

아주까리 메탄올 추출물의 항산화 효과 및 아질산염 소거작용

강정일 · 임진아^{1*}

전주대학교 대체의학대학 물리치료학과, 1: 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

Antioxidative Activity and Nitrite Scavenging Ability of Methanol Extract from *Ricinus communis*

Jeong Il Kang, Jin A Lim^{1*}

Department of Physical Therapy, College of Complementary and Alternative Medicine, Jeonju University,

1: Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

Efficacy of antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Ricinus communis*. was investigated. Electron-donating ability of extract at RC₅₀ was 114.02 µg/mL. After addition of 0.46 mg/mL extract, autoxidation of pyrogallol decreased to 32.99% by superoxide dismutase-like activity. In antioxidative activity of extract against linoleic acid during incubation times of 24, 48, 96 hours at 40°C, lipid peroxidation values significantly decreased by 85.50%, 87.77%, 90.95% with addition of 0.2 mg/mL, respectively. Total phenolic content was determined as gallic acid equivalents (GAE) and values revealed 83.98 ± 5.66 GAE µg/mg of extract. Nitrite scavenging ability showed the most remarkable effect at pH 1.2, decreasing to 47.24% by addition of 0.2 mg/mL. These results suggest that methanol extract from *Ricinus communis*. can be used as bioactive and functional material.

Key words : *Ricinus communis*, Antioxidative activity, Nitrite scavenging ability

서 론

생체 내에서 물질대사와 에너지 생산을 위해 필수적으로 이용되는 산소는 정상적으로는 물과 이산화탄소로 배출된다. 그러나 이 중 약 4%는 정상적인 대사과정 중 각종 물리적, 화학적, 생물학적인 스트레스를 받아 완전히 환원되지 못하고 인체에 유해한 활성산소 종(reactive oxygen species: ROS)으로 변한다¹⁾. 이러한 유해 활성산소 종을 free radical이라 한다. free radical은 대식세포의 살균작용 정보전달 및 오래된 단백질 제거 등에 이용되는 불가결한 물질이므로 적당량 생성되어야 하나 생체내의 생성량이 그 방어기전을 벗어나 많은 양이 생성되면 세포막에 존재하는 지질과 결합하여 과산화물을 만들고, 이들의 연속반응에 의하여 alcohol류, aldehyde류, ketone류 등을 생성함으로써 생체 내에서 DNA를 손상시켜 암을 유발할 뿐만 아니라, 세포노화, 세포막 분해, 지방산화 등 심각한 생리적인 장애를 일으킨다^{2,3)}. 지금까지 활성산소와 free radical 생성을 방지하기 위해 사용

되는 항산화제로는 α-tocopherol, BHT, BHA, PG, TBHQ, ascorbic acid등이 알려져 있으며, 그 중 항산화 효과가 뛰어난 BHT와 BHA는 변이원성 및 독성이 지적되어, 현재는 그 사용량이 격감되는 실정이다.

따라서 최근 안전성과 관능상 문제가 되지 않는 천연 항산화제 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있으며²⁾, 유근피, 오배자⁴⁾, 황금⁵⁾, 천마⁶⁾, 머루종자⁷⁾, 고려엉겅퀴⁸⁾ 등에서 항산화 효과가 보고되고 있다.

육가공품 제조시에 사용되는 아질산염은 미생물의 증식을 억제하며, 산패를 방지하는 효과가 있으나 발암물질인 nitrosoamine을 생성하는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 발암물질로 알려진 nitrosoamine이 식품의 안전성 측면에서 중요한 문제로 대두되면서 생체 내에서의 nitrosoamine 생성억제 인자에 대한 연구가 진행되고 있는데, 이러한 생성 억제 물질로는 ascorbic acid, α-tocopherol, pyrrolidine, cysteine, phenol계 물질들이 있다고 보고되고 있으며^{2,10)}, 녹차, 매실¹⁰⁾, 속, 솔잎⁹⁾, 대나무²⁾, 통송하초¹¹⁾ 등의 여러 가지 약재와 식물에서의 아질산염 소거작용이 보고되고 있다.

아주까리는 대극과(*Euphorbiaceae*)의 일년생 초본 식물로서 열대에서는 다년생 관목을 이루며 높이는 약 2-3m이다. 암수한

* 교신저자 : 임진아, 익산시 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과

· E-mail : lja75@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6918

· 접수 : 2006/12/01 · 채택 : 2007/04/25

그루로서 꽃은 단생이고 삭과는 구형으로 가시가 있으며 성숙할 때 벌어진다. 개화기는 5-8월 사이이며 결실기는 7-8월이다. 아주까리의 뿌리, 잎 및 종자에서 짜낸 기름은 공업용이나 약용으로 사용된다. 아주까리 잎은 말려서 삶아서 물에 담갔다가 식용하고 근경은 약용 및 공업용으로 윤활유, 잉크, 포마드, 도장발 등의 원료로 쓰이며 종자 및 근경은 완화약 등으로 쓰인다. 상습 변비, 식중독, 급성 위장염, 설사, 소아 소화불량 등에는 근경이 사용되고, 지혈, 팽창염, 변독 등에는 잎이 사용되는데 여러 가지 부종, 종독, 피부병 등에 사용된다¹²⁾. 아주까리는 의학에서 하제로 사용되는 종자유와 그 종자유의 독성 물질인 lectin과 ricin으로 잘 알려져 있다¹³⁾.

아주까리에 대한 연구는 종자유에 함유된 독성(ricin)에 대한 연구가 활발히 이루어져왔고¹⁴⁻¹⁶⁾, 근래에는 이러한 독성 제거에 대한 연구를 기초로 하여 독성이 제거된 아주까리 종자의 단백질을 식품화 하기위한 연구도 실행되고 있다¹⁷⁾. 또한, 아주까리 뿌리의 free radical 소거효과 및 항염증에 대한 효과도 보고되고 있으나¹⁸⁾, 생리적인 활성에 대한 체계적 연구는 아직 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 아주까리의 기능성 식품 소재 또는 식품 첨가물로써의 가능성을 검토하고자 식용으로 사용하는 아주까리 잎의 메탄올 추출물에 대한 항산화효과와 아질산염 소거능을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

α, α' -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH), pyrogallol, linoleic acid, ammonium thiocyanate, sodium nitrite, sulfanilic acid, *n*-naphthylamine, sodium carbonate 그리고 gallic acid는 Sigma (USA)에서 구입하였으며, 기타 시약은 분석용 등급 이상의 시약을 사용하였다.

2. 시료의 조제

본 실험 재료인 아주까리는 충남 논산시 광석면 사월리에서 채집하여 사용하였다. 음건한 아주까리 잎은 blender (Aldrich, USA)로 분쇄하여 메탄올로 3회 반복 추출하였고, 추출액은 여과지 (Whatman No. 2 England)를 사용하여 여과하였으며, rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 감압농축한 후, 진공 동결건조 하였다. 이렇게 얻어진 아주까리 메탄올 추출물 (0.43 g)을 본 실험 시료로 사용하였다.

3. 전자공여능 측정

전자공여능 (electron donating ability)은 Blossis 방법¹⁹⁾에 의한 DPPH free radical 소거법으로 측정되었다. 즉, 시료는 메탄올에 녹여 준비하고 메탄올에 녹인 0.3 mM DPPH 용액을 첨가하여 실온에서 30분간 방치 한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 양을 RC_{50} (50% reduction concentration)로 하여 나타내었다.

4. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

Marklund와 Marklund의 방법²⁰⁾에 따라 각 농도별 시료 (0.2 mL)에 tris-HCl buffer (50 mM tris[hydroxymethyl]amino methane containing 10 mM EDTA, pH 8.5, 3 mL)와 7.2 mM pyrogallol (0.2 mL)을 가하고 25°C에서 10분간 방치하였으며, 1 N HCl (1 mL)로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 $100 - [(시료첨가구의 흡광도 / 무첨가구의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

5. 지질과산화 측정(Ferric thiocyanate; FTC method)

지질 과산화는 Kikuzaki와 Nakatani²¹⁾의 방법에 따라 측정되었다. 즉, 시료 (4 mg)와 에탄올 (4 mL)을 혼합하고, 에탄올에 녹인 2.52% linoleic acid (4.1 mL)와 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0, 8 mL), 증류수 (3.9 mL)를 첨가하여 40°C에서 암조건을 유지시켰다. 24시간 배양 후, 이 반응액 (0.1 mL)을 취하여 75% 에탄올 (9.7 mL)과 30% ammonium thiocyanate (0.1 mL)을 혼합하고 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride (0.1 mL)을 가한다음, 실온에서 3분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 대조구의 흡광도가 최고치를 나타낼 때까지 24시간 단위로 흡광도를 측정하였다.

6. 총 페놀함량 측정

총 페놀함량은 Folin-Ciocalteu²²⁾의 방법에 의해 측정되었다. 반응액은 시료 (20 μ L), 증류수 (1.58 mL) 그리고 Folin-Ciocalteu reagent (100 μ L) 혼합하여 만들었다. 위 반응액에 300 μ L의 20% sodium carbonate solution을 첨가하고 잘 혼합하였다. 그런 다음, 실온에서 2시간동안 배양한 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였고 표준물질로 gallic acid를 사용하였다. 총 페놀함량은 gallic acid equivalents (GAE, μ g)/시료 1 mg로 나타내었다.

7. 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능(nitrite scavenging ability)은 Kato 등²³⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂용액(2 mL)에 시료(1 mL)를 가하고 0.1 N HCl (pH 1.2), 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0 으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시키고 각 반응액(1 mL)을 취하여 2% 초산용액(2 mL)과 30% 초산용액으로 용해한 Griess reagent (1% sulfanilic acid: 1% naphthylamine = 1:1, 0.4 mL)를 가한 다음 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 $100 - [(시료첨가구의 흡광도 / 무첨가구의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다.

8. 통계처리

통계처리는 각각의 시료에 대해 Student's t-test를 사용하여 mean \pm S.D로 계산하였으며, p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 전자공여능

일반 식물의 항산화 작용에 관해서는 많은 연구가 있는데 DPPH를 이용하여 유리라디칼 소거능을 측정할 결과 감초²⁴⁾, 섬오갈피²⁵⁾, 메밀, 수수, 기장, 울무²⁶⁾, 발아메밀²⁷⁾, 등 에서 효과가 있는 것으로 관찰되었다. 아주까리 메탄올 추출물의 DPPH free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 환원시키는데 필요한 시료량 (RC₅₀: 50% reduction concentration)으로 측정할 결과 114.02 µg/mL로 나타났다(Fig. 1). 섬오갈피의 줄기와 뿌리 추출물의 RC₅₀는 각각 58.7 µg/mL, 433.9 µg/mL로 측정되었고²⁵⁾, 표준물질로 사용된 β-carotene과 BHA의 RC₅₀는 각각 18.02 µg/mL, 18.48 µg/mL (data not shown)로 나타나, 아주까리 메탄올 추출물은 비교적 우수한 전자공여능을 보이는 것으로 관찰되었다.

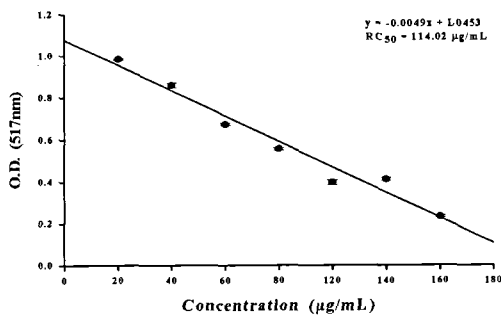


Fig. 1. Electron donating ability of methanol extract from *Ricinus communis*. The values represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments.

2. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포에 해로운 환원 산소종(superoxide)을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다. SOD에 의해 생성된 유해산소종인 H₂O₂는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다²⁸⁾. 이러한 SOD는 30 KDa 이상의 분자량을 가진 단백질 물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고 체외로 배출되며, 열과 pH에 불안정하다. 따라서 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완할 수 있는 SOD 유사활성 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다²⁾.

아주까리 메탄올 추출물의 superoxide (O₂) 산화억제작용을 알아보기 위해 superoxide와 반응하여 갈변물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화반응을 측정하여 SOD 유사활성을 측정하였다²⁹⁾. 아주까리 메탄올 추출물을 0.46 mg/mL로 첨가했을 때 32.99%의 SOD 유사활성을 나타냈다(Fig. 2).

3. 지질과산화 측정

생체막에 존재하는 지질은 라디칼에 의해 지방산으로부터 수소원자가 박탈됨으로써 산화되기 시작하여 반응성이 높은 유리 라디칼이 형성된다. 지질의 산화에 의해 생성된 hydroperoxide가 촉매력이 강한 전이 금속들에 의해 분해되어 만들어지는 alkoxy radicals

(RO·), peroxy radicals (ROO·), hydroxyl radical (OH·) 및 malondialdehyde나 4-hydroxynonenal등은 간접적으로 단백질과 DNA의 손상을 일으킬 뿐만 아니라 노화와 암 발생의 중요한자이기도 하다²⁹⁾.

아주까리 메탄올 추출물의 지질과산화와 관련한 항산화 효과를 검토하기 위하여 linoleic acid에 추출물을 첨가하여 40°C에서 96시간동안 지질과산화물을 흡광도 (500 nm)로 측정하였다. 그 결과, 대조구는 24, 48, 96시간 후 0.779, 0.903, 1.442로 흡광도가 측정되었고 0.2 mg/mL의 추출물을 첨가하였을 때에는 각각 0.113, 0.110, 0.130로 흡광도가 나타나 대조구에 비해 추출물 첨가구의 지질과산화수치가 각각 85.50%, 87.77%, 90.95%로 유의성 있게 감소되었다(Fig. 3). 위의결과로 아주까리 메탄올 추출물은 효과적으로 지질과산화를 억제하는 것으로 관찰되었다.

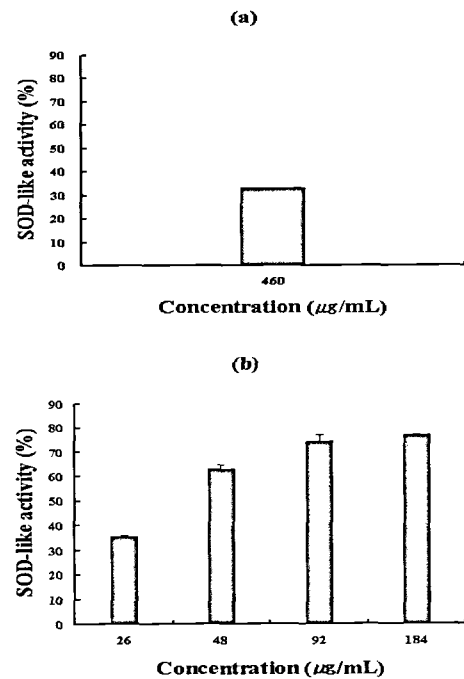


Fig. 2. SOD-like activity of (a) methanol extract from *Ricinus communis* and (b) ascorbic acid. The values represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments.

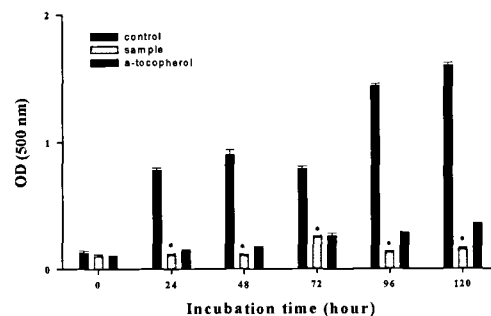


Fig. 3. Lipid peroxidation in linoleic acid substrate containing methanol extract from *Ricinus communis* during storage at 40°C. The value represent the mean ± standard deviations for triplicate experiments. Significantly different from the control values(*p<0.05).

4. 총 페놀함량 측정

식품 중에 함유되어 있는 많은 생리활성 phytochemical 중 phenol은 가장 널리 함유되어 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다³⁰⁾. Hayes 등³¹⁾은 chlorogenic acid와 caffeic acid등이 매우 높은 항산화 효과를 나타낸다고 하였으며, Lee등³⁰⁾은 페놀화합물이 높은 항산화 활성이 있다고 보고하였다. 아주까리 메탄올 추출물의 총 페놀함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 측정되었고 gallic acid equivalents(GAE, μg)/시료 mg로 나타내었다. Gallic acid는 농도 의존적으로 유의성 있는 OD값의 증가를 나타내었고, gallic acid의 표준곡선을 토대로 시료 1 mg의 총 페놀함량을 측정한 결과 $83.98 \pm 5.66 \mu\text{g}$ GAE로 측정되었다(Fig. 4).

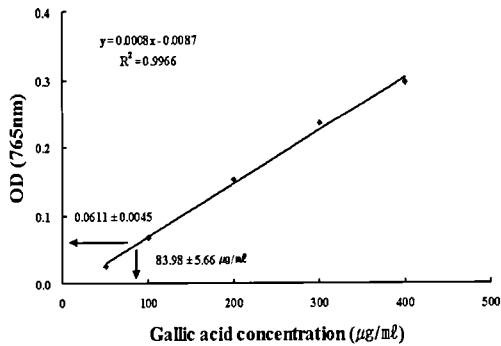


Fig. 4. Total phenol content of methanol extract from *Ricinus communis*. The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

5. 아질산염 소거능

아질산나트륨 용액에 아주까리 메탄올 추출물 0.2 mg/mL을 첨가하고 pH 조건을 각각 pH 1.2, 3.0 그리고 6.0으로 조정하여 아질산염에 대한 소거율을 측정하였다. 이들 pH 범위는 인체내 위에서의 pH 변화를 고려하였으며, 각 pH 조건 (pH 1.2, pH 3.0, pH 6.0)하에서 아질산염 소거능은 각각 47.24%, 44.38%, 22.45%로 나타나 pH 의존적인 아질산염 소거능을 보였다(Fig. 5). 이와 유사한 결과로 각종 phenol성 화합물의 농도를 여러 농도로 조정하여 아질산 소거능을 측정된 결과 pH 1.2에서 가장 높게 나타났으며, 이에 반해 pH 6.0에서는 10% 정도로 대부분 상실되었다는 보고가 있다³²⁾. 아질산 염은 식육제품에 첨가되어 발색제 및 보존제로 이용되고 있으나, 식품 중에 존재하는 amine류와 반응하여 발암물질은 nitrosoamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다. 니트로화 (nitrosation)에 영향을 주는 nitrite는 nitrous acid (HNO_2)를 형성하기 위해서 산성화되고 HNO_2 는 H_2NO_2^+ 으로 proton화되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamide를 형성한다. 이러한 산성화(acidification)과정 때문에 니트로화반응은 주로 생체내 산성위 (acidic stomach)에서 발생한다²⁾. 아주까리 메탄올 추출물의 아질산염 소거능을 측정된 결과, 역시 인체의 위내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 측정되었다. 이러한 결과로 보아 아주까리 메탄올 추출물은 생체 내에서도

효과적인 아질산염 소거작용을 통해 nitrosoamine 생성을 억제할 것으로 생각된다.

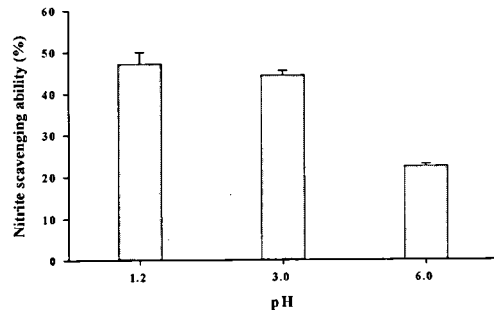


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of methanol extract from *Ricinus communis*. The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

결론

본 연구는 아주까리 메탄올 추출물의 생리활성 및 기능성을 검토하기 위해서 항산화 효과와 아질산염 소거능을 측정하였다. 그 결과, 아주까리 메탄올 추출물의 전자공여능 (RC_{50})은 $114.02 \mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타났고 SOD 유사활성은 추출물 (0.46 mg/mL)을 첨가하였을 때 32.99%로 관찰되었으며, linoleic acid에 대한 항산화 화력은 추출물 (0.2 mg/mL)을 첨가하여 지질과산화물을 측정된 결과 배양시간 24, 48, 96시간 경과 후 각각 85.50%, 87.77%, 90.95% 감소율을 보임으로써 효과적인 항산화 효과를 나타내었다. 총 페놀함량은 gallic acid equivalents (GAE)로 측정되었고 $83.98 \pm 5.66 \text{ GAE } \mu\text{g}/\text{mg}$ sample으로 조사되었다. 아질산염 소거능은 아주까리 메탄올 추출물 (0.2 mg/mL)을 첨가하였을 때 pH 1.2 조건에서 47.24%로 가장 높게 나타났으며 pH가 증가할수록 감소하였다. 이상의 결과로 아주까리 메탄올 추출물은 우수한 항산화 효과와 아질산염 소거능을 나타냄으로써 기능성 식품 소재 및 식품 첨가물로써 사용가능 하리라 사료된다.

참고문헌

1. Kim, S.J., Han, D.S. Effect of Plants Extracts on Lipid peroxidation of rat brain tissue induced by reactive oxygen species. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37(6):976-982, 2005.
2. Lim, J.A., Na, Y.S., Baek, S.H. Antioxidant activity and nitrite scavenging ability of ethanol extract from *Phyllostachys bambusoides*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36(2):306-310, 2004.
3. Hah, D.S., Kim, C.H., Kim, G.S., Kim, E.G., Kim, J.S. Antioxidant effects of traditional medicinal plants on lipid peroxidation. *Korean J Vet Res.* 45(3):341-350, 2005.
4. Han, S.H., Woo, N.R.Y., Lee, S.D., Kang, M.H. Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extracts in Korea. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 14(1):49-55, 2006.
5. Kim, S.C., Ahn, K.S., Park, C.K., Jeon, B.S., Lee, J.T., Park,

- W.J. Isolation of antioxidative compound from *Scutellaria baicalensis* G. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14(4):212-216, 2006.
6. Heo, J.C., Park, J.Y., An, S.M., An, S.M., Lee, J.M., Yun, C.Y., Shin, H.M., Kwon, T.K., Lee, S.H. Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. 13(1):83-87, 2006.
 7. Kim, N.Y. Choi, J.H. Kim, Y.G., Jang, M.Y., Moon, J.H., Park, G.H., Oh, D.H. Isolation and identification of an antioxidant substance from ethanol extract of wild grape (*Vitis coignetiea*) seed. Korea J. Food SCI. Technol. 38(1):109-113, 2006.
 8. Lee, S.H., Jin, Y.S., Heo, S.I., Shin, T.H., Sa, J.H., Choi D.S., Wang, M.H. Composition analysis and antioxidative activity from different organs of Cir Korea J. Food SCI. Technol. 38(4):571-576, 2006.
 9. Park, C.S., Kwon, C.J., Choi, M.A., Park, G.S., Choi, K.H. Antioxidative and nitrite scavenging activities of mugwort and pine needle extracts. Korean Journal of Food Preservation 9(2):248-252, 2002.
 10. Choi, S.Y., Chung, M.J., Shin, J.H., Kim, H.J., Sung, N.J. Effect of green tea(*Camellia sinensis*) and maesil(*Prunus mume*) extracts on endogenous formation of N-Nitrosodimethylamine. 15(1):16-22, 2002.
 11. Park, C.S., Kwon, C.J., Choi, M.A., Park, G.S., Choi, K.H. Antioxidative and nitrite scavenging activities of *Cordyceps militaris* extracts. Korean Journal of Food Preservation. 9(1):109-113, 2002.
 12. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. 중약대사전, 도서출판정담, p 1886, 1997.
 13. Challoner, K.R., McCarron, M.M. Castor bean intoxication. Annals of Emergency Medicine. 19: 1177-1183, 1990.
 14. Masaru, F. Toxic Protein "Ricin" of *Ricinus communis*. Korean J. Food Sci. Technol. 11: 206-208, 1979.
 15. Woo, B.H., Lee, J.T., Lee, K.C. Purification of sepharose-unbinding ricin from Castor Beans (*Ricinus communis*) by hydroxyapatite chromatography. Protein Expression and Purification 13(2):150-154, 1998.
 16. Simmons, B.M., Russel, J.H. A single affinity column step method for the purification of ricin toxin from castor beans (*Ricinus communis*). Anal. Biochem. 146: 206-210, 1985.
 17. Yoon, J.O. Studies on the preparation of food proteins from castor bean protein. Korean J. Food Sci. Technol. 12: 263-271, 1980.
 18. Raju, I., Moni, M., Subramanian, V. Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* root extract. Journal of Ethnopharmacology 103(3):478-480, 2006.
 19. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use a stable free radical. Nature. 26: 1199-1200, 2006.
 20. Marklund, S., Marklund, G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 468-474, 1974.
 21. Ismail, M., Manickam, E., Daniai, A.M., Rahmat, A., Yahaya, A. Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract. J. Nutr. Biochem. 11(11-12):536-542, 2000.
 22. Slinkard, K., Singleton, V.L. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am. J. Enology and Viticulture. 28: 49-55, 1977.
 23. Kato, H., Lee, I.E., Chyuen, N.V., Kim, S.B., Hayase, F. Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 51(1):1333-1338, 1987.
 24. Sung, K.C. A study on the pharmaceutical characteristics & analysis of glycyrrhizin extract. J. of Korean Oil Chemists' Soc. 23(3):215-222, 2006.
 25. Lee, S.E., Son, D.W., Yoon, Y.P., Lee, S.Y., Lee, B.J. Lee, S.H. Protective Effect of the Methanol Extracts of *Acanthopanax koreanum* against Oxidative Stress. Kor. J. Pharmacogn. 37(1):16-20, 2006.
 26. Kwak, C.S., Lim, S.J., Kim, S.A., Park, S.C., Lee, M.S. Antioxidative and antimutagenic effects of korean buckwheat, sorghum, millet and jpb's tears. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. Lee. 33(6):921-929, 2004.
 27. Hwang, E.J., Lee, S.Y., Kwon, S.J., Park, M.H., Boo, H.O. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of fagopyrum esculentum moench extract in germinated seeds. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14(1):1-7, 2006.
 28. An, B.J., Park, J.M., Bae, H.J., Pyun, J.R. Song, M.A. Antioxidant and antibacterial effects of Koream isodon japonicus H. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 49(2):129-134, 2006.
 29. Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Arch. Biochem. Biophys. 315: 161-169, 1994.
 30. Lee, J.H., Lee, S.R. Analysis of phenolic substance content in Korean plant foods. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 310-316, 1994.
 31. Hayes, R.E., Bookwalter, G.N., Bagley, E.B. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives. J. Food Sci. 6: 1527-1532, 1997.
 32. Kang, Y.H., Park, Y.K., Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donation ability of phenolic compound. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239, 1996.
 33. Gray, J.I., Dugan, Jr L.R. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. J. Food Sci. 40: 981-984, 1975.
 34. Mirvishm, S.S. Formation of N-nitro compounds: Chemistry, kinetics and in vivo occurrence. Toxicol. Appl. Pharmacol. 31: 325-351, 1975.