies on manufacture of mixed beverage drinks using chinese quince and apple. Food Engineering Progress., 6, 38-45
 15. Lee, D.H., Kim, J.H., Kim, N.M., Choi, J.S. and Lee, J.S. (2002) Physiological functionality of chinese quince wine and liquors. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 17, 266-270
 16. Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S. and Hong J.S. (2000) The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT(*Omija*) seed. Korean J. Food Sci. Technol., 32, 928-935
 17. Woo, W.S. (1997) Natural products chemistry. Seoul national university press. Seoul, p.14-15
 18. Chae, S.K., Kang, G.S., Ma, S.J., Bang, K.W., Oh, M.W. and Oh, S.H. (2002) Standard food analysis. Jigu-moonwha Sa. p.381-382
 19. A.O.A.C. (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed, Association of official analytical chemists, Washington DC., p.8-15
 20. Chen, H.M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K. and Nokihara, K. (1998) Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragment found in the digests of a soybean protein. J. Agri. Food Chem., 46, 49-53
 21. Joo, K.J. and Kim, J.J. (2002) Oxidative stability and flavor compounds of sesame oils blended with vegetable oils. Korean J. Food Sci. Technol., 34, 499-502
 22. Esquivel, M.M., Ribeiro, M.A. and BermardoGil, M.G. (1999) Supercritical extraction of savory oil : study of antioxidant activity and extract characterization. J. Supercritical Fluids, 14, 129-138
 23. Ottolenghi, A. (1959) Interaction of ascorbic acid and mitochondrial lipids. Arch. Biochem. Biophys., 79, 355-461
 24. Chai, S.E. and Kim, B.R. (1988) Statistic analysis used spss/pc, Bummun Co.,
 25. Lee, K.S., Kim, M.G. and Lee, K.Y. (2006) Antioxidative activity of ethanol extract from Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaf. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 35, 182-186
 26. Park, S.J. and Oh, D.H. (2003) Free radical scavenging effect of seed and skin extracts of black olympia grape (*Vitis labruscan* L). Korean J. Food Sci. Technol., 35, 121-124
 27. Lee, H.K., Kim, J.S., Kim, N.Y., Kim, M.J., Park, S.U. and Yu, C.Y. (2003) Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activites of extracts from *Cirsium Japonicum* var. *ussuriense* KITAMURA. Korean J. Med. Crop Sci., 11, 53-61
 28. Xiao, J.H., Zhang, J.H., Chen, H.L., Feng, X.L. and Wang, J.L. (2005) Inhibitory effects of isoliensinine on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Planta Med., 71, 225-330
 29. Seog, H.M., Seo, M.S., Kim, S.R., Park, Y.K. and Lee, Y.T. (2002) Characteristics of barley polyphenol extract(BPE) separated from pearling by-products. Korean J. Food Sci. Technol., 34, 775-779
 30. Lim, D.K., Choi, U. and Shin, D.H. (1996) Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 83-89
 31. Paker, L. and Glazer, A.N. (1990) Oxygen radicals in biological systems. In Methods in Enzymology. *Oxygen radicals in biological systems*, Academic Press, London. p.186, 343
 32. Lee, Y.U., Lee, J.J., Shin, H.D. and Lee, M.Y. (2006) Protective effects of *Chaenomeles sinensis* Koehne extract on ethanol-induced liver damage in rat. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 35, 1336-1342