

방아 추출물의 항산화 효과

지옥화 · 양차범
한양대학교 식품영양학과

Antioxidative Activity of Extract from *Bangah* Herb

Ok Hwa Jhee and Cha-Bum Yang

Department of Food and Nutrition, Hanyang University

Abstract

Bangah, one of the herbs grown in Korea, was investigated for its antioxidant activity. The ether extracts of *bangah* herb was separated into neutral, phenolic, acidic and basic fractions and further separated into sub-fractions. Antioxidative activities were measured by hydrogen donating activity (HDA), peroxide value (POV), thiobarbituric acid (TBA) value and inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes. The subfraction components were identified by GC/MS and NMR. Phenolic fraction, though being very small in quantity, showed higher antioxidant activity at all assay system by hydrogen donating activity, POV, TBA value and inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes. Five subfractions (P-1, P-2, P-3, P-4 and P-5) were fractionated from phenolic fraction of *bangah* herbs, and subfraction P-2 among them showed strong antioxidant activity on a level with BHT or gallic acid at each assay system. Four compounds (peak I, peak II, peak III and peak IV) were isolated by gas chromatogram of TMS derivatives of subfraction P-2 and these compounds were confirmed to be phenolic substance having -OH and COOH group. Three sub-fractions (N-1, N-2 and N-3) were fractionated from neutral fraction of *bangah* herbs, and subfraction N-2 among them showed highest antioxidant activity and inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes. Subfraction N-2 was identified to be estragole by H-NMR spectroscopy.

Key words: *bangah* (*Agastache rugosa* O. Kuntze), antioxidative activity, HDA, POV, TBA value

서 론

지난 수십년간 널리 사용되어오던 BHA, BHT 등의 합성 항산화제들이 항산화력은 뛰어나나 그들의 안정성에 관한 우려로 미국, 일본 등 선진 각국에서는 그 사용량이 법적으로 규제되어 천연 항산화제로 대체하는 추세에 있다⁽¹⁾. 따라서 최근에는 비타민 E 및 비타민 C와 같은 천연 항산화제의 사용⁽²⁻⁶⁾이 급격히 증가하는 추세에 있으며 이러한 증가 추세는 앞으로도 지속될 전망이다. 이들 비타민류 이외에 천연 항산화제의 재료는 胡麻의 종자유, 유칼리나무의 잎, 생약류, 해조류 등 그종류가 매우 다양하며⁽⁷⁻¹²⁾ 참기름 중의 sesamol⁽⁸⁾, rosemary, sage, ginger, clove, thyme, mace, cinnamon 등의 향신료와 혼연성분 중의 phenol 성분들⁽¹³⁻¹⁸⁾, 대두 등에 함유된 flavonoid 성분들⁽¹⁹⁾이 항산화

효과가 있다고 알려져 있으며 일본에서는 감초 추출물, rosemary 추출물 등이 천연 항산화제로서 개발, 시판되고 있다⁽²⁰⁾.

방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)는 꿀풀과에 속하는 다년초로 배초향(排草香)으로도 불리우며^(21,22) 재배조건이 우리나라의 여건에 알맞고 독특한 향을 지니고 있어 이미 향신료로서의 개발 가능성이 인정된 바 있으며⁽²³⁾ 정유에 다량 함유되어 있는 estragole과 eugenol 및 eugenol의 isomer 등의 phenol 성분은 항산화 효과가 있을 것으로 기대되어, 저자 등은 전보⁽²⁴⁾에서 방아 분말을 각종 유기용매로 추출하여 추출물을 얻고 또한 페놀산 분획들을 분리하여 대두 및 돈지 등을 기질로하여 항산화력을 측정하였을 때 돈지에서는 항산화효과가 인정되었다. 따라서 본 연구에서는 방아 중 항산화 성분을 분리하기 위하여 방아의 ether추출물을 중성 획분, 산성 획분, 페놀성 획분 및 염기성 획분으로 나누고, 다시 각 획분을 소획분 성분으로 분리한 후 각 성분의 항산화 효과를 측정 비교하였다.

Corresponding author: Cha-Bum Yang, Department of Food and Nutrition, Hanyang University, 17 Hengdang-dong, Sungdong-ku, Seoul 133-791, Korea

레로 가하고 37°C의 shaking water bath에서 1시간 incubation시켜 과산화를 유도시켰다. Incubation이 끝나면 Esterbauer 등²⁹⁾의 방법에 준하여 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 ml를 가하고 1,000×g로 10분간 원심 분리한 후 상징액 1 ml를 0.67% TBA 1 ml를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하고 나서 533 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 흰쥐는 6주령의 스프래그-드래웨이(Sprague-Dawley rat, 200±10 g body weight)을 사용하였으며 간 microsome 분획은 Lake³⁰⁾의 방법에 준하여 조제하였다.

중성 획분 및 페놀성 획분 중 항산화 활성 성분의 분리

중성 획분 및 페놀성 획분 중 항산화 활성이 있는 소획분을 100 µl 취해서 반응관(Teflon vial 3 ml)에 넣고 N₂기류하에서 완전히 농축시킨 후 BSTFA (N,O-bis-[trimethylsilyl]-trifluoroacetamide) 50 µl를 넣고 65°C에서 30분간 반응시켜 생성된 TMS (trimethyl silylation)유도체를 gas chromatography로 분석하여 GC profiles을 확인한 후 GC/MS 및 H¹-NMR로 분석하였다. 이때 GC 기종은 Hewlett-Packard 5890 II이고 사용한 GC column은 SPB-1 fused silica capillary (30 m×0.25 mm ID), column 온도는 180°C (3 min)→270°C (3°C/min), carrier gas; 질소 (유속 0.1 ml/min), 검출기; FID, injection량; 50 µl이었다. 그리고 GC/MS분석의 column은 SPB-1 fused silica capillary (30 m×0.25 mm ID), column 온도; 250°C isothermal, carrier gas; He (유속 1.0 ml/min), ion pressure; 1.8×10⁵ torr, ionization voltage; 70 eV, EI이었다.

결과 및 고찰

방아 추출물 및 획분 별 수율

방아 시료를 ether로 추출하여 얻은 ether 추출물을 분획하여 얻은 각 획분들의 수율은 Table 1과 같다. 이 결과에서 보면 방아 시료의 건조 분말 800 g을 ether 4 l로 추출하였을 때 그 추출물은 55 g으로서 그 수율은 6.88%이었으며 이것을 분획하였을 때 중성 획분은

Table 1. Yield of ether extract and various fractions from *bangah* herb

Fraction	Yield (%)
Ether extract	6.88
Neutral fraction	5.80
Phenolic fraction	0.09
Acidic fraction	0.11
Basic fraction	0.15

46.4 g, 산성 획분은 0.9 g, 페놀성 획분은 0.7 g을, 그리고 염기성 획분은 1.2 g을 각각 얻었다.

따라서 방아 시료의 ether추출물 중에서는 중성 획분이 대부분(84.4%)을 차지하였고 페놀성 획분, 산성 획분 및 염기성 획분은 1.3-2.1%의 범위로 적게 함유되었다.

방아 추출물과 각 획분의 항산화 활성

방아의 ether 추출물과 각 획분의 수소 공여능, 과산화물가, TBA가 및 흰쥐 간 microsome을 이용한 비효소적 지질 과산화 억제 활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

DPPH에 의한 수소 공여능은 ether 추출물의 산성 획분과 페놀성 획분이 강하였으며 중성 획분과 염기성 획분은 활성이 없거나 미약하였다. 한편, linoleic acid의 과산화물 생성 억제 활성과 TBA-반응물질 생성 억제 활성은 ether 추출물의 페놀성 획분에서 강하였고 다른 획분들은 약한 활성을 나타내었다. 이에 비하여 흰쥐 간 microsome의 지질 과산화 억제 활성은 ether 추출물 자체와 중성 획분 및 페놀성 획분에서 높게 나타난 반면에 산성 획분과 염기성 획분에서는 활성이 나타나지 않았다. 이상의 결과에서 볼 때 ether추출물 중 페놀성 획분의 성분 중에는 모든 분석 방법에서 항산화 활성이 높게 나타나는 성분이 함유되어 있음을 예측할 수 있었다.

페놀성 획분의 항산화 성분

항산화 활성이 상대적으로 높았던 페놀성 획분 중 항산화 활성이 높은 성분을 분리하기 위하여 ether 추

Table 2. Antioxidant activities¹⁾ of ether extracts and various fractions from *bangah* herb

Treatment	Assay system ²⁾			
	A	B	C	D
Ether extract	+	+	-	+++
Neutral fraction	±	+	+	+++
Acidic fraction	+++	+	+	-
Phenolic fraction	++	++	++	+++
Basic fraction	-	±	-	-

¹⁾Antioxidant activity: +++ > 70%, ++ 40~70%, + 10~40%, ± < 10%, - no inhibition

²⁾A: Hydrogen donating activity

B: Inhibition activity against production of peroxides from linoleic acid

C: Inhibition activity against production of TBA-reactive substances from linoleic acid

D: Inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes in non-enzymatic Fe²⁺/ascorbate system

Table 3. Antioxidant activities¹⁾ of subfractions in phenolic fraction from *bangah* herb

Treatment	Assay system ²⁾			
	A	B	C	D
Phenolic fraction	++	++	++	+++
Subfraction P-1	++	++	++	+++
P-2	+++	+++	+++	+++
P-3	+++	++	+	+++
P-4	+	±	—	+++
P-5	—	±	—	+++
BHT	+++	++	+++	+++
Caffeic acid	+++	++	+	+++
Gallic acid	+++	+++	+++	+++

¹⁾²⁾: Refer to Table 2

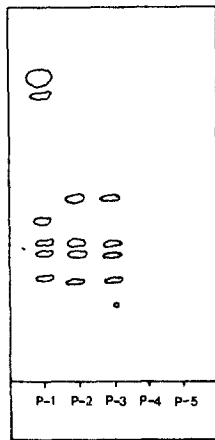


Fig. 2. TLC pattern of subfractions P-1, P-2, P-3, P-4 and P-5 fractionated from phenolic fraction of *bangah* herb

출물의 페놀성 획분을 silica gel column 상에서 toluene/ethyl acetate/formic acid (25:12:3)로 elution시켜 5개의 소획분(P-1, P-2, P-3, P-4 및 P-5)으로 나누고 각각의 항산화 활성을 측정할 결과는 Table 3과 같다.

각 소획분의 항산화 활성은 측정 방법에 관계없이 P-1, P-2 및 P-3이 강하였으며 P-4와 P-5는 흰쥐 간 microsome의 지질 과산화 억제활성을 제외하고는 활성이 없거나 미약하였다. 특히 소획분 P-2의 수소공여 능력과 과산화물 및 TBA-반응물질 생성 억제율은 대표적 합성 항산화제인 BHT나 천연 항산화물질로 알려져 있는 caffeic acid보다도 강하였으므로 페놀성 획분의 주요 항산화 활성 물질은 소획분 P-2중에 존재함을 알 수 있었다.

페놀성 획분 중의 각 소획분을 TLC plate 상에서 전개시킨 후 발색시켜 얻은 TLC pattern은 Fig. 2와 같다.

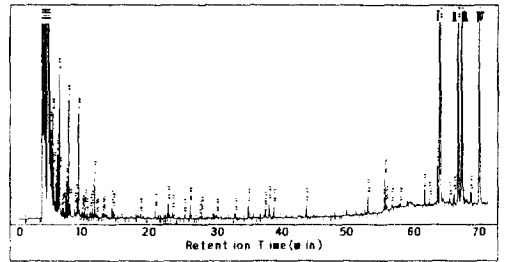


Fig. 3. Gas chromatogram of TMS-derivatives of subfraction P-2 fractionated from phenolic fraction of *bangah* herb

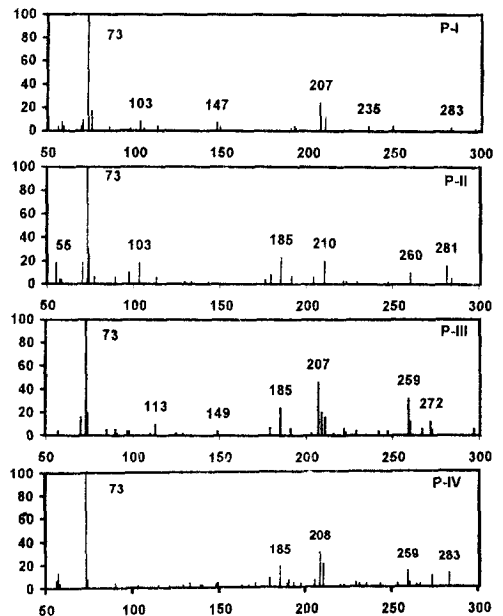


Fig. 4. Mass spectrum of peak I, II, III and IV

소획분 P-2와 P-3에서는 Rf 0.3~0.5 범위에서 각각 4개의 암청색 spot가 검출되었으므로 이들 소획분에 -OH기를 2개이상 함유한 페놀산 성분이 함유되어 있음을 알 수 있었다. P-1도 Rf. 0.3~0.5범위에서 4개의 spot가 나타났으나 미량이었으며 또한 P-1에서는 Rf. 0.8부근에서 2개의 spot가 나타났으나 -OH기가 1개 미만으로 예상되므로 활성이 약한 물질이라 할 수 있다.

소획분 P-2의 TMS-유도체로 만들어 GC로 분석하여 얻은 gas chromatogram은 Fig. 3과 같이 retention time 60분 이상에서 4개의 큰 peak가 나타났다. 이들 주요 peak 성분인 peak I, II, III 및 IV를 GC/MS로 분석하여 얻은 mass spectrum은 Fig. 4와 같았다.

peak I, II, III 및 IV 모두 TMS m/z 73를 base peak로 가지고 있어 4개의 peak 모두 -OH, -COOH기를 가

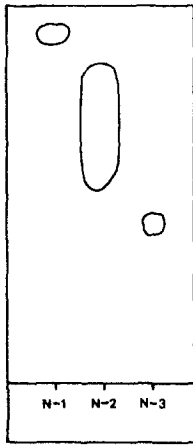


Fig. 5. TLC patterns of subfractions N-1, N-2 and N-3 in neutral fraction from *bangah* herb

지고 있는 것으로 확인할 수 있었다. -OH기가 두 개 이상 존재하는 phenol화합물은 두 개 이상의 -OH기가 서로 인접해 있을 때 항산화 활성이 강한 것으로 알려져 있는데⁽³⁰⁾ 이 P-2획분의 활성이 강한 것은 2개 이상의 -OH기가 서로 인접해 있기 때문이라 생각된다.

중성 획분의 항산화 성분

Ether 추출물의 중성 획분은 Table 2에서 보는 바와 같이 수소 공여능, TBA가, POV가,의 활성은 낮았으나 흰쥐 간 microsomes의 지질 과산화에 대하여는 강한 억제활성을 나타내었으므로 이 중성 획분 중 어떤 성분이 흰쥐 간 microsomes의 지질 과산화 억제 활성이 높은가를 알기 위하여 ether추출물의 중성획분을 SDE장치로 추출하여 정유성분을 얻고 이것을 silica gel column상에서 용출시킨 후 그 용출액을 TLC로 분리하였을 때 3개의 spot (소획분 N-1, N-2, N-3)가 검출되었다(Fig. 5). 이때 N-1과 N-3는 Folin & Clocalteu's phenol reagent로 발색시켰을 때 청색으로 나타난 spot로서 Rf가 0.4 범위의 윗부분에 존재하므로 활성이 약할것으로 생각된다. 그리고 N-2는 Folin & Clocalteu's phenol reagent에서 발색되지 않았으며 UV 254 nm에서 갈색의 큰 spot로 나타났다.

이들의 소획분 N-1, N-2 및 N-3의 spot를 TLC plate상에서 긁어내어 흰쥐 간 microsomes의 지질 과산화 억제 활성을 측정된 결과는 Table 4과 같이 N-2에서 강한 활성을 나타내었으나 N-1과 N-3는 활성이 거의 없었다. 그리고 활성이 높은 소획분 N-2 spot를 TLC plate상에서 긁어내어 methanol로 탈착시켜 GC 및 GC/MS로 분석한 결과는 Fig. 7 및 Fig. 8에서 보는

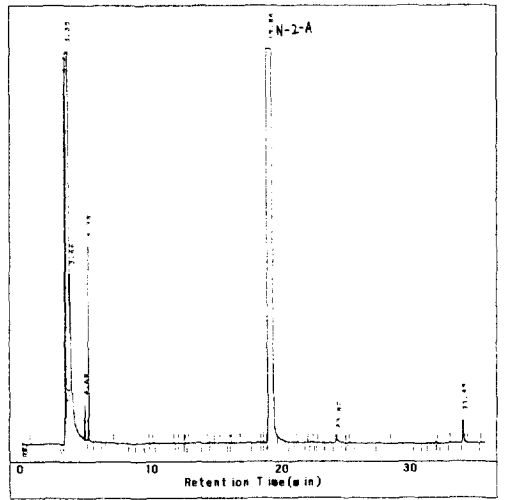


Fig. 6. Gas chromatogram of subfraction N-2 in neutral fraction from *bangah* herb

Table 4. Antioxidant activities¹⁾ of various subfractions in neutral fraction from *bangah* herb

Treatment	Activity ²⁾
Neutral fraction	+++
Essential oil	+
Subfraction N-1	±
SDE residue N-2	+++
N-3	±

¹⁾Antioxidant activity: +++ > 70%, ++ 40~70%, + 10~40%, ± < 10%, - no inhibition

²⁾Inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes in non-enzymatic Fe²⁺/ascorbate system

바와 같다. Gas chromatogram 상에서 N-2의 주성분은 retention time 18.8 min인 peak (GC peak # N-2-A) 성분임을 알 수 있었는데 이 성분의 mass spectrum pattern은 m/z (relative abundance)가 148 (M⁺, 100%), 133 (20%), 121 (28%), 117 (38%), 105 (18%), 91 (22%), 77 (19%)로 estragole과 같았다. 방아의 정유에는 estragole의 isomer인 anethole도 함께 함유되어 있으며 이 두 성분의 mass spectrum pattern은 매우 유사하기 때문에 구별이 어려우나 estragole은 방아 정유의 80% 이상을 차지한다고 알려져 있으므로⁽²³⁾ 이 peak 성분을 H1-NMR로 분석한 결과(Fig. 9) δ 6.7~7.1에서 4개의 aromatic proton이 관찰되었다. δ 3.2에서 CH₃, δ 3.7에서 OCH₃, δ 4.9~5.1에서 CH=CH₂, δ 5.2~6.1에서 CH가 관찰되어 이 compound를 estragole로 동정하였다.

중성 획분의 정유로부터 estragole로 동정된 subfraction N-2 성분의 흰쥐 간 microsomes의 지질 과산화

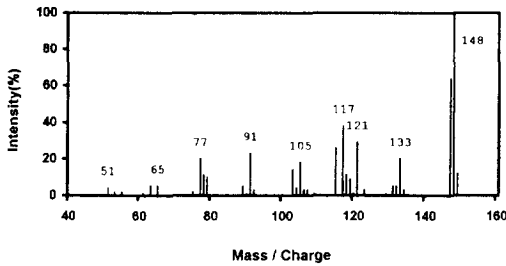


Fig. 7. Mass spectrum of GC peak # N-2-A component

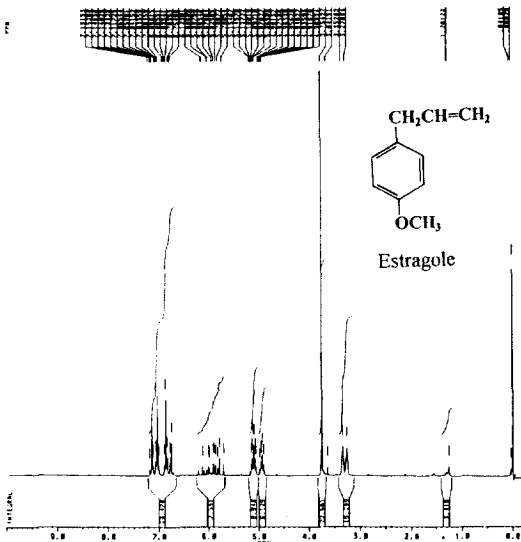


Fig. 8. ¹H-NMR spectrum of # N-2-A component

억제 활성을 측정하 결과, Table 5에서 보는 바와 같이 50% 억제 농도(concentration for 50% inhibition, IC₅₀)는 20~50 µg/ml로서 BHT의 3 µg/ml 보다는 약하였으나 caffeic acid의 40 µg/ml와는 비슷한 수준의 항산화 활성을 나타내었고 gallic acid의 68 µg/ml 보다는 높은 활성을 보였다.

산성획분의 항산화 성분

방아의 ether추출물의 획분 중 산성 획분의 항산화 활성을 측정하였을 때(Table 2) 수소 공여능에서 가장 높게 나타났으므로 이 산성 획분을 TLC로 다시 소분 획하여 측정 방법에 따라 항산화 활성을 측정하 결과는 Table 6과 같았다. 이 결과에서 보면 소획분 A-2에서는 40~70%의 수소 공여능을 나타내었을 뿐 다른 활성은 거의 나타내지 않았다. 이는 서론에서도 언급하였듯이 천연물에는 항산화 성분 이외에 활성을 상승시키는 물질이 함께 존재하였기 때문으로 이를 소분

Table 5. Antioxidant activity¹⁾ of estragole isolated from essential oil of neutral fraction of *bangah* herb

	Concentration level (µg/ml)	Inhibition potency (%)	IC ₅₀ ²⁾ (µg/ml)
Estragole	200	97	20~50
(Subfraction N-2)	50	91	
	20	2	
	5	-	
BHT			3
Caffeic acid			40
Gallic acid			68

¹⁾Inhibition activity against lipid peroxidation of rat liver microsomes in non-enzymatic Fe⁺⁺/ascorbate system

²⁾Concentration level required for 50% inhibition against lipid peroxidation of rat liver microsomes

Table 6. Antioxidant activities¹⁾ of subfractions in acidic fraction from *bangah* herb

Treatment	Assay system ^{b)}			
	A	B	C	D
Acidic fraction	+++	+	+	-
Subfraction A-1	±	+	-	-
A-2	++	-	-	-
A-3	+	±	±	-
BHT	+++	++	+++	+++
Caffeic acid	+++	++	+	+++
Gallic acid	+++	+++	+++	+++

^{1),2)}: Refer to Table 2

획하였을 경우 synergistic effect를 상쇄시키기 때문이라 생각된다⁽³¹⁾.

요 약

방아의 ether추출물을 중성, 페놀성, 산성 및 염기성 획분으로 분획한 다음 그들의 항산화 활성을 수소 공여능, 과산화물기, TBA가 및 흰쥐 간 microsome을 이용한 비효소적 지질 과산화 억제 활성 등으로 측정하고, 항산화 활성이 비교적 높게 나타나는 페놀성 획분과 중성 획분을 다시 소획분으로 분획한 다음 그중에서 항산화 활성이 강한 소획분성분을 GC/MS 및 NMR로 분석, 동정하였다.

페놀성 획분은 DPPH에 의한 수소 공여능, POV, TBA가 및 흰쥐 간 microsome의 지질 과산화 억제 활성 등 모두에서 높게 나타났으며, 중성 획분은 흰쥐 간 microsome의 지질 과산화 억제 활성에서 높게 나타났다.

페놀성 획분을 소획분으로 분획하였을 때 소획분 P-1, P-2 및 P-3에서 항산화 활성이 강하였으며, 특히

P-2는 합성 항산화제인 BHT나 천연 항산화물질로 알려져 있는 caffeic acid보다도 강하였다. 소획분 P-2를 TMS 유도체로 만들어 GC로 분석하였을 때 major peak 성분인 Peak I, II, III 및 IV 모두 TMS m/z 73를 base peak로 가지고 있어 4개의 peak 모두 -OH, -COOH기를 가지고 있는 것으로 확인할 수 있었다.

중성 획분의 소획분 중에는 N-2에서 강한 활성을 나타내었고 소획분 N-2의 주성분을 GC/MS 및 NMR로 분석한 결과 estragole로 확인되었다.

Estragole의 흰쥐 간 microsome의 지질 과산화 50% 억제 농도는 20~50 µg/ml로서 BHT보다는 약하였으나 caffeic acid, gallic acid와는 비슷한 수준의 항산화 활성을 나타내었다.

문 헌

1. 大澤俊彦, 並木滿夫: 天然抗酸化劑とその生理活性: *アドケミカル*, No. 9, p.42 (1985)
2. 尾本五良, 山壓司志郎, 芝原章, 吉田弘美: 抗酸化劑の理論と實際. 三秀書房 (1985)
3. 太田靜行: 食品と酸化防止劑. 食品資料研究會, p.39 (1987)
4. Budowsky, P.: Recent research on sesamin, sesamol and related compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **41**, 280 (1964)
5. Aoyama, M., T. Marayama, I. Niiya and S. Akatsuka: Antioxidant effects of tocopherols on palm oil by frying tests. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi*, **34**(11), 714 (1987)
6. Sherwin, E. R.: Antioxidants for vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 430 (1976)
7. 西村弘行: 植物栽培による石油生産の可能性. 化學と生物, **17**(12), 775 (1979)
8. Fukuda, Y., Osawa, T. and Namiki, M.: Studies on the enhancement in antioxidative activity of sesame seed induced by germination. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **32**(6), 407 (1985)
9. 野岐一彦: 抗酸化の現状と利用技術. *フドケミカル*, No. 9, 69 (1985)
10. 大澤俊彦: ゴマ種子中のリグナン類縁の抗酸化性. *フドケミカル*, No. 2, 65 (1988)
11. 高柿了士: 甘草抽出物サンカノンの抗酸化性とその利用. *フドケミカル*, No. 2, 75 (1988)
12. 中谷延二, 菊岐泰枝: ナツメグ, メ-スの抗菌, 抗酸化作用. *フドケミカル*, No. 2, 70 (1988)
13. Chipault, J. R., Mizuno G. R. and Lundberg W. O.: The antioxidant properties of spices in foods. *Food Tech.*, **10**, 209 (1956)
14. 藤尾秀治: 凍結乾燥食品における 香辛料と野菜の抗酸化性について. *New Food Industry*, **11**(8), 25 (1969)
15. 湯上進, 木村雄吉, 齊藤浩: 香辛料の科學(2), 香辛料の抗酸化性について. *食品工業* **14**(2), 57 (1971)
16. Chang, S. S., Biserka, O. M., Oliver, A. L., Hsieh and Huang, C. L.: National antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.*, **42**(4), 1102 (1977)
17. Naito, S., Yamaguchi, N. and Yokko, Y.: Antioxidative activities of vegetables allium species (studies on natural antioxidant part II). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **28**, 291 (1981)
18. Yamaguchi, N., Kanoo, M. and Kimiko, I.: Antioxidative activities of horseradish and mustard powder. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **31**, 114 (1984)
19. 장성준: 가자(*Terminalia chebular*) 추출물의 항산화 효과에 대하여. 경북대학교 석사학위논문 (1990)
20. 高柿了士, 甘草抽出物 サンカノンの抗酸化性と その利用 *アドケミカル*, No. 2, 75 (1988)
21. 송주택, 정현배, 진희성: 한국자원식물. 한국 자원 식물 연구소 (1972)
22. 고경식, 김윤식: 원색한국식물도감. 아카데미서적 (1988)
23. 안 빈, 양차범: 방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)의 향기 성분. 한국식품과학회지, **23**(5), 582 (1991)
24. 원선임, 지옥화, 양차범: 방아의 각종 유기용매 추출물의 항산화 효과. 한국생활화학연구(한양대학교), **13**, 149 (1995)
25. 岩淵久克, 吉倉正博, 小畑繁雄: 藥學雜誌, **104**(9), 951 (1984)
26. Fath, R. A. and Forrey, R.: Antioxidant determinations by use of a stable free radical. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 103 (1977)
27. Blois, M. S.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**(4617), 1199 (1958)
28. 能勢征子, 藤野直子: 植物性食品の抗酸化能及びアボカド果皮の抗酸化性物質. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **29**(9), 507 (1982)
29. Esterbauer, H., Lang, J., Zdravec, S. and Slater, T. F.: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York Vol. 105, p.319 (1981)
30. Wong, S. F., Haliwell, B., Richmond, R. and Skowroneck, W. R.: *J. Inorg. Biochem.*, **14**, 127 (1981)
31. Lake, B. G.: Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism, In *Biochemical Toxicology*, Snell, K. and Mullock, B. (Ed.), IRL Press, Oxford, Washington DC, p.183 (1987)

(1996년 9월 13일 접수)