

碩士學位論文

# 제주산 복분자 추출물의 항산화 활성



2008年 6月

# 제주산 복분자 추출물의 항산화 활성

指導教授 金 洙 賢

강 영 찬

이 論文을 工學 碩士學位 論文으로 提出함.

2008年 6月

姜榮燦의 工學碩士學位 論文을 認准함.

審査委員長 高 榮 煥 (印)

委 員 任 尙 彬 (印)

委 員 金 洙 賢 (印)

濟州大學校 大學院

2008年 6月

Antioxidant Activities of Extracts from Jeju Raspberry  
(*Rubus coreanus* Miq.)

Yeong-Chan Kang  
(Supervised by Professor Soo-Hyun Kim)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND ENGINEERING  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

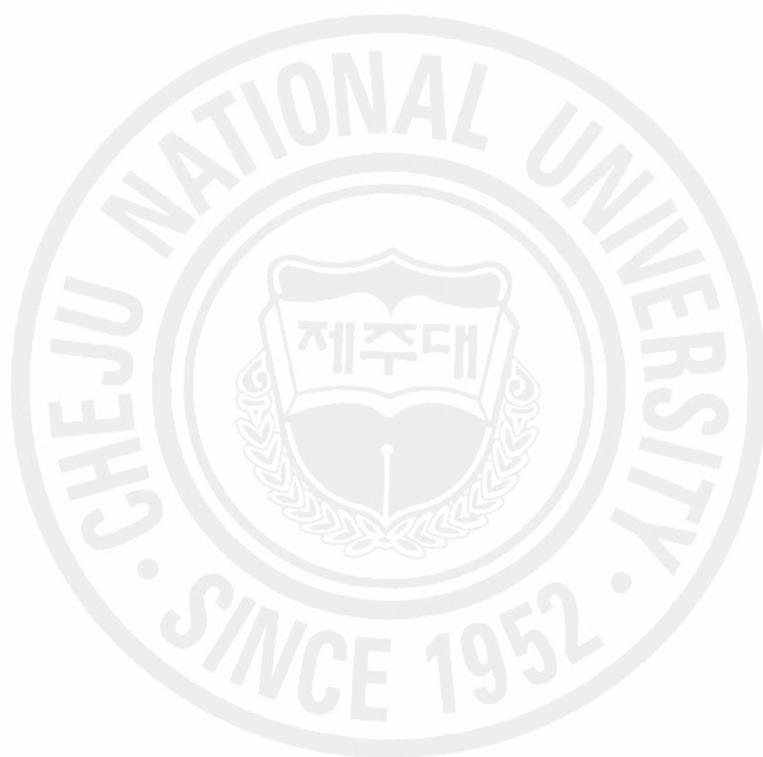
JUN 2008

# 목 차

## Summary

I. 서론	1
II. 연구사	4
III. 재료 및 방법	8
1. 실험재료	8
1) 실험재료	8
2) 추출효소 및 시약	8
2. 실험방법	8
1) 일반성분 분석	8
2) 효소적 추출물의 조제	9
3) 메탄올 추출물의 조제	12
4) 초임계 이산화탄소추출	12
5) 총 polyphenol 함량	13
6) 항산화 효과	13
(1) DPPH radical 소거활성 측정	13
(2) Superoxide anion radical 소거활성	14
(3) Hydrogen peroxide 소거활성	15
(4) Hydroxyl radical 소거활성	16
(5) Nitric oxide radical 소거활성	17
IV. 결과 및 고찰	19
1. 일반성분	19
2. 추출수율	19
3. 추출물의 총 폴리페놀함량	20

4. DPPH radical 소거활성 .....	22
5. Superoxide anion 소거활성 .....	25
6. Hydrogen peroxide 소거활성 .....	27
7. Hydroxyl radical 소거활성 .....	29
8. Nitric oxide radical 소거활성 .....	31
V. 요약 .....	33
VI. 참고문헌 .....	34

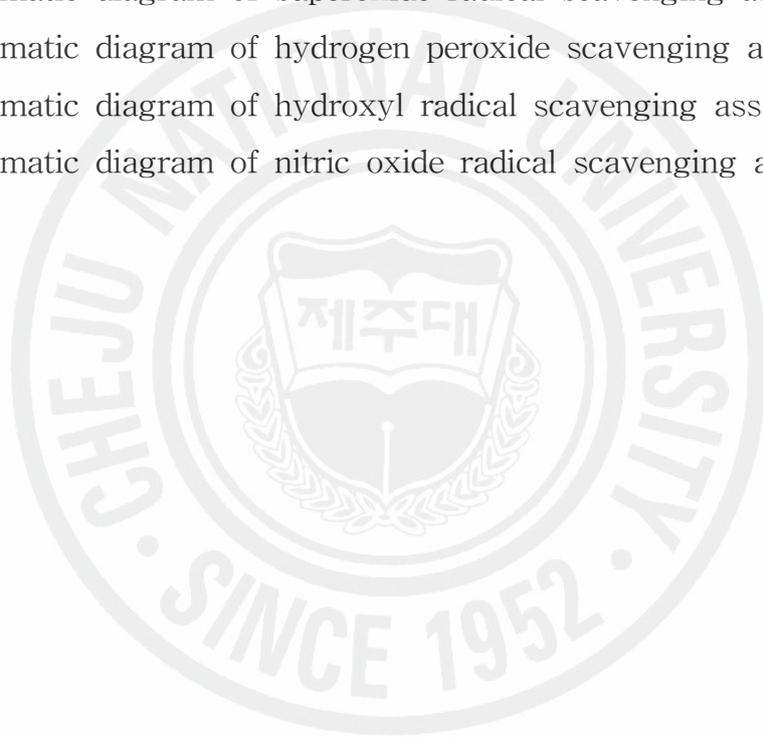


## List of Tables

- Table 1. Characteristics of different carbohydrases and protease in hydrolysis process
- Table 2. Approximate chemical composition of *Rubus coreanus* Miq.
- Table 3. Yield of extracts from *Rubus coreanus* Miq.
- Table 4. Polyphenolic contents in enzymatic, Supercritical carbon dioxide and methanolic extracts of *Rubus coreanus* Miq.
- Table 5. DPPH radical scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.
- Table 6. Superoxide anion scavenging activity of enzymatic, Supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.
- Table 7. Hydrogen peroxide scavenging activity of enzymatic, Super critical carbon dioxide and methanolic extractss from *Rubus coreanus* Miq.
- Table 8. Hydroxyl radical scavenging activity of enzymatic, super critical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.
- Table 9. Nitric oxide radical scavenging activity of enzymatic, Super critical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.

## List of Figures

- Fig. 1. Schematic diagram of enzymatic extracts from *Rubus coreanu* Miq.
- Fig. 2. Schematic diagram of the enzymatic extraction from *Rubus coreanun* Miq.
- Fig. 3. Schematic diagram for methanolic extraction of *Rubus coreanun* Miq
- Fig. 4. Schematic diagram of DPPH radical scavenging assay
- Fig. 5. Schematic diagram of superoxide radical scavenging assay
- Fig. 6. Schematic diagram of hydrogen peroxide scavenging assay
- Fig. 7. Schematic diagram of hydroxyl radical scavenging assay
- Fig. 8. Schematic diagram of nitric oxide radical scavenging assay



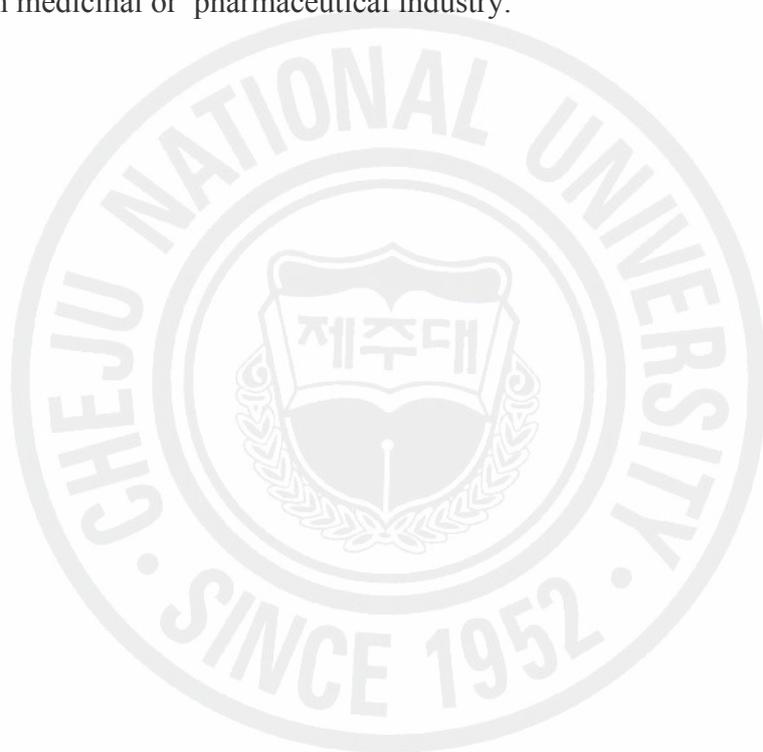
## Summary

The antioxidant potential of methanolic extract, supercritical carbon dioxide extract and enzymatic extracts from *Rubus coreanus* was investigated using DPPH free radical, hydrogen peroxide, different reactive oxygen species (ROS) such as superoxide and hydroxyl radical and nitric oxide (NO) assays.

Proximate chemical composition of *Rubus coreanus* was: moisture 74.3%, ash content 4.9%, carbohydrate 3.1%, crude protein 6.1% and crude lipid 11.6%. Extractable yield of enzymatic extracts lie between 4.49-5.43% while supercritical carbon dioxide extracts were between 5.25-8.92%. Highest extractable yield was shown by 70% methanolic extract among the all extracts and it was 10.12%. Total phenolic content was determined using Folin-Ciocalteu method and methanolic extract showed highest content (2409.01 mg/100g). The total phenolic content of supercritical carbon dioxide extracts were between 1316.09-1605.06 mg/100g while enzymatic extracts showed the total phenolic content between 606.54-783.93 mg/100g. The *Rubus coreanus* extract prepared using supercritical carbon dioxide for 120 min time duration showed highest DPPH free radical scavenging activity (IC<sub>50</sub>: 310 µg/mL) and 70% methanolic extract showed second highest scavenging activity (IC<sub>50</sub>: 490 µg/mL). Both values were higher than that of commercial antioxidants BHT and α-tocopherol (IC<sub>50</sub>: 40 µg/mL and 70 µg/mL respectively). Further, highest superoxide radical scavenging activity also showed by the extract prepared by supercritical carbon dioxide (IC<sub>50</sub>: 80 ~ 380 µg/mL) which were higher than that of all other extracts as well as BHT and α-tocopherol. 70% methanolic extract showed the second highest scavenging activity (IC<sub>50</sub>: 240 µg/mL) and Flavourzyme (IC<sub>50</sub>: 710 µg/mL), AMG (IC<sub>50</sub>: 980 µg/mL) and Alcalase (IC<sub>50</sub>: 850 µg/mL) extracts showed higher activity than that of BHT and α-tocopherol in superoxide radical scavenging. Hydrogen peroxide scavenging activity was highest in 70% methanolic extract (IC<sub>50</sub>: 670 µg/mL) which was higher than the values of both BHT and α-tocopherol and second highest activity was shown by the Protamex (IC<sub>50</sub>: 3390 µg/mL). Hydroxyl radical scavenging activity was highest in the supercritical carbon dioxide extract prepared for 120 min (IC<sub>50</sub>: 46 ~ 50 µg/mL).

Methanolic and enzymatic extracts showed lower activity in hydroxyl radical scavenging. Nitric oxide scavenging activity was highest in supercritical carbondioxide extract prepared for 30min (IC<sub>50</sub>: 750 $\mu$ g/mL) and it was higher than that of BHT ( IC<sub>50</sub>: 1630  $\mu$ g/mL)and -tocopherol (IC<sub>50</sub>: 2340  $\mu$ g/mL).

In conclusion, this work has shown that the supercritical carbondioxide extract and metanolic extract of *Rubus coreanus* act as strong radical scavenging agent which can be used as a natural source of potential antioxidants. Further work is needed to purify and isolate the bioactive compounds available in *Rubus coreanus*, which later, can be used in medicinal or pharmaceutical industry.



## I. 서론

최근 경제발전 및 생활수준의 향상과 더불어 고령화 사회로의 변천이 가속화 되고 있고, 식생활습관 및 환경오염 등의 원인으로 만성질환자의 증가일로에 있어, 국민건강과 웰빙에 대한 관심이 높아지고 있다. 이와 더불어 새로운 천연물이나 식품의 유효성분으로 건강증진, 질병예방 및 치료제로서의 효과 등에 관한 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. 따라서, 건강유지를 위한 기능성 식품에 대한 소비자의 요구 수준도 매우 높아지고 있다(1).

산소는 대부분 생물에 있어 생체내 에너지를 만드는 과정에서 필수불가결한 분자이지만 호흡과정에서 들어 마신 산소 중 일부(2~3%)는 활성산소라는 유독작용을 하는 물질로 전환되어 생체에 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다(2). 이러한 유해 활성산소는 생체내의 조건에서 뿐만 아니라 환경적인 요소에 의해서도 끊임없이 생성되고 있고, 그 종류에는 superoxide anion radical ( $O_2 \cdot^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot OH$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), singlet oxygen ( $^1O_2$ ), hypochlorite ( $OCl^-$ ) 및 nitric oxide radical ( $NO \cdot$ ) 등이 있으며 이들은 분자 구조적으로 매우 불안정하기 때문에 고분자의 세포성분들을 공격하기 쉽게 되어 산화적 스트레스(oxidative stress)의 환경을 조성하게 된다(3). 즉 활성산소는 산화효소, 식세포 및 금속이온(철, 동 등)에 의해 자동산화 반응과 catecholamine의 산화반응 등 내인적 요인과 햇빛, 담배, 매연, 약물, 방사선 등 외인적 요인에 의해 생성되어 단백질, DNA, 효소 및 T-cell과 같은 면역계를 손상, 각종 질환을 야기 시킨다. 특히 생체막의 구성 성분인 불포화지방산을 공격하여 생성되는 과산화 지질의 축적은 생체기능 장애를 유발시켜 암을 비롯한 뇌졸중, 파킨스병 등의 뇌질환과 심장질환, 동맥경화, 염증, 노화, 자기면역 질환 등의 각종 성인병을 유발하는 것으로 알려져 있다 (4~9).

생체 내에는 활성산소 대한 방어기능을 가지고 있는 항산화 효소인 super oxide dismutase(SOD), catalase 및 glutathione reductase 등이 존재로 활성산소가 제거된다. 즉 각종 세포의 여러 대사과정에서 생성되는 활성산소는 먼저 super oxide dismutase(SOD)에 의해 hydrogen peroxide로 되고 hydrogen peroxide는 catalase와 glutathione peroxidase에 의해  $H_2O$ 로 무독화 된다. 따라서 이러한 산화적 손상으로부터 세포를 보호함으로써 산화적 스트레스에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 치료 효과를 가지는데 과다한 활성산소를 제거하여 생체를 보호할 수 있는 이들 물질들을 항산화활성물질이라고 하는데, 현대인의 복잡한 생활속에서 더욱 효과적이고 편리한 식이성 항산화제의 개발이 절실히 요구되고 있다 (10,11).

식품산업에서 항산화제란 산화에 의해서 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 식품의 변색을 방지하거나 지연시킬 수 있는 기능을 가진 화합물을 총칭하며, 가장 널리 이용되고 있는 항산화제로는 페놀성 화합물로서 인공합성물인 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) 등이 알려져 있고, 이들은 우수한 효과와 저렴한 가격 때문에 tocopherol 이나 비타민 C 보다 많이 사용되어 왔는데 인체에 대한 유해성이 보고되면서 그 사용량(50mg/kg/day)이 제한되어(12,13) 이를 대체할 안전하고 경제적인 천연항산화제 개발이 요구되고 있다(14).

또한 우리 식생활과 밀접한 관계를 갖고 있는 천연물은 항산화, 항균, 항돌연변이, 항암효과 등의 생리활성이 있는 자원으로 주목을 받고 있는데, 노화촉진 및 각종 성인병 발병의 주된 원인으로 활성 산소종(reactive oxygen species)과 자유라디칼(free radical)의 관련성 있음이 밝혀지면서(15,16) 우리가 일상생활에서 섭취하는 식물성 식품이나 생약재에는, 유해한 free radical 제거 효과가 뛰어난 항산화물질들이 여러 가지 존재하는 것으로 보고되고 있다(17~21).

생약재는 우리나라, 중국을 비롯한 동양권에서 전통적으로 질병치료와 예방목적으로 사용되어 왔으며 또한 생약재의 2차대사산물이 생체에 대한 생리활성 효과를 이용한 천연재료로서 경험적으로 가공, 이용되면서 인체에 안전성에 대해서는 대체로 많은 검증연구가 이루어져 오고 있다. 이러한 점에서 복분자는 기능성 식품 소재분야에 광범위하게 활용은 물론 이것에 함유된 생리활성 물질들을 추출, 정제, 재가공 등으로 새로운 식품소재로의 개발이 기대되고 있다(22).

복분자(*Rubus coreanum* Miq.)는 장미과에 속하는 낙엽관목으로 우리나라에서는 황해도 이남지방 산기슭 양지에서 자라는 다년생 식물로 높이가 3m 정도이며 줄기는 흰분이 덮여 있고 갈고리 모양의 가시가 있는 것이 특징이다. 열매는 핵과가 모여서 반달모양의 검은 복과를 형성하고 5-6월에 꽃이 피며 7-8월에 열매가 성숙되어 둥글고 붉은 색으로 익다가 나중에는 흑색으로 완숙된다(23). 원산지로 알려진 중국에서는 일반적으로 미성숙 열매를 증기로 찌서 햇볕에 말려 강장제 등 약용으로 사용하고 있고 일본의 경우 복분자와 유사한 품종을 70여종으로 분류하고 있으며 유럽과 미국 등에서도 *Rubus* 속 식물의 열매를 raspberry류 (red raspberry, purple raspberry, black raspberry)로 통칭하며 이 속에 속하는 식물은 400여종이 넘는다 (24, 25). 우리나라에서는 *Rubus coreanus* Miq.를 기원식물로 복분자 딸기, 장엽복분자딸기, 산딸기, 나무딸기, 단풍딸기, 수리딸기, 굵은 딸기 등의 미성숙 과실을 총칭하며 그 사용법으로는 미숙과를 물에 넣고 달여서 복용하거나 술에 담가

복용하는 것으로 알려져 있다(26). 한방에서는 기를 더하고 몸을 가볍게 하며 백발을 억제하고 오장을 편하게 하며 해산 후 허약을 보하고 속을 덮게 하며 눈을 밝게 하고 간과 신장을 보하며 안색을 좋게 하고 빈뇨를 줄이며 피부를 윤택하게 하고 불임증 치료 등 많은 효능을 가지는 것으로 기록되어 있다(27), 이러한 효능을 지닌 복분자는 과거에 주로 야생하는 것을 채취하여 한약재로 사용했으나 1996년 이후부터 전북 고창지역에 재배가 성공한 후 여러곳에서 재배하고는 있으나, 주산 단지화하여 재배하고 있는 순창, 정읍 등 전북 지역이 국내 복분자 생산량의 80% 이상을 차지하고 있다. 우리 제주지역에서도 감골원 폐원지 및 부적지 대체작목으로 2001년 순창에서 복분자 묘목을 들여와 시범 재배한 것을 시작으로 2004년 현재 98농가 34ha에 재배되고 있어 새로운 작물로 각광을 받고 있다(28).

이러한 복분자에 함유된 기능성물질에 관한 연구로는 줄기에 (-)-epicatechin, (+)-catechin, proanthocyanidin(29), 잎에 tanin과 flavonoid(30), 미숙과에서는 gallic acid, 2,3-(S)-D-glucopyranose 및 sanguin을 동정하였으며(31), quercetin(32), triterpenoids(33, 34) 등이 규명되었다. 복분자 가공에 대한 연구로는 복분자를 이용한 발효주(35), 복분자를 첨가한 멸치발효 액화물 가공식품(36), 유산발효 특성평가(37), 착즙액 첨가 식빵제조(38), 분말첨가 건면제조(39) 등이 있으며 복분자 열매에 생리활성 연구들도 활발하게 이루어지고 있다(40~45).

대부분의 생약재 또는 천연물에 함유되어 있는 여러 가지 생리활성 물질 중에서 가장 대표적인 것은 폴리페놀화합물, 탄닌, flavonoids 또는 스테로이드성 알칼로이드 등이 보고되고 있으며(46~48) 이러한 항산화 효과는 천연물의 종류에 따라 달라지며 추출방법에 따라서도 차이를 나타나는 것으로 알려지고 있다(49).

따라서 본 연구에서는 추출방법에 따른 복분자 열매추출물의 생리활성을 조사하기 위하여, 메탄올 추출, 초임계 이산화탄소 추출 및 효소적 추출방법에 따른 이들 추출물들의 총 폴리페놀함량, 전자공여능(DPPH), superoxide radical, hydrogen peroxide radical, hydroxyl radical 및 nitric oxide radical 소거활성을 측정함으로써, 복분자 열매를 건강기능성 식품의 소재로 활용하기 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

## II. 연구사

### 1. 복분자의 식품학적 활용

장미과 낙엽관목(落葉灌木)에 속하는 복분자(*Rubus coreanum*)의 분포는 일본, 중국, 우리나라 제주도를 포함한 남부지방 및 중부지방의 해발 50~1,000m 지역 산기슭 양지에 자생하며, 다년생 식물로 높이가 3m 정도이며 줄기는 흰분이 덮여 있고 갈고리 모양의 가시가 있는 특징으로 5~6월에 꽃이 피며 7~8월에 열매가 성숙하여 붉은색으로 익다가 흑색으로 완숙되며, 과실을 따는 노력이 많이 드는 것 외에는 생산비가 매우 저렴하여 농가소득에 지대한 공헌을 할 수 있는 작목으로(22, 50, 51) 특히, 우리 제주지역에서는 감귤원 폐원지 및 부적지 대체작목으로 2001년 순창에서 복분자 묘를 들여와 시범 재배한 것을 시작으로 현재 98농가 34ha에 재배되고 있어 새로운 작물로 각광을 받고 있으며(28), 복분자의 용도로는 식용 및 약용 등으로 사용되고 있으며, 가공에 대한 연구로는 복분자를 이용한 발효주(35), 복분자를 첨가한 멸치발효 액화물 가공식품(36), 유산발효 특성평가(37), 착즙액 첨가 식빵제조(38), 분말첨가 건면제조(39), 복분자를 이용한 주류의 개발(52), 청량 음료원료의 밀원 자원(53)으로 개발 다양한 식품산업에 이용되고 있다.

### 2. 복분자의 식품학적 특성 및 기능성

복분자의 원산지인 중국에서는 일반적으로 미성숙 열매를 증기로 찌서 햇볕에 말려 강장제 등 약용으로 이용하며, 일본의 경우 복분자와 유사한 품종을 70여종으로 분류하고 있으며, 유럽과 미국 등에서도 *Rubus* 속 식물의 열매를 raspberry류(red raspberry, purple raspberry, black raspberry)로 통칭하며 이 속에 속하는 식물은 400여종이 넘는다(24, 37). 우리나라에서는 *Rubus coreanus* Miq.를 기원식물로 복분자 딸기, 장엽복분자딸기, 산딸기, 나무딸기, 단풍딸기, 수리딸기, 굵은 딸기 등의 미성숙 과실을 총칭하며 그 사용법으로는 미숙과를 물에 넣고 달여서 복용하거나 술에 담가 복용하는 것으로 알려져 있다(39).

한방에서는 기를 더하고 몸을 가볍게 하며 백발을 억제하고 오장을 편하게 하며 해산 후 허약을 보하고 속을 덩게 하며 눈을 밝게 하고 간과 신장을 보하며 안색을 좋게 하고 빈뇨를 줄이며 피부를 윤택하게 하고 불임증 치료 등 많은 효능을 가지는 것으로 기록되어 있다(27).

복분자에 주요성분으로는 coreanoside F<sub>1</sub>, suavissimoside, nigaichigoside F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> 등이 있는 것으로 보고되고 있다(54, 55).

복분자 줄기로부터 2종의 flavan-3-ol과 1종의 proanthocyanidin 및 1종의 ellagitannin을 분리하였고(56), 앞에서는 flavonoid로서 kaempferol, quercetin, quercetin 3-O-β-D-glucuronide의 sodium salt, quercetin 3-O-β-D-glucuronide의 sodium carboxylate 및 ellagitannin 인 ellagic acid, sanguin H-5 등을 분리 연구 보고하였다(57).

미숙과 열매에서는 가수분해성 탄닌으로서 1종의 gallotannin과 3종의 ellagitannin을 분리 보고하였다(58).

이화학 성상과 spectral data를 토대로 gallic acid, 2,3-(S)-HHDP-D-glucopyranose, sanguin H-4 및 Sanguin H-6을 보고 하였고, 복분자의 경우 효소적 지질산화에 대해서도 강한 억제활성을 나타내며, 그 성분으로는 gallic acid 등의 페놀 화합물이 확인되었다(45, 59).

Hepatitis B virus 단백질 바이러스 복제활성에 대한 억제효과(60)와 복분자에 함유되어 있는 페놀성 화합물은 다른 식품계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 phenolic hydroxy radical를 가지고 있어 단백질 등의 거대분자와 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과, 항균성, 아질산염 소거능 등의 생리활성 기능이 있는 것으로 보고되어지고 있다(56).

### 3. 천연물의 항산화 및 항균 성분에 대한 연구 동향

자연계에 천연적으로 존재, 분포되어 있는 동물이나 식물류 중에는 생체를 조절하는 기능을 가지고 성분이 함유된 식품이 많이 있다는 것이 최근 연구에 의해 밝혀짐에 따라 이에 관계된 기능성소재의 발굴 및 생리활성물질 규명에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 천연물질 중에는 산화를 방지하는 기능을 가진 물질이 상당수 존재하는데 가장 주목받고 있는 것은 생약 중의 페놀성 물질인데 그 이유는 이 페놀성 물질이 항산화성을 가진 대표적인 물질로 보고 있기 때문이다(61, 62).

일반적으로 유지를 많이 함유한 식물종자에는 항산화 물질이 함유되어 있다고 알려져 있는데, 참깨 밖에는 sesamol, samolinol, sesaminol 등이 함유되어 항산화 효과가 있음이 보고된 바 있다(63).

더덕(64), 녹차(65, 66), 알로에(67), 오미자(68), 양파(69), 식물성 천연물질(70) 해조류(71), 그리고 생약재(72) 등에서 그 항산화성이 검증되었다.

현재까지 알려진 천연 항산화 물질로는 아스코브르산, 토코페롤류, 플라보노이드와 그 유도체(73), 갈변반응 생성물, 아미노산 및 단백질 등이 알려져 있다(74).

이와 더불어 최근 항균효과를 나타내고 있는 천연식물에 대한 연구도 꾸준히 진행되어 왔는데, 녹차(75), 포도(76), 계피(77), 손바닥 선인장(78) 등이 대표적이며, 이러한 식품들은 대부분 항산화 및 항균효과를 나타내고 있으며 각 식품에 따라 정도의 차이가 있어 특별히 좋은 효과를 보이는 것은 항균제의 재료로서 활용되고 있다(79).

Farag 등(80)은 천연 항산화제로써 가장 많이 연구된 각종 허브류들의 정유성분을 추출하여 기본 linoleic acid에 대한 항산화효과를 시험한 결과 caraway > sage > cumin > rosemary > thyme > clove 순 이었다고 하였으며, thyme과 clove가 면실유에 대하여 산화 억제 효과가 있다고 보고하였다.

김(81)은 허브류 3종을 용매별로 추출하여 항산화 및 항균효과에 대하여 실험한 결과 lavender, applemint, rosemary의 methanol추출물이 항산화 효과가 있었으며, 이 중 가장 높은 항산화력을 나타낸 rosemary methanol추출물은 *Salmonella serratia*에서 항생제인 tetracyclin과 유사한 heavy inhibition의 항균력이 있음을 보고하였다.

Ramarathnam 등(82)은 왕겨의 methanol추출물에서 C-glycosylflavonoid 중 isovitexin은  $\alpha$ -tocopherol과 같은 강도의 항산화 효과가 있다고 하였다. 유 등(83)은 고추 과피 추출물의 마가린에 대한 항산화 효과를 보고하였고, 한 등(84)은 갖과 겨자의 methanol추출물이 항산화 효과가 있음을 보고하였다.

김과 안(85)은 생강 추출물을 대두와 면실유에 첨가하여 저장 및 가열 중의 항산화력을 측정된 결과 BHT, tocopherol보다 우수한 항산화력을 보고하였으며, 또한 이와 안(86)은 생강에서 추출한 6-gingerol의 항산화력을 보고하였다.

박 등(71)은 12종의 식용 해조류 중 김, 미역, 다시마 등에서 항산화성을, 그 외 오미자(87), 칩뿌리(88, 89)에서도 항산화성이 있음을 보고 하였다. 또한 약용식물 중에서 방부 또는 살균효과가 있어 예로부터 민간에서 식품에 이용되어 왔으며, 그 안전성이 확보된 식물과 생약재를 대상으로 항균성과 항산화성을 조사하여 보고한 바 있다(90).

Hirosue 등(91)은 일본약국방에 수록된 24종의 생약에 대하여 여러 가지 용매 추출물의 항산화력을 검토한 결과 생강, 감초, 정향 및 창출 추출물들이 강한 항산화력을 가지고 있다고 보고하였다.

김 등(92)은 우리나라에서 재배되고 있는 생약 추출물의 항산화효과를 검토한 결과 황금, 목단과 백문동의 methylene chloride 추출물이 항산화효과가 있다고 보고

하였다.

이 등(93)은 패모, 어성초, 쇠비름 및 들깨박의 에탄올 추출물의 항산화 효과에 쇠비름 추출물이 돈지에 대한 산화억제 효과가 가장 높았다고 하였으며, 서(94)는 한국산 황기와 중국산 황기 추출물이 대두유, 팥유에 대하여 항은 저장 시나 가열시 모두, 그리고 홍화씨유에 대하여는 가열 산화 시에 BHT와 같거나 보다 우수한 항산화 효과를 보였으며 특히, 농도가 높을수록 더 좋은 항산화효과를 보였다고 하였다.

최 등(95)은 95종의 식용 혹은 약용식물로부터 120종의 추출물을 얻었는데, 그중 붉나무 추출물이 팥유 및 돈지의 유통기간을 연장시켰다고 보고하였다.

한(96)은 포도씨의 각종 추출물이 옥배유에 대한 항산화 및 항균효과가 있는 것으로 나타났으며, 특히 에탄올과 부탄올 추출물이 가장 안정한 항산화 효과를 나타내었으며, 식품 부패 및 병원성 미생물인 6종의 균주에 대해서도 높은 항균력이 있었다고 보고하였다.



### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 실험재료

##### 1) 실험재료

복분자(*Rubus coreanus* Miq.) 열매를 제주특별자치도 성산읍 삼달리(주)제주농산에서 제공받아 -40℃로 급속 냉동시킨 후 24시간 진공 동결 건조하여 사용하였다.

##### 2) 추출효소 및 시약

본 실험에 사용한 당 분해효소(AMG, Celluclast, Termaryl, Viscozyme, Ultraflo, Pectinex)와 단백질 분해효소(Protamex, Kojizyme, Neutrase,

Flavourzyme, Alcalase)는 Novo사(Novozymes Nordisk, Bagsvaed, Denmark)에서 구입하여 사용하였으며, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2-deoxyribose, peroxidase, thiobarbituric acid(TBA), 2,3-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin)-6-sulfonic acid(ABTS), trichloroacetic acid(TCA), butylate hydroxytoluene(BHT),  $\alpha$ -tocopherol, nitro blue tetrazolium salt(NBT), xanthine, xanthine oxidase, Folin-Ciocalteu reagent, sodium nitroprusside, sulfanilic acid 등은 Sigma 사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 Ethylenediamine tetra acetic acid(EDTA), peroxidase, deoxyribose, 등은 Fluka 사(Buchs, Switzerland)의 것을, 그 외 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다.

#### 2. 실험방법

##### 1) 일반성분 분석

복분자 열매의 일반성분은 AOAC법(97)에 따라 수분함량은 105℃ 상압건조법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조단백질은 Kjeldahl법, 조탄수화물은 phenol-sulfuric acid 법, 조회분은 550℃ 건식회화법으로 분석하였다.

## 2) 효소적 추출물의 조제

효소적 추출은 Heo 등(98)의 방법으로 가수분해하였다. 즉 동결 건조한 복분자 열매를 IK-WERKE, DE/M20 IKA-Universal Mill 분쇄기를 이용하여 1.0 mesh size로 곱게 간 후 시료 각 1g를 100mL의 증류수와 혼합한 후 100 $\mu$ L의 당 분해효소와 단백질분해효소를 첨가하였다. 효소적 가수분해반응물은 24시간 동안 최적 조건하에서(Table 1) 효소반응을 통해 추출한 후 각 효소 추출물을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 잔사를 제거한 후 상층액을 취하고 여과하여 이를 효소적 추출 시료로 하였다(Fig. 1).

또한 효소에 의한 기능성 물질 추출법의 원리는 Fig. 2와 같다.

본 실험에 사용된 탄수화물 분해효소와 단백질 분해효소의 특성 및 반응조건은 Table 1과 같다.

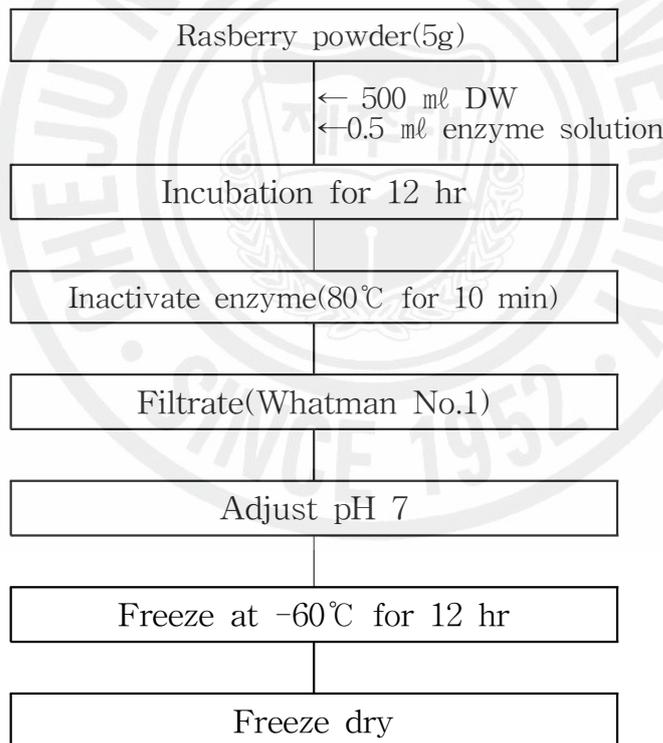


Fig. 1. Schematic diagram of enzymatic extraction from *Rubus coreanus* Miq.

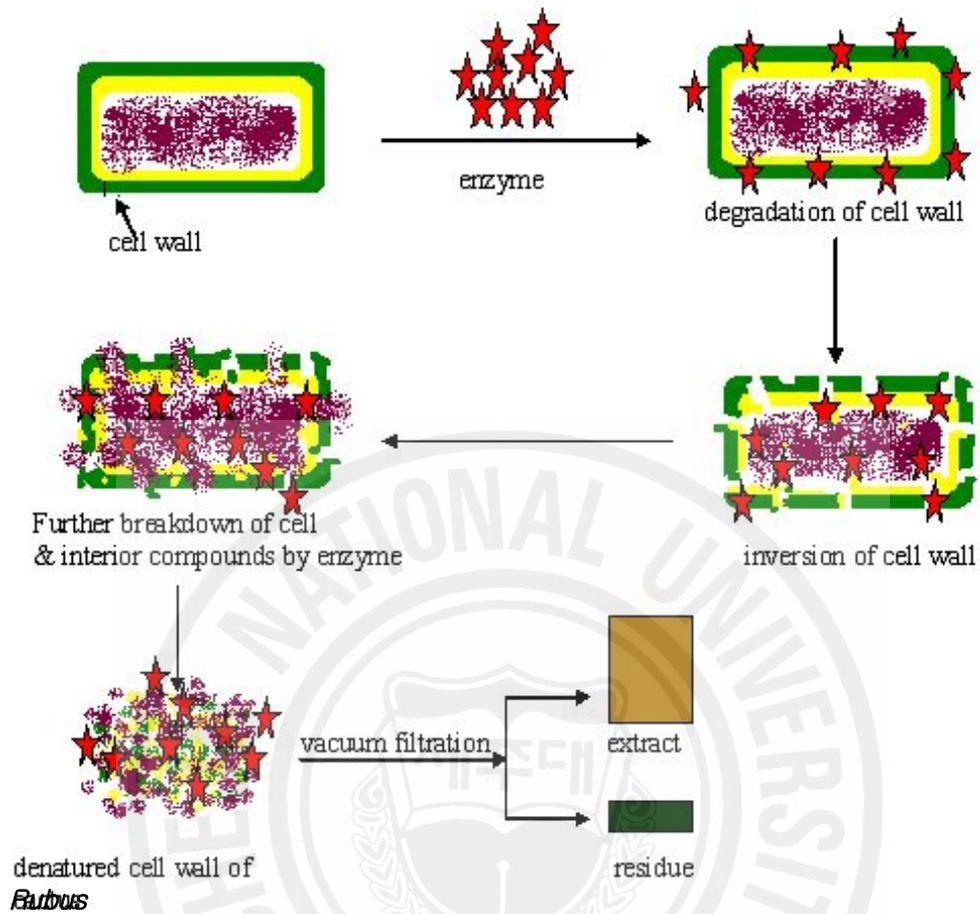


Fig. 2. Schematic diagram of the enzymatic extraction from *Rubus coreanun* Miq.

Table 1. Characteristics of different carbohydrases and proteases in hydrolysis process

Enzyme	Optimal		Characteristics
	pH	T(°C)	
AMG	4.5	60	Hydrolyzes 1,4- and 1,6- linkages in liquefied starch
Celluclast	4.5	60	Catalyzes the breakdown of cellulose into glucose, cellobiose and higher glucose polymer
Termamyl	6.0	60	Hydrolyses 1,4-glucosidic linkages in amylose and amylopectin.
Ultraflo	7.0	60	Breakdown of $\alpha$ -glucans, pentosans and other gums
Viscozyme	4.5	50	Ability to liberate bound materials and to gradenon-sratchpolysaccharides
Protamex	6.0	40	Production of non-bitter protein hydrolysis
Neutrase	6.0	50	Endopeptidase activies
Alcalase	8.0	50	Endopeptidase activies
Kojizyme	6.0	40	Amino- and carboxy peptidase activies
Flavourzyme	7.0	50	Endoprotease and exopeptidase activies

### 3) 메탄올 추출물의 조제

복분자열매를 동결건조한 후 곱게 갈아 양구플라스크에 100g를 취하고 70% 메탄올 1000mL를 가하여 혼합한 후 40℃의 shaking incubator에서 3시간 추출한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 잔사를 제거한 상층액을 취하였다. 이 상층액을 감압 여과하여 이를 메탄올 추출시료로 하였다(Fig. 3).

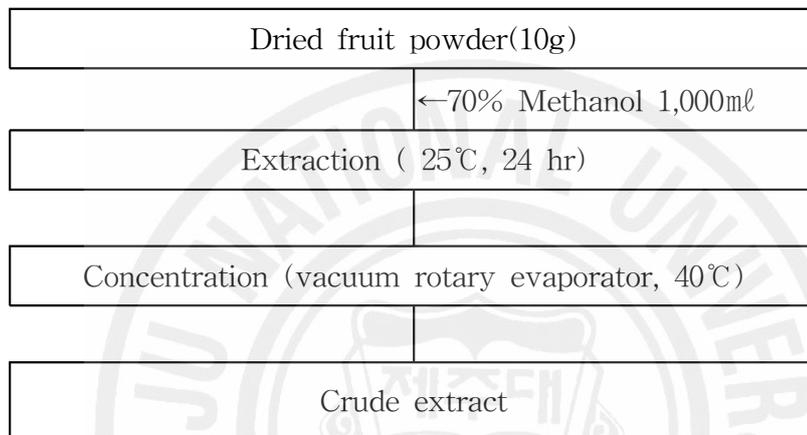


Fig. 3. Schematic diagram of methanolic extraction form *Rubus coreanun* Miq.

### 4) 초임계 이산화탄소추출

초임계 이산화탄소에 의한 복분자 열매의 추출은 임 등(99)의 방법으로 수행하였다. 실험에 사용한 초임계 이산화탄소 유체추출장치(Autoclave Engineers, 08U-06-60-FS, USA)는 최대압력이 5,000psig까지 사용가능한 연속 유통형이다. 300mL의 추출조에 건조 복분자 15g을 주입한 후 탄산가스는 체크밸브를 거쳐 고압 피스톤펌프에 의해 가압되며 이때 탄산가스 주입부의 공동화 현상을 방지하기 위하여 -30℃ 냉각조를 설치하여 이산화탄소의 기화를 방지하였다. 가압된 유체는 역압 조절기에 의해 350기압으로 조절되며 압력계에 의해 압력이 측정되고 추출조로 이송된다. 이 추출조의 내용적은 300mL이며, 온도는 비례형 온도조절기로 40℃로 조절되며, 열전도도계에 의해 온도가 측정된다.

일정압력과 온도에서 정상상태를 유지시킨 후 추출조 출구에서 나가는 가압의 혼

합물은 약 100℃로 가온 조절된 metering valve를 통하여 대기압으로 분리조에서 감압, 팽창되면서 탄산가스와 추출물로 분리된다. 이때 통과되는 탄산가스는 rotameter에 의해 측정되고 적산부피는 totalizer에 의해 측정된 후 대기압으로 방출된다.

이와 같은 방법으로 복분자 열매의 초임계 이산화탄소 유체추출은 40℃, 350kg/cm<sup>2</sup> 기압으로 30분, 60분 및 120분간 추출하였으며, 추출이 끝난 후 추출조의 하단 밸브를 통하여 추출액을 각각 수집하고 GF/C(Advantec) 여지로 감압 여과하여 이를 초임계 이산화탄소 추출시료로 하였다.

#### 5) 총 polyphenol 함량

복분자 열매의 총 polyphenol 함량 측정은 Chandler와 Dodds(100)의 방법에 의하여 측정하였다. 각각의 추출물 1mL에 95% 에탄올 용액 1mL와 증류수 5mL를 넣어 혼합한 후 여기에 50% Folin-Ciocalteu reagent(Sigma chemical, St. Luis, MO) 0.5mL를 가하여 암실에서 1시간 동안 반응시킨 후 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 표준물질로 gallic acid를 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준곡선으로부터 총 polyphenol 함량으로 환산하였다.

#### 6) 항산화 효과

##### (1) DPPH radical 소거활성 측정

복분자 열매 각 추출물의 free radical 소거활성은 Blois(101)의 방법을 변형하여 측정하였다.

에탄올에 용해시킨  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 2.9mL에 각 추출물 0.1mL를 넣고 혼합하여 30분간 반응시킨 후 520nm에서 흡광도를 측정 하였다(Fig 4).

DPPH free radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

DPPH free radical 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{대조구흡광도} - \text{시료흡광도}) / \text{대조구흡광도}] \times 100$$

❖ DPPH radical scavenging activity(Blois, 1985)

EtOH extract(50 $\mu$ l)+150  $\mu$ M DPPH(195 $\mu$ l)  
 ↓  
 Mixed for 1 min  
 ↓  
 Incubated at room temp. for 30 min  
 ↓  
 Measured absorbance at 520 nm on a microplate reader

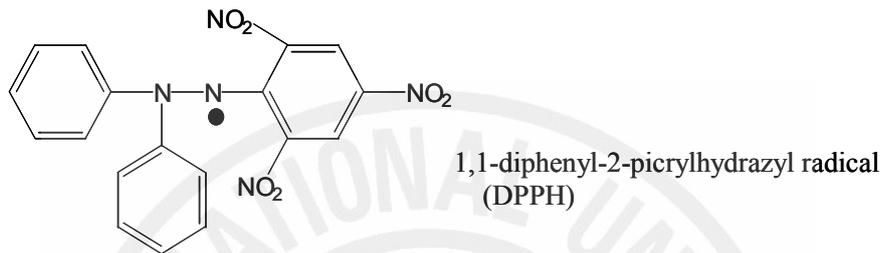


Fig 4. Schematic diagram of DPPH radical scavenging assay

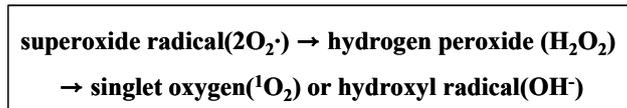
(2) Superoxide anion radical 소거활성

Superoxide anion radical( $O_2^-$ ) 소거활성은 Nagai 등(102)의 방법에 따라 0.05M  $Na_2CO_3$  buffer(pH 10.5)에 3mM xanthine 20 $\mu$ l, 3mM EDTA 0.02ml, 0.15% bovine serum albumin 20 $\mu$ l, 0.75mM NBT 20 $\mu$ l의 혼합용액에 시료 20 $\mu$ l를 넣어 25 $^{\circ}C$ 의 incubator에서 10분 반응한 후, 6mM의 xanthine oxidase(XOD) 100  $\mu$ l를 첨가하여 25 $^{\circ}C$ 의 incubator에서 20분 반응한 후, 6mM의  $CuCl_2$  0.02 ml를 첨가하여 560nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig 5).

Superoxide anion radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

Superoxide anion radical 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{대조구 흡광도} - \text{시료 흡광도}) / \text{대조구 흡광도}] \times 100$$



**Assay mixture 495  $\mu\ell$**   
 ↓ **Add. 5  $\mu\ell$  xanthine oxidase (reaction)**  
 ↓ **after 5 min**  
**Measured absorbance at 560 nm**

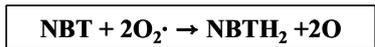


Fig 5. Schematic diagram of superoxide anion radical scavenging assay

### (3) Hydrogen peroxide 소거활성

복분자 열매 각각의 추출물에 대한 hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 소거 활성 측정은 Müller(103)의 방법에 따라 각각의 추출물 100 $\mu\text{L}$ 를 96 microwell plate에 넣어 혼합시켰다. 여기에 20 $\mu\text{L}$ 의 hydrogen peroxide를 첨가시키고 37 $^\circ\text{C}$ 의 incubator에서 5분간 반응시켰다.

반응이 끝난 후, 1.25mM ABTS와 peroxidase(1 unit/mL)를 각각 30 $\mu\ell$ 를 첨가하여 최종적으로 37 $^\circ\text{C}$ 의 incubator에서 10분 반응시킨 후 ELISA reader로 405nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig 6).

Hydrogen peroxide 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

Hydrogen peroxide 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{대조구 흡광도} - \text{시료 흡광도}) / \text{대조구 흡광도}] \times 100$$

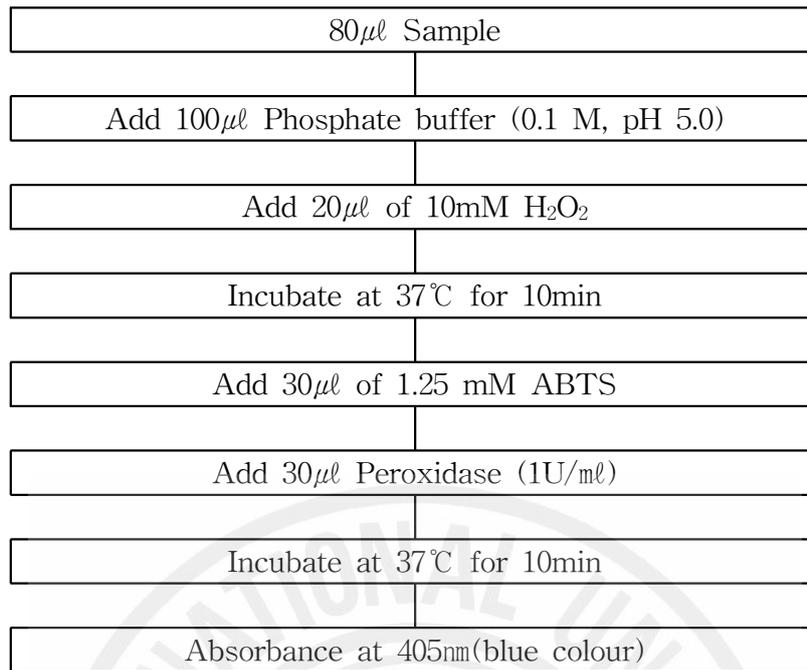


Fig. 6. Schematic diagram of hydrogen peroxide scavenging assay

(4) Hydroxyl radical 소거활성

복분자 열매 각 추출물의 hydroxyl radical 소거활성은 Chung 등의 방법(104)을 변형하여 측정하였다. 즉 hydroxyl radical은  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 의 존재하에서 Fenton 반응으로 생성시켰다. 반응용액은 10mM  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  용액, 10mM EDTA 용액과 10mM 2-dexoyribose 용액을 각각 200µl를 첨가한 후 각각의 추출물 200µl와 0.1M phosphate buffer 용액(pH 7.4) 1ml를 넣어 혼합시킨 후 총 부피가 1.8ml가 되도록 조절하였다.

반응용액에 10mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  200µl를 넣어 37°C에서 4시간 동안 반응을 시킨 후 2.8% trichloroacetic acid와 thiobarbituric acid를 각각 1 ml씩 첨가시키고 100°C 끓는 물에서 10분간 발색시킨 후 532nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig 8).

Hydrogen peroxide 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

Hydroxyl radical 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{대조구흡광도} - \text{시료흡광도}) / \text{대조구흡광도}] \times 100$$

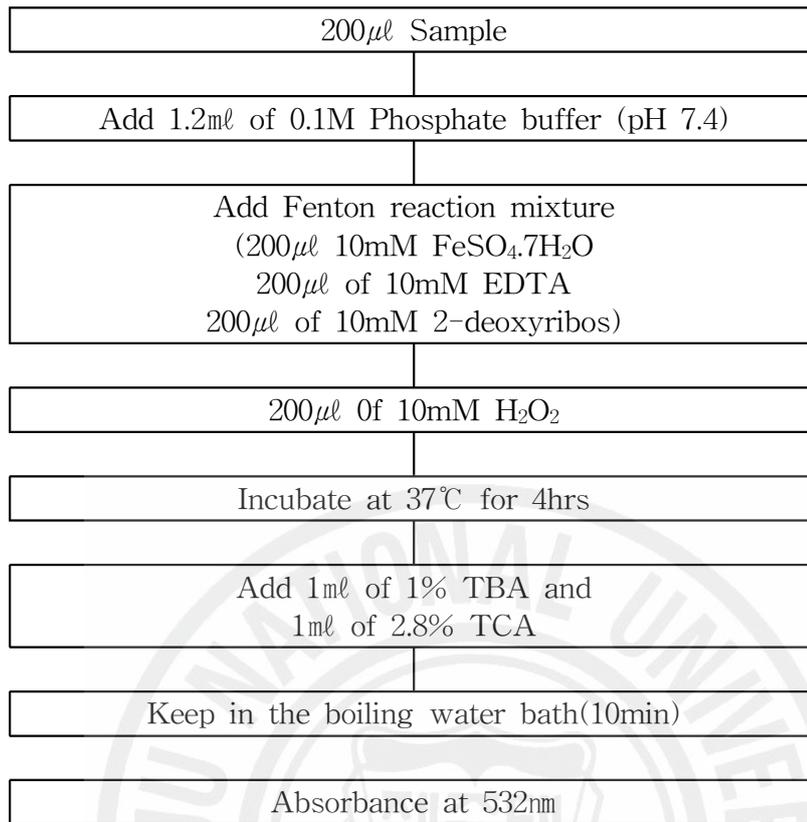


Fig. 7. Schematic diagram of hydroxyl radical scavenging assay

(5) Nitric oxide radical 소거활성

자연적으로 nitric oxide radical( $\text{NO}\cdot$ )를 생성하는 물질인 sodium nitroprusside(SNP)를 사용하여 복분자열매의 추출물의 NO 소거활성을 측정하였다(105). 즉 시료 0.5ml에 10mM sodium nitroprusside(SNP) 2ml와 pH 7.4(0.01M) phosphate buffer를 첨가하여 25°C의 incubator에서 150분 반응한 후 반응물 중 0.5 ml를 취하여 1ml의 sulfanilic acid(0.03% in 20% glacial acetic acid)와 혼합한 후 5분간 반응시켰다. 그 다음 Naphthylethylenediamine dihydrochloride(0.1%)를 1ml 첨가하고 실온에서 30분 반응시킨 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig 8).

Nitric oxide radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

Nitric oxide radical 소거활성(%)

$$= [1 - (\text{대조구흡광도} - \text{시료흡광도}) / \text{대조구흡광도}] \times 100$$

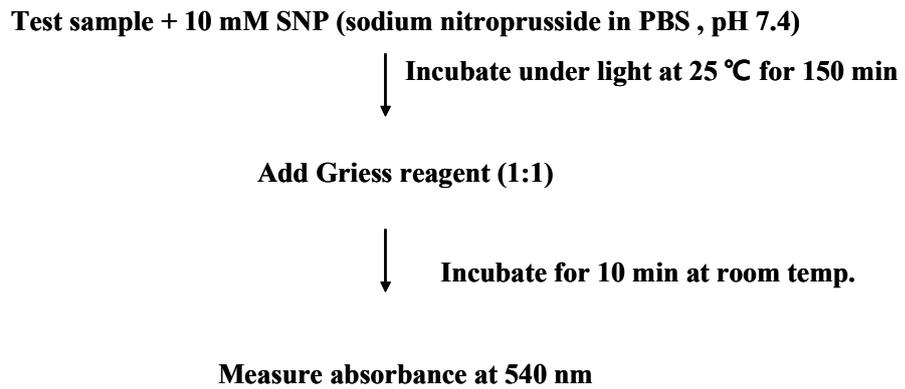
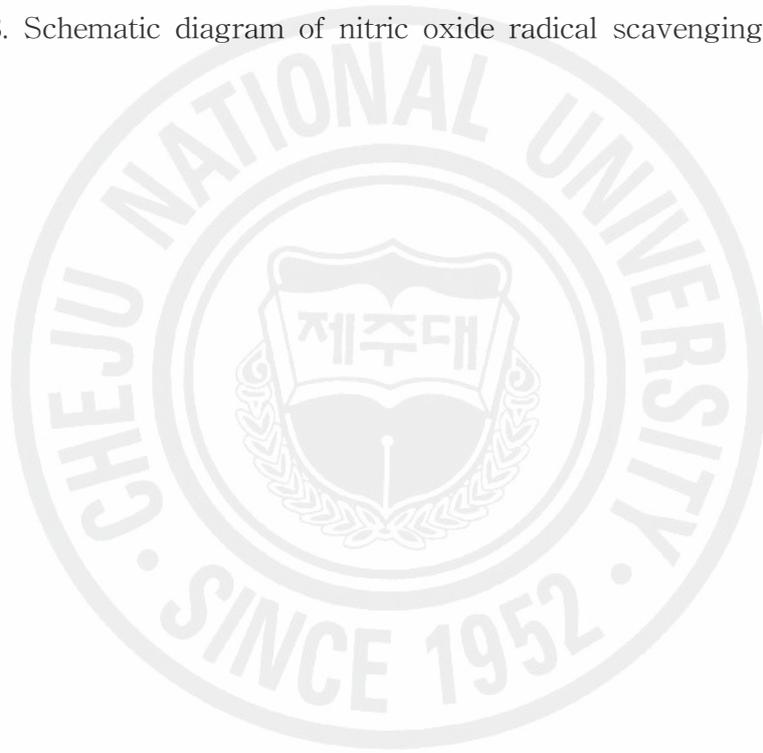


Fig. 8. Schematic diagram of nitric oxide radical scavenging assay



## IV. 결과 및 고찰

### 1. 일반성분

복분자 열매의 일반성분 조성은 Table 2과 같다. 복분자 열매의 수분함량은 74.3% 이었고 조지방이 11.6%, 조단백질 6.1%이었으며, 탄수화물은 3.1%이었다.

Table 2. Approximate chemical composition of *Rubus coreanus* Miq. (wet base, %)

Moisture	Crude ash	Crude lipid	Crude protein	Crude carbohydrate
74.3	4.9	11.6	6.1	3.1

### 2. 추출수율

복분자 열매의 각 추출물에 대한 추출수율은 Table 3에 나타내었다. 효소적 추출물의 추출수율은 4.49~5.43%, 초임계 이산화탄소 추출물의 추출수율은 5.25~8.92%로 추출시간이 길어질수록 증가하였으며, 70% 메탄올 추출물은 10.12%로 추출물 중 가장 높은 추출수율을 보였다.

도 등(106)은 복분자 열매의 물 및 에탄올 추출물의 수율은 각각 2.5% 및 1.7%라 하였으며, 김 등(107)은 에탄올 추출물 1.02%, 이와 도(26)는 60% 에탄올 추출물의 추출수율은 9.93%라 하였다.

Table 3. Extraction yields of *Rubus coreanus* Miq.

Sample		Extraction yield(%)
Carbohydrases	Viscozyme	4.54
	Celluclast	4.49
	AMG	4.56
	Termamyl	5.23
	Ultraflo	5.22
Proteases	Protamex	5.16
	Kojizyme	5.03
	Neutrase	5.43
	Flavourzyme	4.75
	Alcalase	4.56
Supercritical carbon dioxide	30 min	5.25
	60 min	6.91
	120 min	8.92
70% methanol		10.12

The values are averages of triplicate experiments.

### 3. 추출물의 총 폴리페놀 함량

복분자 열매 각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Table 4에 나타내었다. 각 추출물 중의 총 폴리페놀 함량은 70% 메탄올 추출물에서 2,409mg/100g으로 가장 높았다. 초임계 이산화탄소 추출물 중의 총 폴리페놀 함량은 120분 추출 했을 때 1,605mg/100g으로 그 함량이 가장 높았으며, 추출시간이 길어질수록 그 함량이 증가하였다. 한편 효소적 추출물인 경우 606.5~783.9 mg/100g이었으며 이 중 Celluclast로 추출했을 때

가장 높은 함량을 보였으며, 탄수화물 분해효소와 단백질효소간의 추출물에 대한 폴리페놀 함량은 큰 차이가 없었다.

조 등(108)에 의하면 복분자 열매의 총 폴리페놀함량은 열수추출물 및 60%에탄올 추출물에서 각각 41.4mg/g 및 41.3mg/g, 김 등(107)은 에탄올 추출물에서 58.4mg/g, 전 등(109)은 80%메탄올로 추출했을 때 360.93mg/g이라 하였으며, 차 등(24)은 복분자 열매 미숙과와 완숙과에서 75% 아세톤추출물 5.06~5.87%, 80% 메탄올추출물에서 3.21~5.02%의 높은 폴리페놀함량을 보고하였다.

여러 가지 식물성 식품에 다량 존재하는 것으로 알려진 phytochemical 중 폴리페놀화합물이나 플라보노이드류는 천연항산화제로서 작용할 수 있으며, 특히 폴리페놀성 물질은 식물계에 함유되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가질 뿐만 아니라 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 및 기타 거대분자들과 쉽게 결합하는 성질을 가지며 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려지고 있다(110).

Table 4. Polyphenolic contents in enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts of *Rubus coreanus* Miq.

	Sample	Polyphenol contents (mg/100g)
Carbohydrases	Viscozyme	606
	Celluclast	783
	AMG	781
	Termamyl	700
	Ultaraflo	749
Proteases	Protamex	675
	Kojizyme	680
	Neutrase	689
	Flavourzyme	738
	Alcalase	755
Supercritical carbon dioxide	30 min	1,316
	60 min	1,573
	120 min	1,605
70% methanol		2,409

The values are averages of triplicate experiments.

#### 4. DPPH radical 소거활성

복분자 열매 각 추출물별 DPPH free radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 5에 나타내었다. 복분자 열매 각추출물의 DPPH에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 효소적 추출물에서 3520~4800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 초임계 이산화탄소 추출물 310~480  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 70% 메탄올 490  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 대조구인 BHT의 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와  $\alpha$ -tocopherol의 70  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 비해서 매우 낮은 활성을 보였다.

조 등(108)에 의하면 복분자 열매 60% 에탄올 추출물에서 94%, 열수추출물에서 91%의 높은 DPPH radical 소거활성이 있다고 하였으며 김 등(107)은 에탄올 추출물에서 80% 소거활성이 있다고 하였다. 정 등(40)은 복분자의 건조방법 및 추출용매에 DPPH radical 소거활성 연구에서 동결건조, 적외선건조, 양건품 순으로 소거능이 높다고 하였으며 각 건조물 추출용매별 소거능은 물보다 에탄올추출물에서 높다고 하였는데 이러한 결과는 총페놀성 물질과 상호밀접한 관계가 있다고 하였다. 김 등(42)은 복분자 열매의 항산화활성은 완숙보다 미숙 복분자가 높다고 보고 한 바 있다.

천연물에서 항산화 활성 탐색에 가장 많이 이용되고 있는 DPPH 소거활성에 대한 연구는 생약제를 중심으로 이루어졌는데, 심 등(114)은 도토리가루 에탄올 및 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>값은 각각 21.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$  및 45.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이라 하였으며, 김 등(112)은 향신료 5종(고추냉이, 겨자, 계피, 후추)에서 4.0~346.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 암대극 에탄올추출물에서 22.22 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (113), 연근 용매 추출물에서 15.69~54.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (114), 연잎의 용매 추출물 4~85.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (115), 모과 용매추출물에서 27.3~70.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (116), 블루베리 효소추출물에서 0.046~0.113 $\text{mg}/\text{mL}$  (117), 살구 70%에탄올 추출물에서 43.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (118), 단호박 메탄올 추출물에서 1.89 $\text{mg}/\text{mL}$ , 늙은 호박은 3.82 $\text{mg}/\text{mL}$ 이라 하였다(119).

유 등(120)은 피자두들의 아세톤추출물 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 완숙과에서 DHHP radical 소거활성은 47.2~61.3%, 미숙과에서 89.88~98.88%로 소거활성이 높다고 하였으며, 차 등(121)은 오디 60% 에탄올 추출물에서 81% 소거활성을, 배 등(122)은 비파 물추출물에서 70% 소거활성이, 김 등(123)은 산수유에서 94.6%, 맥문동 55.1%, 선인장 39.8%의 소거활성을, 김 등(124)은 구기자 50% 에탄올 추출물에서 66.97% 소거활성을, 김 등(125)은 오미자 85.7%, 목단 80.4%, 작약 86.6%로 전자공여능이 높다고 하였으며, 이 등(126)은 80% 메탄올 추출물 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 울릉도산 산채류중 섬고사리 100%, 농개승마 98.5%, 울릉미역취 100%의 높은 활성을, 김 등(127)은 향신료에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성은 정향 92.9%, 계

피 89.9%, 겨자 81.8%, 후추 77.6%, 고추냉이 66%라 하였다. 김 등(128)은 모시대에서 37.15-55.63%의 소거활성을, 신 등(129)은 홍조류 4종(갈래곰보, 진두발, 꼬시래기, 돌가사리)의 DPPH radical 소거활성은 33.33~70.52%라 하였다.

지방의 산화과정에서 생성되는 free radical들은 체세포의 노화촉진, 체세포의 방어기전 저하 등의 세포활성을 저해하기 때문에 이들 free radical들을 안정화시킴으로서 체세포가 보호되는데, 전자공여작용은 활성라디칼에 전자를 공여하여 연쇄반응을 중단시키고 식품내 지질산화억제나 인체 내에서 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되고 있다(130). 비교적 안정한 free radical인 DPPH는 ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족 화합물 등에 의해 환원되어 짙은 보라색이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하는데, 이러한 DPPH는 전자 또는 수소를 받아들이는 안정한 반자성분자(diamagnetic molecule)로 항산화제(AH) 존재시 항산화 활성을 지닌 물질로부터 수소를 받아 DPPH는 다음과 같이 환원된다(131).



Mahoney와 Graf 등(132)은 이러한 전자공여능은 유지의 자동산화 과정중에서 생성되는  $\text{ROO} \cdot$ ,  $\text{R} \cdot$ ,  $\text{RO} \cdot$  등에 수소 또는 전자를 주는 것으로 환원력이 중요한 작용을 하지만 항산화제의 일반적인 작용을 전자 공여능 만으로 설명할 수 없다고 하였으며 항산화물질의 전자공여능을 측정할때는 DPPH법이 편리하다고 하였다.

DPPH radical 소거활성(전자공여능)은 phenolic acids, flavonoids 및 기타 phenol 성 물질에 대한 항산화작용의 지표라 하였으며 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였다(133).

본 연구에서도 총 폴리페놀 함량이 높은 초임계 이산화탄소 추출물과 70% 메탄올추출물에서 전자공여활성이 매우 높은 것으로 사료 된다.

결과적으로 복분자 열매 추출물을 DPPH 소거의 목적으로한 산업적 활용을 고려해볼 때 초임계 이산화탄소 추출물에서는 효소 추출물 들 보다 약 10배 이상의 효과를 보이는 것이 있었다. 따라서 BHT 등과 같은 합성 산화제들의 유해성 논란이 커지고 천연물 유래의 것 및 인체 안전성 높은 첨가물에 대한 선호도가 더욱 고조되는 시점에서, 이들 초임계 이산화탄소 추출법을 활용한 DPPH 소거의 목적의 제품개발도 고려해볼만 하다고 생각된다.

Table 5. DPPH radical scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.

Sample		DPPH scavenging activity (IC <sub>50</sub> , µg/mL)
Carbohydrases	Viscozyme	3,520
	Celluclast	4,510
	AMG	3,770
	Termamyl	3,600
	Ultaraflor	4,510
Proteases	Protamex	4,800
	Kojizyme	3,510
	Neutrase	3,550
	Flavourzyme	3,740
	Alcalase	4,750
Supercritical carbon dioxide	30 min	480
	60 min	360
	120 min	310
70% methanol		490
BHT		40
α-tocopherol		70

IC<sub>50</sub> ( µg/mL) values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

## 5. Superoxide anion( $O_2^- \cdot$ ) 소거활성

복분자 열매의 각 추출물에 대한 superoxide anion( $O_2^- \cdot$ ) 소거활성을 측정한 결과는 Table 6에 나타내었다. superoxide anion 소거활성에 대한 각 추출물의  $IC_{50}$  값은 효소적 추출물에서 710~3450  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 초임계 이산화탄소 추출물 80~380  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 70% 메탄올 추출물에서 240  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 높은 소거활성을 보였으나, 전체적으로 대조구인 합성 산화제 BHT(180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )보다는 낮은 활성을 보였다. 그러나 대조구 중에서도 천연항산화제인  $\alpha$ -tocopherol의 1,600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 보다는 초임계 이산화탄소 추출물 과 메탄올 추출물에서는 약 4- 20배의 높은 활성을 보였다.

홍 등(134)은 약썩의 용매분획물(헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 물)의  $IC_{50}$  값은 26.47~74.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 암대극 26.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (113), 블루베리 효소추출물의  $IC_{50}$ 는 0.89-3.77  $\text{mg}/\text{mL}$ 라 하였다(117).

김 등(136)은 약용식물을 물로 추출한 후 superoxide anion 소거활성을 조사한 결과 5 $\text{mg}/\text{mL}$  농도에서 음양곽 42%, 오가피, 해동피, 파고지 토사자, 속단에서 20% 이상의 활성을 보였다고 하였으며, 강 등(137)은 현미 및 발아현미 추출물(500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )에서 66.2% 및 53.52% 소거 효과가, 홍 등(138)은 딸보리수 열매의 메탄올 추출물(1 $\text{mg}/\text{mL}$ )에서 52.91% 소거활성을, 손 등(139)은 녹차 열수추출물(2 $\text{mg}/\text{mL}$ )에서 10~26%의 소거활성을 보인다고 하였다.

Superoxide radical( $O_2^- \cdot$ )은 전자 환원에 의한 반응성이 매우 강하여 세포 독성을 일으켜 암을 유발시키거나 피부의 노화 등을 일으킬 수 있다. 이런 활성산소는 과식, 스트레스, 흡연, 지나친 운동으로 인한 과호흡 등에 의해 그 양이 증가하는데(140), 인체 내에서는 superoxide radical을 제거하기 위하여 superoxide dismutase(SOD)가 분비되어 세포에 유해한 superoxide radical을 과산화수소( $H_2O_2$ )와 정상상태의 산소로 전환시켜주는 반응( $2O_2^- \cdot + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )을 하는 것으로 알려져 있으며, SOD에 의해 생성된  $H_2O_2$ 는 생체 조직을 산화시키기도 하고 peroxidase나 catalase에 의하여 자신은 분해하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다. SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemicals에 속하는 것으로 보고되어 있다(2, 141).

이상의 결과로부터 복분자 열매의 초임계 이산화탄소 추출물과 70% 메탄올 추출물은 상기의 약용식물이나 녹차 보다 높은 활성을 보였을 뿐만 아니라 대조군으로 사용한 천연항산화제인  $\alpha$ -tocopherol 보다는 높은 소거활성을 보였다. 또한 초임계 이산화탄소 추출을 120분간 수행한 시료에서는 화학 합성 산화제인 BHT보다도 약 2배 이상의 활성을 나타내고 있어서, superoxide anion radical( $O_2^- \cdot$ )을 소거하는데 효과적인 기능성 식품원료로 개발 가능성도 기대해 볼만 하였다.

Table 6. Superoxide anion scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.

Sample	Scavenging activity (IC <sub>50</sub> , µg/mL)	
Carbohydrases	Viscozyme	1,980
	Celluclast	3,450
	AMG	980
	Termamyl	1,730
	Ultaraflo	1,810
Proteases	Protamex	1,510
	Kojizyme	1,670
	Neutrase	1,400
	Flavourzyme	710
	Alcalase	850
Supercritical carbon dioxide	30 min	380
	60 min	200
	120 min	80
70% methanol	240	
BHT	180	
α-tocophero	1600	

IC<sub>50</sub> (µg/mL) values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

## 6. Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 소거활성

Peroxidase의 기질인 ABTS를 이용하여 복분자 열매 각 추출물들의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radical 소거활성을 측정한 결과는 Table 7에 나타내었다.

Hydrogen peroxide 소거활성에 대한 각 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 효소적 추출물에서 3390~5540 µg/mL, 초임계 이산화탄소 추출물 700~1300 µg/mL, 70% 메탄올 추출물에서 670 µg/mL으로 초임계 이산화탄소와 메탄올 추출물에서 대조구인 BHT 2,200 µg/mL 와 α-tocopherol 3,200 µg/mL에 비해 높은 소거활성을 보였다.

김 등(142)은 양과열수추출물 10µg/mL농도에서 70%이상 소거활성을 보였다고 하였으며, 이 등(126)은 울릉도산 산채류들의 80% 메탄올 추출물 100µg/mL 농도에서 섬고사리 72.83%, 능개승마 89% 및 울릉미역취 99.2%의 높은 소거활성을 보고하였으며 대부분 폴리페놀 함량이 높을수록 hydrogen peroxide radical을 효과적으로 차단 한다고 하였다.

이상의 결과로부터 복분자열매의 70% 메탄올추출물과 일부 효소적 추출물에서 50% 이상의 높은 hydrogen peroxide radical 소거활성을 보였지만 상기 연구의 양과추출물이나 울릉도산 산채류에 비해 낮은 활성을 보였다.

Hydrogen peroxide는 산소의 환원 대사물질로서 미코콘드리아나 peroxisome 등의 정상세포로부터 형성되거나 다양한 외부요소에 의해 형성되는데 DNA 및 단백질손상을 유발하거나 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화지질을 생성함으로써 생체 기능의 저하나 노화 및 성인병을 유발하는 것으로 알려져 있다(143, 144). 따라서 hydrogen peroxide 소거활성은 SOD에 의해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 peroxidase에 의해 물과 산소분자로 환원시켜 최종적으로 산패를 억제 시켜주는 능력을 측정하는 것으로 알려져 있다(Finkel 와 Holbrook, 2000).

결과적으로 hydrogen peroxide의 소거 목적으로 복분자 추출물의 활용성에서 효소 추출물은 매우 미약하나, 초임계 이산화탄소 추출물과 70% 메탄올 추출물들에선 매우 높은 값을 보였다. 따라서 이들 추출물은 산업적 활용가능성이 높다 하겠다.

Table 7. Hydrogen peroxide scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extractss from *Rubus coreanus* Miq.

Sample		Scavenging activity (IC <sub>50</sub> , µg/mL)
Carbohydrases	Viscozyme	3,680
	Celluclast	3,970
	AMG	3,630
	Termamyl	4,940
	Ultaraflo	3,410
Proteases	Protamex	3,390
	Kojizyme	4,250
	Neutrase	5,540
	Flavourzyme	3,480
	Alcalase	3,540
Supercritical carbon dioxide	30 min	1,300
	60 min	840
	120 min	700
70% methanol		670
BHT		2,200
α-tocopherol		3,200

IC<sub>50</sub> (µg/mL) values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

## 7. Hydroxyl radical 소거활성

Hydroxyl radical( $\cdot\text{OH}$ ) 소거능은 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )와 철이온( $\text{FeCl}_3\text{-EDTA}$ )과의 반응, 즉 Fenton 반응에 의해 생성되는 hydroxyl radical에 의해 반응계의 기질로 사용된 deoxyribose가 산화되면서 생성되는 과산화물인 malondialdehyde(MDA)를 측정함으로써 평가된다. 따라서 복분자 열매 각추출물의 hydroxyl radical 소거활성을 BHT와  $\alpha$ -tocopherol 항산화제와 비교하여 Table 8에 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거활성에 대한 각 추출물의  $\text{IC}_{50}$  값은 효소적 추출물에서 1850~11830  $\mu\text{g/mL}$ , 초임계 이산화탄소 추출물 46~50  $\mu\text{g/mL}$ , 70% 메탄올 추출물에서 1880  $\mu\text{g/mL}$ 으로 초임계 이산화탄소와 메탄올 추출물에서는 효소 추출물들에 비해서는 높은 활성을 보였으나 대조구인 BHT의 4 $\mu\text{g/mL}$ 와  $\alpha$ -tocopherol의 7  $\mu\text{g/mL}$ 에 비해서는 매우 낮은 활성을 보였다.

강 등(137)은 현미 및 발아현미추출물 0.5mg/mL 농도에서 각각 26.15% 및 44.15%의 소거활성을 보인다고 하였으며, 남 등(145)은 유색미인 경우 70% 에탄올 추출물 2mg/mL 농도에서 13개 품종이 51~124% 소거활성, 녹차추출물은 3mg/mL 농도에서 60%(2004), 신 등(129)홍조류 4종 70%에탄올추출물 1mg/mL 농도에서 76.1~81.23%의 소거활성이 있다고 하였다. 또한 민과 이는(146) 제천산 약용식물 추출물의 hydroxy radical 소거활성은 열수추출물 오가피 80.45%, 독활 69.75%, 당귀와 황기는 각각 12.95 및 2.1%라 하였으며, 이 등(131)은 충청지역 민속주의 hydroxyl radical 소거활성은 17~53%, 식용백합 잎, 꽃 및 뿌리 에탄올 추출물에서 80.9~81.8%의 높은 소거활성을 보고하였다(147). 이 등(126)은 울릉도산 산채류의 80% 메탄올 추출물 100 $\mu\text{g/mL}$  농도에서 섬취무릅 116.9%, 물영경취 94.3%, 울릉미역취 93.9%의 높은 소거활성을 보인다고 하였으며 이러한 활성은 폴리페놀함량 또는 플라보노이드 함량과는 상관관계가 보이지 않았다고 보고하였다.

생체에서 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에서 가장 강력한 활성산소로 알려진 hydroxyl radical의 생성량은 반응성 산화대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되어 DNA 손상에 의한 돌연변이, 암 등의 발생과 밀접한 관계가 있다(137, 148). 따라서 hydroxyl radical 소거능을 가지는 물질은 deoxyribose와 반응할 수 있는 hydroxyl radical을 제거하여 MDA의 생성을 감소시킬 수 있다(126).

이상의 결과로 부터 본 연구에서는 복분자 열매의 각추출물 중 폴리페놀 함량이 높은 70% 메탄올 추출물보다 초임계 이산화탄소 추출물에서 hydroxyl radical을 효

과적으로 차단하는 것으로 나타났는데 이는 폴리페놀 또는 플라보노이드 이외에 환원력이 큰 다른 물질의 존재에 의한 것으로 추측되며 추후 이에 대한 연구를 계소한다면 매우 흥미있는 결과를 기대할 수있다고 생각된다. 또한 복분자 추출물들은 hydroxyl radical의 소거 목적으로 활용성은 낮다고 하겠으나, 초임계 이산화탄소 추출물은 메탄올 추출물에 비해서는 약 200배나 높은 활성을 보이고 있어, 앞으로 보다 깊은 연구로, 인체 무해한 천연항산화제의 개발 소재로 활용성도 기대해볼만 하다 생각된다.

Table 8. Hydroxyl radical scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.

Sample		Hydroxyl radical scavenging activity(IC <sub>50</sub> , µg/mL)
Carbohydrases	Viscozyme	4,890
	Celluclast	11,830
	AMG	10,600
	Termamyl	4,810
	Ultraflo	11,100
Proteases	Protamex	7,920
	Kojizyme	1,850
	Neutrase	5690
	Flavourzyme	5680
	Alcalase	7810
Supercritical carbon dioxide	30 min	50
	60 min	48
	120 min	46
70% methanol		1880
BHT		4
α-tocopherol		7

IC<sub>50</sub> (µg/mL) values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

## 8. Nitric oxide radical 소거활성

복분자 열매 각 추출물의 nitric oxide(NO) radical 소거활성은 sodium nitroprusside (SNP)를 사용하여 아질산(nitrite)의 양으로 측정하였으며 그 결과는 Table 9에 나타내었다. Nitric oxide(NO) radical 소거활성에 대한 각 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 효소적 추출물에서 3,250~9,880  $\mu\text{g/mL}$ 로 매우 낮은 소거 활성을 보였다. 그러나 초임계 이산화탄소 추출물 750~1,840  $\mu\text{g/mL}$ , 70% 메탄올 추출물에서 790  $\mu\text{g/mL}$ 로 초임계 이산화탄소와 메탄올 추출물에서 대조구인 BHT 1,630  $\mu\text{g/mL}$ 와  $\alpha$ -tocopherol 2,340  $\mu\text{g/mL}$ 에 비해 높은 소거활성을 보였다.

현 등(149)은 제주자생식물에서 자금우, 딱지꽃, 소귀나무, 석위, 산딸나무, 이삭여뀌, 귀룽나무, 붉가시나무, 멸굴나무에서 50% 이상의 NO소거활성을 보였다고 하였으며, 송(150) 등은 청미래덩굴 뿌리 25% 에탄올 추출물 50 $\mu\text{L}$  농도에서 88.4%의 높은 NO radical 소거활성을 보고하였다.

Nitric oxide(NO)는 생체내에서 nitric oxide synthase(NOS)의 작용으로 기질인 L-arginine으로부터 생성되는 무기유리체로 면역반응, 혈액응고, 혈압조절기능, 세포독성, 신경전달계 등 체내 여러 가지 생화학 반응에 관여한다(152, 153). 생체내에서 과량으로 생성된 NO는 미토콘드리아의 기능억제, FeS 함유효소 기능저하, DNA 손상유발 및 각종 효소작용을 억제하여 세포손상뿐만 아니라 염증반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머, 파킨슨병 등과 같은 퇴행성질환에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 알려져 있다(154, 155).

이상의 결과로 복분자 열매의 추출물들은 대조구인 BHT와  $\alpha$ -tocopherol 에 비하여 매우 낮은 소거 활성으로 산업적 활용성은 기대하기 어렵다 하겠다. 그러나 초임계 이산화탄소 추출물과 메탄올 추출물에서는 대조구인 BHT보다는 2배이상의 효과를,  $\alpha$ -tocopherol 보다는 3배 이상의 효과를 보이는 시료 군들이 있어서 산업적 활용성도 기대하게 한다.

Table 9. Nitric oxide radical scavenging activity of enzymatic, supercritical carbon dioxide and methanolic extracts from *Rubus coreanus* Miq.

	Sample	scavenging activity (IC <sub>50</sub> , µg/mL)
Carbohydrases	Viscozyme	9880
	Celluclast	5750
	AMG	7900
	Termamyl	5680
	Ultraflo	5440
Proteases	Protamex	6740
	Kojizyme	7830
	Neutrase	7600
	Flavourzyme	7600
	Alcalase	3250
Supercritical carbon dioxide	30 min	750
	60 min	1840
	120 min	760
	70% methanol	790
	BHT	1630
	α-tocopherol	2340

IC<sub>50</sub> (µg/mL) values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

## V. 요약

본 연구에서는 추출방법에 따른 복분자 열매의 생리활성을 조사하기 위하여, 메탄올, 초임계 이산화탄소 및 효소적 추출방법에 따른 이들 추출물들의 총 폴리페놀함량, DPPH radical, superoxide anion radical, hydrogen peroxide, hydroxyl radical 및 nitric oxide radical 소거활성을 평가함으로써 복분자 열매의 건강기능 식품의 소재로 활용하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 복분자 열매의 수분함량은 74.3%, 조지방이 11.6%, 조단백질 6.1%이었으며, 조탄수화물은 3.1%이었다.

2. 복분자 열매의 추출수율은 효소적 추출물이 4.49~5.43 %, 초임계 이산화탄소 추출물 5.25~8.92%, 70% 메탄올 추출물은 10.12%로 메탄올 추출물이 가장 높은 추출수율을 보였다.

3. 복분자 열매의 총 폴리페놀 함량은 70% 메탄올 추출물에서 2,409.01 mg/100g으로 가장 높았으며 초임계 이산화탄소 추출물 1,316.09~1,605.06 mg/100g, 효소적 추출물 606.54~783.93 mg/100g이었다.

4. 복분자 열매의 DPPH radical 소거활성(IC<sub>50</sub>, 값)은 효소적 추출물에서 350~480 µg/mL, 초임계 이산화탄소 추출물에서 310~480 µg/mL, 70% 메탄올 추출물에서도 490 µg/mL으로, 대조군으로 사용한 BHT(40 µg/mL) 및 α-tocopherol(70 µg/mL)에 비해서 낮은 활성을 보였다.

5. Superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>·)소거활성(IC<sub>50</sub>, 값)은 효소적 추출물에서 AMG(980 µg/mL), Flavouryme(710 µg/mL), Alcalase(850 µg/mL)으로, 대조군으로 사용한 α-tocopherol보다 높은 활성을 보였고, 초임계 이산화탄소 120분 추출물에서 180 µg/mL으로 대조군으로 사용한 BHT(180 µg/mL)와 α-tocopherol(1600 µg/mL)보다는 높은 활성을 보였다.

6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 소거활성(IC<sub>50</sub> 값)은 초임계 이산화탄소 추출물 30분(1300 µg/mL), 60분(840 µg/mL), 120분(700 µg/mL), 70% 메탄올 추출물에서 670µg/mL으로, 대조구로 사용한 항산화제인 BHT와 α-tocopherol보다 높았다.

7. Hydroxyl radical(·OH) 소거능은 초임계 이산화탄소 추출물120분(46 µg/mL)과 70% 메탄올 추출물(1880 µg/mL)에서 높은 활성을 보였으나, 대조구인 BHT와 α-tocopherol에 비해서 낮은 활성을 보였다.

8. Nitric oxide(NO) radical 소거활성은 70% 메탄올 추출물에서 790 µg/mL, 초임계 이산화탄소 추출물에서 750~1840 µg/mL으로 대조구로 사용한 BHT(1630µg/mL)와 α-tocopherol보다 높은 소거활성을 보였다.

## VI. 참고문헌

1. Kim JH, Lee SC, and Ju YC. Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of extracts from *Phellinus igniarius* and *Ganoderma lucidum*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39(4), 386~389 (2007)
2. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.*, 219, 1~4 (1984)
3. Lee SO, Kim MJ, Kim DG. and Choi HJ. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(2), 139-147 (2005)
4. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative diseases. *Science*, 221, 1256~1264 (1983)
5. Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, and Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198 (2003)
6. Chance B, Sies H and Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.*, 59, 527-605 (1979)
7. Fridorich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biophys.*, 247, 1-11 (1986)
8. Hur SK, Kim SS, Heo YH, Ahn SM, Lee BG, Lee SK. effects of the grapevine shoot extract on free radical scavenger activity and inhibition of pro-inflammatory mediator production in raw macrophages. *J. Applied Pharmacol.* 9. 188-193 (2001)
9. Jayat C, Ratinau MH. Cell cycle analysis by flow cytometry: principles and applications. *Biol. Cell.* 78, 15-25 (1993)
10. Kim YK. *Antioxidants*. Ryo Moon Gak P. Vo. Seoul, Korea. p. 5-95 (2004)
11. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetable produced in Ullung island. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 37, 233-240 (2005)
12. Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52, 59-63 (1975)
13. Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Cancer Inst.*, 70, 343-347 (1983)

14. Satto Y, Hotta N, Sakamoto N, Natsuoka S, Ohishi N and Yagi K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochem. Med.*, 21(1), 104~107 (1979)
15. Culter RG. Antioxidants aging and longevity. In *Free Radicals in Biology*. Pryro WA, ed. Academic Press, New York, USA, vol 6, p. 371-423 (1984)
16. Hattori M, Kuo KP, Shu YZ, Tezuka Y, Kikuchi T and Namba TA. Triterpenses from the fruits of *Rubus chingii*. *Phytochemistry*, 27, 3975-3976 (1988)
7. Kim JH, Kang BH, Jeong JM. Antioxidative, antimutagenic and chemopreventive activities of a phyto-extarct mixture derived from various vegetables, fruits, and oriental herbs. *Food Sci Biotechnol.*, 12, 631-638 (2003)
18. Kim YE, Lee YC, Kim HK, Kim CJ. Antioxidative effect of ethanol fraction for several korean medicinal plant hot water extracts. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 10, 141-144 (1997)
19. Oh SI, Lee MS. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in seven common vegetables taken by korean. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 32, 1344-1350 (2003)
20. Saha K, Lajis NH, Israf DA, Hamzah AS, Khorirah S, Khamis S, Syahida S. Evaluation of antioxidant and nirc oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. *J Ethnopharm*, 92, 263-267 (2004)
21. Yoo KM, Hwang IK. In vitro effect of Yuza(citrus junos SIEB ex TANAKA) extracts on proliferation of human prostate cancer cell and antioxidant activity. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 36, 339-344 (2004)
22. Yoon SR, Jeong YJ, Lee GD and Kwon JH. Changes in phenolic compounds properties of rubi fructus extract depending on extarction conditions. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.* 32(3), 338-345 (2003)
23. Yuk CS. Coloured medicinal plants of Korea. Academy Publishing Co., Seoul, Korea. p. 275 (1990)
24. Cha HS, Park MS and Park KM. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33(4), 409-415 (2001)
25. Park YS and Chang HG. Lactic acid fermentaion and biological activities of

- Rubus coreanus. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 46(4), 367-375 (2003)
26. Lee JW and Do JH. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanum* and Antioxidative activity. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.*, 29(5), 943-947 (2000)
  7. Bae GH. The medicinal plants of korea. Kyohak Publishing Co., Seoul. p. 231 (2000)
  28. Kwon HR. A study on tourism product value of Bokbunja(*Rubus coreanus* Miquel) wine in Gochang area. 2005. MB thesis, Paichai Univ (2005)
  29. Seol KL, Choi SY, and Lee JI. A study on the use, understanding and satisfaction with alternative therapy for hospitalized cancer patients. *J. Koran Public Health Assoc.*, 28, 198~211 (2002)
  30. Kim JH, Lee SC, and Ju YC. Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of extracts from *Phellinus igniarius* and *Ganoderma lucidum*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39(4), 386~38 (2007)
  31. Kim MS. Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanum*. M.S. Thesis, Chung-ang Univ., Korea (1996)
  32. Yoon I, Wee JH, Moon JH, Ahn TH, and Park KH. Isolation and identification of quercetin with antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanum* Miquel. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35(3), 499~502 (2003)
  33. Chou WH, Oinaka T, Kanamaru F, Mizutani K, Chen FH. and Tanaka O. Diterpene glycoside from leaves of chinese *Rubus chingii* and fruits of *R. suavissimus* and identification of the source plant of the chinese folk medicine "Fu-pen-zi" *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 3021-302. (1987)
  34. Hattori M, Kuo KP, Shu YZ, Tezuka Y, Kikuchi T and Namba TA. Triterpenses from the fruits of *Rubus chingii*. *Phytochemistry*, 27, 3975-3976 (1988)
  35. Choi HS, Kim MK, Park HS, Kim YS, Shin DH. Alcoholic fermentation of *Bokbunja*(*Rubus coreanus* Miq.) wine. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 38(4), 543-547 (2006)
  36. Jeong YG, Kang IS and Chai MR. Development of aqueous anchovy food using fermentation. Annual Research Report of Ministry of Maritime Affairs &

- fisheries, Report No. IB 1199812310002 (1998)
37. Park YS. and Chang HG. Lactic acid fermentation and biological activities of *Rubus coreanus* Miq. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 46, 367-375 (2003)
  38. Kwon, KS, Kim YS, Song GS and Hong SP. Quality characteristics of bread with *Rubi fructus* juice. *Korean J. Food & Nutr.* 17, 272-277 (2000)
  39. Lee YN, Kim YS. and Song GS. Quality of dry noodle prepared with wheat flour and immature *Rubus coreanus* powder composites. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 43, 271-276 (2000)
  40. Chung HS, Hwang SH and Youn KS. Extraction characteristics of Rubi fructue in relation to drying methods and extraction solutions. *Korean J. Food Preserv.* 12(5), 436-441 (2005)
  41. Kim HC, Lee SI. Comparison of the pharmacological effects of kinds of Rubi Fructus. *J. Herbology*, 6, 3-12 (1991)
  42. Kim SH, Chung HG, Jang YS, Park YK, Park HS and Kim SC. Characteristics and screening of antioxidative activity for the fruit by *Rusbus coreanus* Miq. clones *J. Korean For. Soc.* 94, 11-15 (2005)
  43. Lee MK, Lee HS, Choi GP, Oh DH, Kim JD, Chang YY and Lee HY. Screening of biological activities of the extracts from *Rusbus coreanus* Miq. *Korean Medicinal Crop Sci.* 11, 5-12 (2003)
  44. Park JH, Lee HS, Mun HC, Kim DH, Seong NS, Jung HG, Bang JK and Lee HY. Effects of ultrasonification process on enhancement of immunostimulatory activity of *Ephedra sinica* stapf and *Rubus coreanus* Miq. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 19, 113-117 (2004)
  45. Yoon I, Cho JY, Kuk JH, Jang MY, Ahn TH and Park KH. Identification and activity of antioxidative compounds from *Rusbus coreanum* fruit. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34, 898-904 (2002)
  46. Halliwell B, Hoult RJ, Blake DR. oxidants inflammation, and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 2, 2867-2870 (1988)
  47. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenol compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 28, 232~239 (1996)

48. Tsuda T, Watanabe M, Oshima K, Norinibu S, Choi SW, Kawakishi S, Osawa T. Antioxidative activity of the antocyanin pigments cyanidin 3-O- $\beta$ -D-glucoside and cyanidin. *J. Agric. Food. Chem.*, 42, 2407-2410 (1994)
49. Lee YS, Park DC, Joo EY, Shin SR, Kim NW. Study on the antioxidant activity of the extracts from the *Lepista nuda*. *J. Koren Soc. Food Sci. Nutr.* 34(7) 942~947 (2005)
50. Kim T J. Korean resources plants, Seoul University Republished. p. 82 (1997)
51. Kim M J. Lee U, Kim SH and Chung HG. Variation of leaf, fruiting and fruit characteristics in *Rubus coreanus* Miq.. *Korean J Breed*, 34, pp 50~56 (2002)
52. 홍재식, 김인권, 김명곤, 윤숙, 복자자주 제조기술개발. 농림부, 한국농촌경제연구원 부설 농림수산기술관리센터 (1995)
53. Jeong JS.and Sin MK.Encyclopedia of oriental medical. p. 461 (1996)
54. Ohtani K, Miyajima C, Takhasi T, Kasai R, Tanaka O and Hahn DR. A dimeric triterpene glycoside from *Rubus coreanus*. *Phytochemistry*, 29, pp. 3275~3280 (1990)
55. Lee YA. and Kang SS. Triterpenoids from *Rubus fructus*(Bogbunnja). *Arch Pharm Res.*, 16, 109~113 (1993)
56. Lee J and Lee SR. Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. *Korean J Food Sci Technol*, 26(3), 317-323 (1994)
57. Lee MW.Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanus*. *Yakhak Hoeji*, 39(2), 200~204 (1995)
58. Park KY, Lee SC, Ahn BT, Lee SH, Ro JS and Lee KS. Phenolic compounds from *Acalypha australis* L. *Kor J Pharmacogn*, 24, pp. 20~25 (1993)
59. Pang KC, Kim MS and Lee MW. Hydrolyzable Tannins from the fruits of *Rubus coreanum*. *Kor J Pharmacogn*, 27, pp. 366~370 (1996)
60. 우홍정, 이장훈, 김영철, 박형규, 한약재가 HBV 증식 억제에 미치는 효과에 관한 연구, 보건복지부, 보건의료기술 연구기획평가단 (1997)
61. Avena, S.L and Hinoay, L.V., Ferulic acid and other phenolics in oat seeds. *J. Food Sci*, 42, 551-556 (1977)

62. Kozłowska, H. and Zadernowski, R., Phenolic acids in rape seed and mustard. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60, 1119-1125 (1983)
63. 박현숙, 안빈, 양차범, 참깨와 들깨 단백질의 기능성에 관한 연구. *한국식품과학회지*, 22(3), 350~356 (1990)
64. 맹영선, 박혜경, 더덕 에탄올추출물의 항산화효과. *한국식품과학회지*, 23(3), 311~316 (1991)
65. 이주원, 신효선, 녹차 물추출물의 항산화효과. *한국식품과학회지*, 25(6), 759~763 (1993)
66. 이영자, 안명수, 오원택, 녹차, 우롱차 및 홍차의 용매별 추출물의 카테킨류 함량 및 항산화효과에 관한 연구. *한국식품위생안전성학회지*, 13(4), 370~376 (1998)
67. 우나리아, 안명수, 이기영, Aloe 추출물의 유지에 대한 항산화 효과. *한국조리과학회지*, 11(5), 536~541. (1995)
68. 장은희, 표영희, 안명수, 오미자 추출물의 항산화 효과. *한국조리과학회지*, 12(3), 372~376 (1996)
69. 나경수, 서형주, 정수현, 손종연, 양과껍질에서 분리된 용매 추출물의 항산화효과. *한국식품과학회지*, 29(3), 595~600 (1997)
70. 최 응, 신동화, 장영상, 신재익, 식물성 천연 항산화물질의 검색과 그 항산화력 비교. *한국식품과학회지*, 24(2), 142~148 (1992)
71. 박재한, 강규찬, 백상봉, 이윤형, 이규순, 식용해조류에서 항산화 물질의 분리. *한국식품과학회지*, 23(3), 256~261 (1991)
72. 김영연, 이영철, 김현구, 김철진, 몇 가지 생약재의 열수추출물에 대한 Ethanol 분획물의 항산화 효과. *한국식품영양학회지*, 10(2), 141~144 (1997)
73. Naohiko, Y., Antioxidant preparations from nonsalted soybean Miso. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 31, 278 (1984)
74. Beckel, R. W., Antioxidant arginine-xylose maillard reaction products. *J. Food Sci.*, 48, 996 (1983)
75. 노현정, 신용서, 이갑상, 신미경, 쌀밥 부패미생물에 대한 녹차 물추출물의 항균 활성. *한국식품과학회지*, 28(1), 66~71 (1996)
76. 이만중, 김관필, 김성호, 정낙현, 임무현, 오미자와 포도껍질 추출물의 항균 활성에 관한 연구. *한국식품영양학회지*, 10(2), 174~179 (1997)
77. 정은탁, 박미연, 이종갑, 장동석, 계피추출물의 항균작용과 항돌연변이원성. *한국식품위생안전성학회지*, 13(4), 337~343 (1998)

78. 정해정, 손바닥 선인장의 항산화 및 항균특성. 한국조리과학회지, 16(2), 160~166 (2000)
79. 이학성, 서정호, 서근학., 해조류 추출물로부터 항균제의 제조 및 항균효과. 한국수산학회지, 33(1), 32~37 (2000)
80. Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A. and Baroty, G.S.A., Influence of thyme and clove essential oils in cotton seed oil oxidation. JAOCS, 66, 800~806 (1989)
81. 김유경, 온주밀감 과피로부터 정유의 추출, 분석 및 항균활성. 제주대학교 대학원 석사학위논문 (1999)
82. Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M and Kawakiski S. Chemical studies on novelrice hullantioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. J. Agric. Food Chem., 36, 732~735 (1988)
83. 유주현, 조재민, 오두환, 변유량, Margarine에 대한 고추 과피 추출물의 항산화성에 관한 연구. 산업미생물학회지, 9, 21~25 (1981)
84. 한용봉, 김미라, 한병훈, 한용남, 잣과 겨자의 항산화 활성성분에 관한 연구. 생약학회지, 18, 41~44 (1987)
85. 김은정, 안명수, 생강 추출물의 항산화 효과에 관한 연구. 한국조리과학회지, 9(1), 37~42 (1993)
86. 이진영, 안명수, 생강추출물의 열처리에 따른 항산화성 변화. 한국조리과학회지, 10(1), 63~70 (1994)
87. 장은희, 표영희, 안명수, 오미자 추출물의 항산화 효과, 한국조리과학회지, 12(3), 372~377 (1996)
88. 오안진, 손화영, 강재철, 이가순, 식용유지에 대한 칩뿌리의 항산화 효과, 한국영양식량학회지, 19, 448~452 (1990)
89. 오안진, 이가순, 손화영, 김성렬, 칩뿌리의 항산화 성분, 한국식품과학회지, 22(7), 792~796 (1990)
90. 이병완, 신동희, 식품부패 미생물의 증식은 구제하는 천연 항균성 물질의 검색, 한국식품과학회지, 23(2), 200~205 (1991)
91. Hirose T, Kawi H and Hosegai Y. On the antioxidative Activities of Crude Drugas, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 25, 691~694 (1978)
92. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 232~239 (1995)

93. 이연재, 신동화, 장영상, 신재익, 패모, 어성초, 쇠비름 및 들깨박 에탄올 추출물의 순차용매 분획별 항산화 효과, 한국식품과학회지, 25(6), 683~688 (1993)
94. 서미숙, 황기 추출물의 항산화 효과에 관한 연구, 성신여자대학원, 석사학위논문(2000)
95. 최홍식, 이정수, 윤갑순, 박건영, 지방의 산화에 대한 양조간장의 항산화의 특성, 한국식품과학회지, 22, 332~336 (1990)
96. 한미남, 포도씨 추출물의 유지에 대한 항산화 및 항균 효과에 관한 연구, 성신여자대학원, 석사학위 논문 (2002)
97. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Association of official analytical chemists, Virginia, USA (1990)
98. Heo SJ, Lee KW, Song CB, Jeon YJ. Antioxidant activity of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Algae* 18: 71-81 (2003)
99. Lim SB, Kim SH, Ko YH, Oh CK, Oh MC, Ko YG, and Park CS. Extraction Yields of *Hizikia fusiforme* and *Aloe vera* Linne by supercritical carbon dioxide and antimicrobial activity of their extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27(1), 68~73 (1995)
100. Chandler SF and Dodds JH. The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasidine in callus culture of *Solanum laciniatum*. *Plant cell reports* 2: 105-110 (1993)
101. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1120 (1985)
102. Nagai T, Sakai M, Inoue R, Inoue H and Suzuki N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry* 75:237-240 (2001)
103. Müller HE. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *Zbl. Bakt-Int. J. Med. M.* 259: 151-158 (1985)
104. Chung SK, Osawa T and Kawakishi S. Hydroxyl radical scavenging effects of spices and scavengers from Brown Mustard (*Brassica nigra*). *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry* 61, 118-123 (1997)
105. Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L. The nitric oxide-scavenging properties of Ginko biloba extract EGb 761. *Biochem Biophys Res Commun*, 201, 748-755 (1994)
106. Do JR, Kim KJ, Jo JH, Kim YM, Kim BS, Kim HK, Lim SD, Lee Sw.

- Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of medicinal herbs. *Korean J. food Sci. Technol.*, 37, 206-213 (2005)
107. Kim, H.J., Jo, C., Kim, H.J., Shin, D.H., Son, J.H. and Byun, M.W. Effects of gamma irradiation on color changes and biological activities of ethanol extract of a mechanically presses juice of bokbunja(*Rubus coreanus* Miq.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(3), 271-277 (2006)
108. Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Yoon SJ and Lee KH. Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of Bokbunja(*Rubus coreanum* F.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34(6), 790~796 (2005)
109. Jeon SK, Lee JW, Lee IS. (2007). Effect of antioxidant activity and induction of DNA damage on human gastric cancer cell by *Rubus coreanus* Miquel. *J. Life Science*, 17(12), 1723-1728 (2007)
110. Kim, J.H., Jun B.S., Kim SK. Cha JY. Cho, YS. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower(*Carthamus tinctorius* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29, 1127-1132 (2000)
111. Shim TH, Kim YS, Sa JH, Shin IC, Heo SI, Wang MH. Studies for component analysis and antioxidative evaluation in acron powders. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36(5), 800-803 (2004)
112. Kim J, Kim SA, Yun WK, Kim EJ, Woo MK, Lee MS. Antioxidative effect of ethanol extract for 5 kinds of spices. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 33(9), 1426-1431 (2004)
113. Kim JY, Lee JA, Yoon WJ, Oh DJ, Jung YH, Lee WJ, Park SY. Antioxidative and antimicrobial activities of Euphobia jolkini extracts. *Korean J. Food Sic. Technol.*, 38(5), 699-706 (2006)
114. Lee JJ, Ha JO, and Lee MY. Antioxidative activity of lotus root(*Nelumbo mucifera* G.) extracts. *J. Life Science*. 17(9), 1237-1243 (2007)
115. Lee KS, Kim MG, Lee KY. Antioxidative activity of ethanol extract from Lotus(*Nelumbo nucifera*) leaf. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(2), 182-186 (2006)
116. Lee YM, Shin HD, Lee JJ, Lee MY. Antioxidative effect of *Chaenomeles fructus* ethanol extract. *Korean J Food Preserv.*, 14(2), 177-182 (2007)

117. Mahinda S, Jeon YJ, Ha JH, Kim SM, Kim SH. Antioxidant potential of enzymatic extracts from blueberry(*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Life Science*, 16(1), 49-57 (2006)
118. Yoo SJ, Kim SH, Jun MS, Oh HT, Choi HJ, Ham SS., Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of **Prunus armeniaca** extarcts. *Korean J Food Preserv.*, 14(2), 220-225 (2007)
119. Kim SR, Ha TY, Song HN, Kim YS, Park YK. Comparison of nutritional composition and antioxidative activity for Kabocha squash and Pumpkin. *Korean J. Food Sic. Technol.*, 37(2), 171-177 (2005)
120. Yu MH, Lee S, Im HG, Kim HJ, Lee IS. Antioxidant activities of *Prunus salicina* Lindl. cv. *Soldam*(Plum) at different growth stages. *Korean J. Food Preserv.* 11(3), 358-363 (2004)
121. Cha WS, Shin HR, Park JH, Oh SL. Antioxidant activity of phenol compounds from mulberry fruit. *Korean J. Food Preserv.* 11(3), 383-387 (2004)
122. Bae YI, Chung YC, Shim KW. Antimicrobial and antioxidant activities of variuos solvent extract from different parts of Loquat(*Eriobotrya japonica*, Lindl.). *Korean J Food Presrv.*, 9(1), 97-101 (2002)
123. Kim DI, Lee SH, Hur EY, Cho SM, Park HJ. Screening of natural plant pesources with acetylcholinestrace inhibition and antioxidant activity. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.*, 34(3), 427-432 (2005)
124. Kim HK, Na GM, Ye SH, Han HS, Extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinenes* extracts. *Korean J Food Preserv.*, 11(3), 352~357 (2004)
125. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 232-239 (1995)
126. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidnat activities of methanol extracts from vegetable produced in Ullung island. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 37, 233~24 (2005)
127. Kim J, Kim SA, Yun WK, Kim EJ, Woo MK, Lee MS. Antioxidative effect of ethanol extract for 5 kinds of spices. *Korean J. Food Soc. Sci. Nutr.* 33(9), 1426-1431 (2004)

128. Kim SH, Choi HS, Lee MS, Chung MS. Volatile compounds and antioxidant activities of *Adenophora remotiflora*. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39(2), 109-113 (2007)
129. Shin JH, Choi DJ, Lim HC, Seo JK, Lee SJ, Choi SY, Sung NJ. Nutrients and antioxidant activity of red seaweeds. *Journal of Life Science.* 16(3): 400-408 (2006)
130. Jeong SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baeg NI. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 47, 135-140 (2004)
131. Lee HK, Choi YM, and Suh HJ. Antioxidant activities of traditional wine and liquor produced in chungcheong-do. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.*, 33(8), 1257-1261 (2004)
132. Mahoney JR and Graf E. Role of alpha-tocopherol, ascorbic acid, citric acid and EDTA as antioxidants in model system. *J. Food Sci.*, 51, 1293-1296 (1986)
133. Oki T., Masuda M., Furuta S, Nishibia Y, Terahara N, and Suda I. Involvement of anthocyanins and other phenolic compounds in radical-scavenging activity of purple-fleshed sweet potato cultivars. *J. Food Chem. Toxicol.*, 67, 1752-1756 (2002)
134. Hong JH, Jeon JL, Lee JH, Lee IS. Antioxidative properties of *Artemisia princeps* Pamp. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(6), 657-662 (2007)
135. Kim JY, Lee JA, Kim KN, Lee WJ, Yoon WJ, Park SY. Antioxidative and antimicrobial activities of *Sargassum muticum* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(6), 663-669 (2007)
136. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 36(2), 333-338 (2004)
137. Kang MY, Kim S, Ko HJ, Chin JH, Nam SH. Antioxidative activity of germinated specialty rices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 36(4), 624-630 (2004)
138. Hong JY, Nam HS, Lee YS, Yoon KY, Kim NW, Shin SR. Study on the antioxidant activity of extracts from the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thunb. *Korean J Food Preserv.*, 13(3), 413-419 (2006)

139. Shon MY, Kim SH, Nam S.H, Park SK, Sung NJ. Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. *Journal of Life Science*. 14(6): 920-924 (2004)
140. Devy, C. and Gautier, R. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.* 39, 399~405 (1990)
141. Salim, A.S. Oxygen-derived free radicals and the prevention of duodenal ulcer relapse. *Am. J. Med. Sci.* 300, 1~8 (1990)
142. Kim YH, Shon MY, Sung NJ. Antioxidant and antimutagenic activities of hot water extract from white and yellow onions after simulated gastric digestion. *Journal of Life Science*. 14(6): 925-930 (2004)
143. Finkel T, Holbrook NJ, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 408, 239~247 (2000)
144. Martindale JL, Holbrook NJ, Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J. Cell Physiol.* 192, 1~15 (2002)
145. Nam SH, Chang SM, Kang MY. Varietal difference in antioxidative activity of ethanolic extracts from colored rice bran. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 46(1), 16-22 (2003)
146. Min SH and Lee BR. Antioxidant activity of medicinal plant extracts cultivated in Jecheon. *Korean J. Food Culture.*, 22(3), 336-341 (2007)
147. Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Seo JK, Hwang SY, Park KY, Kang MH. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. *Korean J. Food Sci Technol*, 39(4), 452-457 (2007)
148. Casado JA, Merino J, Cid J, Subira ML, Sanchez-Ibarrola A. Oxidizing agents and free radicals in biomedicine. *Rev. Med. Univ. Navarra* 40, 31~40 (1996)
149. Hyun SH, Jung SK, Jwa MK, Song CK, Kim JH, Lim SB., Screening of antioxidants and cosmeceuticals from natural plant resource in Jeju island. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 39(2), 200-208 (2007)
150. Song HS, Park YH, Jung SH, Kim DP, Jung YH, Lee MK, Moon KY. Antioxidant activity of extracts from Smilax china root. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(9), 1133-1138 (2006)

152. Mondaca S, Palmer RM, Higgs EA. nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 43, 109-142 (1991)
153. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. *Cell*, 78, 915-918 (1994)
154. Chung HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR, Kim YM. nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 282, 1075-1079 (2001)
155. Cui FJ, Li TZ, Lee SJ, Park SJ, Lim Y, Kim KA, Chang BJ, Lee JH, Lee MH, Choe NH. The effects of air-borne particulate matters on the alveolar macrophages for the iNOS expression and nitric oxide with nitrotyrosinated-proteins formation. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 60, 426-436 (2006)



## 감사의 글

지난 수년간 부족한 저를 아낌없이 보살펴 주시고 세심하게 지도해 주신 김수현 지도교수님께 깊은 감사를 드립니다..

그리고 바쁘신 가운데 좋은 논문이 되도록 상세하게 검토하여 아낌없는 의견을 주시고 세심하게 다듬어 주신 고영환 교수님, 임상빈 교수님, 학위과정 중 많은 학문적 조언과 관심을 아끼지 않으신 송대진 교수님, 강영주 교수님, 하진환 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

본 논문을 위해 학문적 조언과 세심한 지도를 해 주신 제주산업정보대학 오창경 교수님과 오명철 교수님께도 진심으로 감사의 마음을 전합니다.

그리고 저와 함께 많은 시간을 보내며 실험실에서 실험을 같이한 마힌다, 안용석 선생님께도 고마운 마음을 전하며, 아울러 후배님들께도 고마운 마음을 전합니다.

직장을 다니며 진학을 적극적으로 추천해 주시고 아낌없는 배려를 주신 (주)상미식품, (주)제주농산 함창호 회장님께 머리 숙여 감사의 마음을 전합니다.

끝으로 오늘이 있기까지 아낌없이 도와주신 장모님께 감사드리고 항상 옆에서 힘이 되어준 사랑하는 아내 현안호와 어느덧 불쑥 자라버린 나의 사랑하는 자식들 경민, 경범, 미진에게도 고마움을 전하며, 이 자그마한 결실을 드립니다.

2008년 6월

강 영 찬