

## 밤 귀피의 용매분획별 항산화 활성과 항산화 물질의 분리

권은정 · 김영찬 · 권미선 · 김창섭\* · 강우원\*\* · 이주백\*\*\* · 정신교†

경북대학교 식품공학과, \*경북대학교 농업개발대학원  
\*\*상주대학교 식품영양학과, \*\*\*대구보건대학 보건식품계열

### Antioxidative Activity of Solvent Fraction and Isolation of Antioxidative Compound from Chestnut Husk

Eun-Jung Kwon, Young-Chan Kim, Mi-Sun Kwon, Chang-Seob Kim\*  
Woo-Won Kang\*\*, Joo-back Lee\*\*\* and Shin-Kyo Chung†

Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea  
\*Graduate School of Agricultural Development, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea  
\*\*Dept. of Food Science and Nutrition, Sangju National Polytechnic University, Sangju 742-170, Korea  
\*\*\*Dept. of Health Food, Taegu Health college, Taegu 702-722, Korea

#### Abstract

To enhance the utilization of chestnut husk discarded in the processing company, antioxidative activities and compounds were investigated. Antioxidative activities of solvent fractions from chestnut husk were examined by benzoic acid hydroxylation method, ferric thiocyanate method and DPPH test. Ethyl acetate fraction showed strong antioxidative activities comparable to BHA. Active compounds were isolated and purified from ethyl acetate fraction by Sephadex LH-20 column chromatography and preparative HPLC. A major active compound, gallic acid was identified by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ -NMR. The phenolic acid contents was analyzed by GC and ellagic acid (172.22 mg%) and gallic acid (107.39 mg%) were major phenolic acid of chestnut husk.

Key words: chestnut husk, antioxidative activity, gallic acid, benzoic acid hydroxylation method

#### 서 론

현재 우리 나라 밤(*Castanea crenata* S. et Z.) 생산량은 1980년대 7만 톤에서 2000년에는 10만 톤으로 해마다 꾸준히 증가하고 있다. 밤의 소비형태는 생과용이 55%, 가공용이 45% 정도 차지한다. 특히 간 밤, 밤 통조림 등의 가공시 상당히 많은 양의 껍질이 발생되고 있으나 대부분은 폐기되고 있다. 지금까지 밤에 대한 연구는 주로 저장(1), 가공식품 제조(2), 밤 전분의 제조(3), 변색방지(4) 등 과육에 대한 연구가 주로 이루어져 왔으며, 밤 가공시 대량으로 폐기되는 껍질에 대한 연구로는 밤 속껍질의 페놀성 화합물에 대한 연구(5), 밤껍질을 이용한 폐수 중의 중금속 흡착에 관한 연구(6), 밤껍질로부터 밤 분말의 생산에 관한 연구(7) 등이 일부 이루어져 있으나 밤 껍질의 생리활성 기능적 측면에서의 이용에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 최근에는 양파껍질로부터 항산화 물질의 분리(8), 감귤껍질로부터 flavonoid의 분리(9), 감자 껍질의 항산화성(10) 등 폐기되는 식물 자원의 생리활성 자원으로서의 이용 방안에 대한 관심이 높아지고 있다. Chung과 Park(11)은 국내의 미활용 농산자원 즉, 잎, 씨, 과피 및 농산

가공 부산물들의 항산화 활성을 수용성 및 지용성 모델계에서 조사한 바, 밤의 삽피 및 귀피가 상당히 항산화 활성이 강한 것으로 나타났다. 따라서 본 연구는 밤 가공과정 중 대량 폐기되어지고 있는 밤 껍질을 항산화 기능성 소재로서 활용하기 위하여 밤 귀피의 methanol 추출물로부터 계통분획한 용매분획의 항산화성을 조사하고, 항산화성이 우수한 ethyl acetate 분획을 column chromatography 및 HPLC로 분리 정제하여 항산화 물질의 구조를 동정하였다.

#### 재료 및 방법

##### 재료 및 시약

본 실험에 사용한 밤(*Castanea crenata* S. et Z.)은 1997년 10월경 경남 합천군에서 구입한 만생종 은기(銀壽) 품종으로 귀피를 분리하여 음건 후 분쇄하여 실험에 사용하였다. Ferric chloride, Sephadex LH-20 gel, ammonium thiocyanate,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , 2-deoxy-ribose, DPPH( $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl), linoleic acid,  $\alpha$ -tocopherol, BHA(butyl-hydroxyl anisole) 및 GC용 표준 페놀산은 Sigma Chemical

†Corresponding author. E-mail: kchung@knu.ac.kr  
Phone: 82-53-950-5778. Fax: 82-53-950-6772

Co.의 제품을 사용하였고, HPLC용 methanol은 Fisher Scientific Co.의 제품을 사용하였으며, 기타 시약류는 분석용 특급 시약을 사용하였다.

**조추출물의 조제 및 용매분획**

건조, 마쇄한 밤 귀피 분말(80~100 mesh)에 10배 가량의 methanol을 가하여 12시간씩 3회 추출한 다음 여과 후 감압 농축하여 조추출물을 얻었다. 조추출물을 10% methanol에 현탁시킨 후 diethyl ether, ethyl acetate, *n*-butanol, water으로 계통분획하여 얻은 획분을 농축하여 항산화성 시험용 시료로 하였다.

**항산화성 시험**

**Benzoic acid 수산화 반응에 의한 항산화성 시험** : Fenton 반응으로 생성된 ·OH에 의해서 benzene 고리의 C<sub>3</sub> 또는 C<sub>4</sub> 위치에 수산화 반응이 일어나는 것을 이용한 Chung 등(12)의 방법을 따라 행하였다. 즉, 시험관에 0.1 mM Fe<sup>2+</sup>/EDTA 용액 200 µL, 10 mM sodium benzoic acid 200 µL, 시료액 200 µL(5 ppm, 0.5 ppm)와 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)를 첨가하여 1800 µL가 되게 한 다음, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200 µL를 가하여 37°C에서 2시간 반응시켰다. 여기에 0.1 mM diethylene-triaminepentaacetic acid(DTPA)용액 2 mL를 가하여 잘 혼합한 후 형광광도계(RF-5301PC, Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 305 nm 들뜸파장과 405 nm 형광파장에서 형광도를 측정하였다. 시료의 hydroxyl radical 소거능(%)은 아래와 같이 계산하였다.

$$\cdot\text{OH-scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{F.I.s - F.I.o}{F.I.c - F.I.o}\right) \times 100$$

*F.I.o* : Fluorescence intensity at Ex 305 nm and Em 405 nm with no treatment

*F.I.c* : Fluorescence intensity at Ex 305 nm and Em 405 nm of treated control

*F.I.s* : Fluorescence intensity at Ex 305 nm and Em 405 nm of treated sample

**Ferric thiocyanate(TCA)법에 의한 항산화성 시험** : Linoleic acid를 기질로 한 과산화 반응 하에서 과산화물의 생성 억제능을 측정하는 Nakatani와 Kikuzaki(13)의 방법에 따라 행하였다. 즉, 80% ethanol에 녹인 시료액 120 µL를 2.51% linoleic acid 2.88 mL, 40 mM phosphate buffer(pH 7.0) 9 mL와 혼합한 후 37°C에서 incubation하였다. 경시적으로 시료액 100 µL를 75% ethanol 9.7 mL에 희석한 후 30% ammonium thiocyanate 용액 100 µL, 20 mM FeCl<sub>2</sub>/3.5% HCl 100 µL씩을 가하여 진탕시킨 다음 정확히 3분 후에 분광광도계(UV-1601 PC, Shimadzu Co., Japan)를 이용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다음 식에 따라 과산화물 생성 억제능(%)을 계산하였다.

$$\text{Lipid peroxidation inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{(Abc - Abs)}{Abc}\right) \times 100$$

*Abc* : Absorbance of treated control at 500 nm

*Abs* : Absorbance of treated sample at 500 nm

**전자공여능에 의한 항산화성 시험** : 전자공여능(electron donating ability, EDA)은 각종 화합물에 의해서 α, α-diphenyl-β-picryl hydrazyl(DPPH) radical의 소거정도를 측정한 Kang 등(14)의 방법을 따라 행하였다. 즉, 시료 용액에 4×10<sup>-4</sup> M DPPH/ethanol 0.8 mL를 가한 후 10초간 강하게 진탕한 다음 10분간 방치 후 분광광도계를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음 식에 따라 계산하였다.

$$\text{EDA (\%)} = \left(1 - \frac{Abs}{Abc}\right) \times 100$$

*Abc* : Absorbance of control treatment at 525 nm

*Abs* : Absorbance of sample treatment at 525 nm

**항산화 물질의 분리 및 동정**

**Sephadex LH-20 column chromatography에 의한 분리** : Sephadex LH-20 gel을 충전한 column 상단에 methanol에 녹인 시료용액을 loading한 다음 80% methanol, 100% methanol, 70% acetone의 순으로 gradient LC(FOXY JA, Isco Inc., USA)로 용출시켰다. 용출 속도는 1.5 mL/min으로 하였다. 용출된 각 획분은 분광광도계를 이용하여 280 nm와 340 nm에서 흡광도를 측정하고 DPPH법으로 항산화성을 측정하였다.

**Prep-HPLC에 의한 분리** : Sephadex LH-20 column으로 분리한 획분 중 항산화 활성이 뛰어난 획분을 methanol에 녹인 후 0.45 µM membrane filter로 여과한 다음 Prep-HPLC(LC-10A, Shimadzu Co., Japan)로 분취하였다. 이때 사용한 column은 Develosil ODS-HG-5(8φ×250 mm, Nomura Co., Japan), 이동상은 30% methanol(0.1% TFA), 유속은 5 mL/min으로 하였고 시료 100 µL를 주입하여 분취하였다. 검출은 UV detector(SPD-10A, Shimadzu Co., Japan)를 사용하여 254 nm와 280 nm에서 실시하였다.

**Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy** : 밤 귀피로부터 분리한 성분의 <sup>1</sup>H-NMR(500 MHz)와 <sup>13</sup>C-NMR(125 MHz) 분석은 핵자기공명분석기(AMX-500 Varian Unity<sup>plus</sup>, Varian Co., USA)를 사용하였다. 정제된 성분을 acetone-*d*<sub>6</sub>:D<sub>2</sub>O(2:1, v/v) 용액에 용해시키고, tetramethylsilane(TMS)를 내부표준물질로 첨가하고, 상온에서 분석하였다.

**페놀산의 GC 분석** : 밤 귀피의 페놀산 분석은 Senter 등(15)의 방법을 이용하였다. 즉, 탈지시료 분말을 0.1 M HCl/methanol로 70°C에서 3회 반복 환류 추출하여 여과 후 농축하였다. 1 M HCl로 100°C에서 2시간 산가수분해시켜서 여과한 다음 ethyl acetate층으로 분리한 후 5% NaHCO<sub>3</sub> 용액으로 분획하였다. 이 알칼리 용액의 pH를 1 M HCl로서 pH 3.5로 낮춘 다음 다시 ethyl acetate로 분획하여 가용성 산성 획분을 얻었다. Ethyl acetate 획분을 질소기류 하에서 건조

시킨 후 *N, O*-bis-(trimethylsilyl)-acetamide : acetonitrile (1 : 4, v/v)-용액 0.9 mL를 가하여 60°C에서 15분간 반응시켜 TMS 유도체를 조제하였다. 유도체화된 시료를 SPB-5 capillary(0.53 mm×30 m)와 flame ionization detector가 장착된 GC(5890 series II, Hewlett-Pakard Co., USA)로 분석하였다. 분석조건은 초기온도 120°C(3분유지)에서 250°C까지 분당 6°C씩 승온하고 250°C에서 3분간 유지하였다. 주입구 온도는 230°C, 검출기 온도는 260°C, 운반가스는 질소를 사용하여 1 mL/min의 속도로 흘렸다. 분석된 각 물질은 표준물질의 retention time, peak area와 비교하여 정량하였다.

결과 및 고찰

밤 귀피의 용매획분별 항산화성

밤 외피의 methanol 추출물을 용매의 극성에 따라 diethyl ether, ethyl acetate, *n*-butanol, water층으로 분획한 후 이들 획분을 benzoic acid 수산화법과 ferric thiocyanate법으로 항산화성을 시험하였다. Hydroxyl radical( $\cdot$ OH)은 활성산소종 중에서 반응성이 가장 강한 라디칼로서 생체 산화에 중요한 역할을 하고 있다. 최근에는 이러한 산소 라디칼들이 생체내의 호흡효소계나 산화환원계에서 생성되어 노화와 질병에 관련이 있는 것이 알려지면서(16) 이들의 소거를 위한 항산화 물질에 대한 관심이 높아지고 있다. 밤 귀피의 methanol 조추출물 및 용매 획분을 5 ppm과 0.5 ppm 농도로  $\cdot$ OH에 대한 소거활성을 시험한 결과는 Fig. 1과 같다. Methanol 조추출물을 비롯한 용매획분은 0.5 ppm 농도에서 80% 정도의 소거활성을 보여 BHA보다는 다소 낮게 나타났다. 그러나 ethyl acetate 획분의 경우 0.5 ppm 농도에서는 다른 획분에 비하여 강한  $\cdot$ OH 소거활성을 보였으며 동일 농도의 BHA보다 오히려 높게 나타났다.

Linoleic acid를 기질로 하여 밤 귀피의 methanol 조추출물 및 용매획분을 50 ppm과 10 ppm의 농도로 첨가한 후 경시

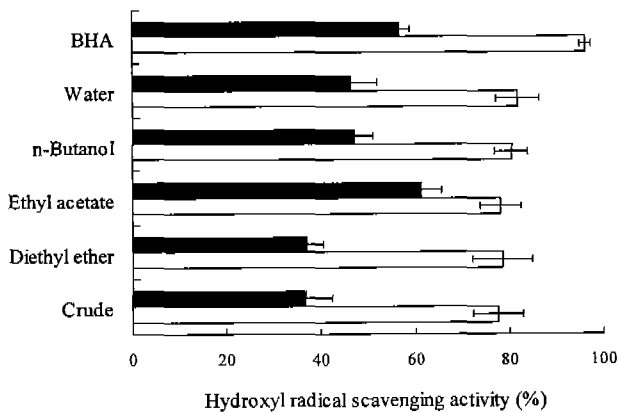


Fig. 1. Hydroxyl radical scavenging activities of solvent fraction from chestnut husk by benzoic acid hydroxylation method. Concentration of test solution. □, 5 ppm; ■, 0.5 ppm.

적으로 과산화물 생성 억제를 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 50 ppm 농도에서는 물 획분을 제외한 모든 획분이 90% 이상의 과산화물 생성 억제를 보여  $\alpha$ -tocopherol과 BHA와 거의 유사한 억제 활성을 보였다. 그러나 10 ppm 농도에서는 ethyl acetate, diethyl ether 획분이 BHA에 비하여 과산화물 억제 활성이 떨어지나  $\alpha$ -tocopherol보다는 우수한 활성을 보였다. 특히 diethyl ether 획분의 경우 benzoic acid 수산화법에 의한 hydroxyl radical 소거능에서는 가장 낮은 소거활성을 보였으나 linoleic acid 모델계에서는 다른 획분보다 우수한 항산화성을 보였는데 이는 diethyl ether 획분의 성분이 반응기질인 linoleic acid에 대한 친화성 및 용해성이 크기 때문으로 생각된다.

따라서 밤 귀피의 ethyl acetate 및 diethyl ether 획분은 천연항산화제로서 이용성이 크다고 생각되어 먼저 ethyl acetate 획분으로부터 항산화 물질을 분리하였다.

항산화 물질의 분리 및 동정

밤 귀피의 용매별 획분을 benzoic acid 수산화법 및 ferric thiocyanate법으로 항산화성을 조사한 결과 ethyl acetate 획분에서 우수한 항산화성을 보였다. 따라서 ethyl acetate 획분으로부터 항산화 물질을 분리하기 위하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 행하였다. Ethyl acetate 획분을 column에 loading한 후 80% methanol, 100% methanol, 70% acetone으로 순차적으로 용출시켰다. 용출은 1.5 mL/min의 속도로 15 mL씩 분취하였다. 분취한 획분을 동일하게 희석한 후 280 nm와 340 nm에서 흡광도를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 280 nm에서는 9번과 20번 획분 부근에서 높은 흡광도를 나타내었으나 340 nm에서는 20번 획분 부근에서만 강한 흡수대를 나타내어 흡수파장에 따른 흡광도의 차이를 보였다. 또한 이들 획분의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과 비교적 우수하게 나타난 획분은 280 nm와 340 nm에서 강한 흡수대를 보인 4~40번 획분이었으며 그 후의 획분들은 비교적 낮은 전자공여능을 보였다. 분리된

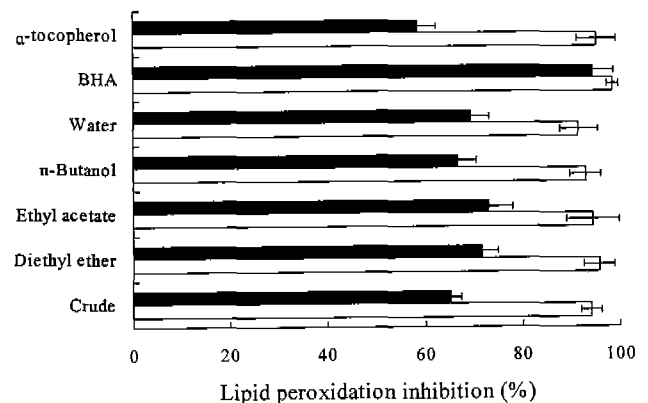


Fig. 2. Lipid peroxidation inhibitory activities of each solvent fraction from chestnut husk by ferric thiocyanate method. Concentration of test solution. □, 50 ppm; ■, 10 ppm.

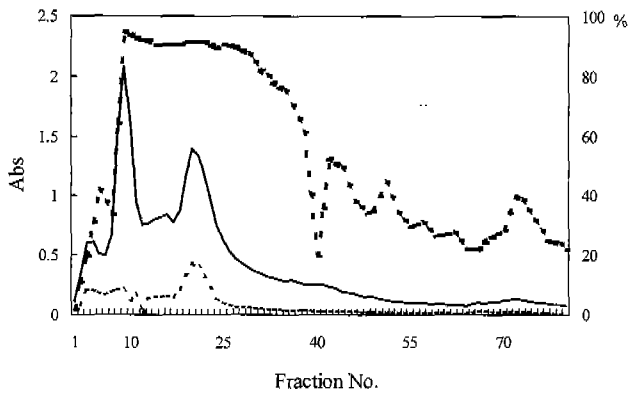


Fig. 3. Chromatogram of Sephadex LH-20 column fraction from ethyl acetate fraction of chestnut husk. —, 280 nm; ---, 340 nm; ···, Electron donating activity.

획분의 흡광도와 항산화성간에는 높은 상관관계가 있는 것으로 생각되어지며 항산화성 물질의 분리를 위하여 흡광도와 DPPH 라디칼 소거능을 기준으로 fraction No. 2~7을 SE 1, 8~13을 SE 2, 14~17을 SE 3, 18~26을 SE 4 그리고 65~77을 SE 5로 5개의 획분으로 구분하였다. Sephadex LH-20 column chromatography로부터 나눈 5개의 획분의 항산화성을 시험하기 위하여 각각의 획분을 농축, 건조하여 10 ppm과 1 ppm의 농도로 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 분리된 5개의 획분 중 SE 1 획분을 제외한 나머지 4개의 획분들은 Fig. 4와 같이 10 ppm과 1 ppm 농도에서 모두 강력한 항산화제로 알려진  $\alpha$ -tocopherol이나 BHA보다 강한 라디칼 소거능을 보였다. 획분들 간에는 거의 유사한 라디칼 소거능을 보이고 있지만 SE 2 획분에서 가장 강한 라디칼 소거능을 보이고 있으며 280 nm에서의 흡광도 또한 가장 높게 나타났다. 따라서 SE 2 획분으로부터 항산화 물질을 분리하기 위하여 HPLC를 행한 chromatogram은 Fig. 5와 같다. SE 2의 HPLC chromatogram으로부터 2개의 peak를 확인하였으며 이중 주 peak로 나타난 compound 1을 prep HPLC로 분취, 정제한 후

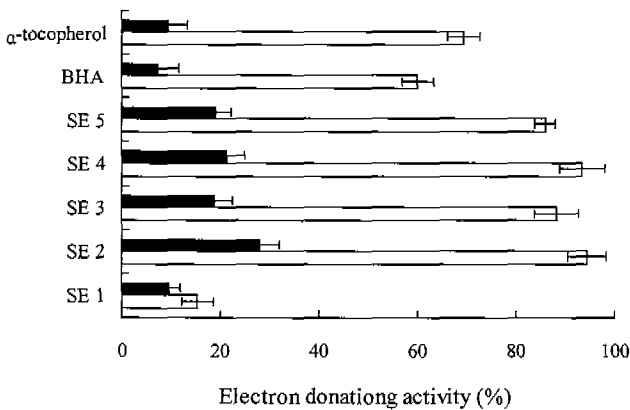


Fig. 4. Electron donating abilities of the ethyl acetate fraction from chestnut husk by Sephadex LH-20 column chromatography.

Concentration of test solution. □, 10 ppm; ■, 1 ppm.

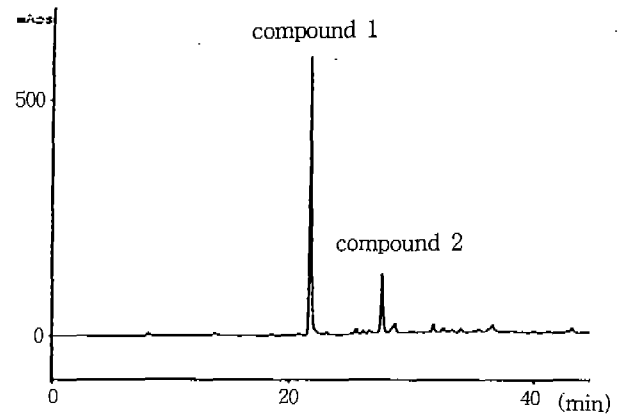


Fig. 5. HPLC chromatogram of SE 2 fraction from chestnut husk by Sephadex LH-20 column chromatography.

단일 peak임을 확인하고 구조분석을 행하였다. 단일 성분으로 분리된 compound 1을 acetone- $d_6$ :  $D_2O$ (1:1)에 용해하여 측정된  $^1H$ -NMR과  $^{13}C$ -NMR spectrum은 Fig. 6과 같으며 chemical shift값은 Table 1에 나타내었다.  $^1H$ -NMR spectrum에서 2 ppm과 4.3 ppm 부근의 peak는 용매의 peak이며, 7.017 ppm에서 2H에 해당하는 peak가 관찰되어 benzene 환

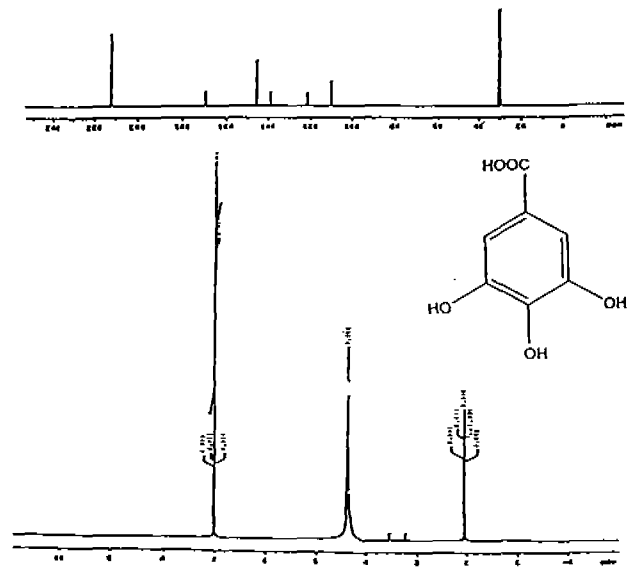


Fig. 6.  $^1H$  and  $^{13}C$ -NMR spectrum of compound 1 from chestnut husk (acetone- $d_6$ ).

Table 1.  $^1H$ -NMR and  $^{13}C$ -NMR spectral data of compound 1 from chestnut husk (acetone- $d_6$ + $D_2O$ )

Chemical shift (ppm)			
$^1H$ -NMR		$^{13}C$ -NMR	
H 2,6	7.017 (s, 2H)	C <sub>1</sub>	169.122
		C <sub>3,5</sub>	145.474
		C <sub>4</sub>	138.597
		C <sub>1</sub>	121.196
		C <sub>2,6</sub>	109.766

Table 2. Phenolic acid contents of chestnut husk by GC

Phenolic acids	Content (mg%, d.b.)
Salicylic acid	1.10
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1.19
Protocatechuic acid	27.74
Syringic acid	14.53
Gallic acid	107.39
Ferulic acid	27.55
Ellagic acid	172.22

의 H-2, 6 유래의 proton으로 assignment하였다.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum에서 5개의 carbon peak가 관찰되었으며 chemical shift 값 121.19 ppm을 C<sub>1</sub>, 109.76 ppm을 C<sub>2</sub> & C<sub>6</sub>, 145.47 ppm을 C<sub>3</sub> & C<sub>5</sub>, 138 ppm을 C<sub>4</sub>로 가장 저자장의 169.12 ppm을 carboxyl기의 peak로 assignment하여 이를 문헌(17,18)과 비교하여 이 물질을 분자식 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>인 gallic acid로 동정하였다. Gallic acid는 소목, 피마자, 가자피, 산수유 등에 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며 Lee 등(19)은 도토리로부터 분리한 gallic acid의 각종 유지에 대한 항산화성을 보고하였다. 또한 Cha 등(20)은 오배자의 methanol 추출물로부터 분리한 페놀화합물 중 항산화성이 우수한 물질로 gallic acid를 동정하여 보고한 바 있다.

#### 페놀산 함량

밤 귀피로부터 페놀산을 GC로 분석하여 gallic acid의 함량을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 표준품과의 머무름 시간을 비교하여 밤 귀피로부터 salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, syringic acid, gallic acid, ferulic acid, ellagic acid를 확인하였다. 이 중 gallic acid와 ellagic acid가 각각 107.39 mg%와 172.22 mg%로 다른 페놀산에 비하여 월등히 높은 함량을 보였다. Gallic acid는 강한 항산화작용을 가지는 것으로 알려져 있는데 Kang 등(14)은 수종의 페놀성 화합물의 전자공여능과 아질산염소거능을 조사한 결과 gallic acid가 강한 활성을 보였다고 보고하였고, Guo 등(21)은 과실류로부터 분리한 페놀화합물 중 caffeic acid, ferulic acid, gallic acid 등의 페놀산이 강한 라디칼 소거능을 가진다고 보고하였다. 또한 gallic acid는 산업적으로 gallic acid methyl ester(GM), gallic acid lauryl ester(GL), propyl gallate(PG)로 유도체로서 항산화제로 널리 사용되고 있다. Okezie 등(22)은 gallic acid 유도체의 항산화성을 시험한 결과 propyl gallate(PG)의 항산화성이 가장 높았다고 보고하였다. 따라서 밤귀피는 gallic acid의 강한 항산화성을 이용한 식품용 항산화제로 이용 가능성이 큰 농산물 가공 부산물로서 주목된다.

#### 요 약

밤 가공공장에서 폐기되고 있는 밤의 귀피를 항산화 기능성 자원으로 활용하고자, 밤 귀피의 methanol 추출물 및 용매획분을 benzoic acid 수산화법으로 hydroxyl radical 소거

능과 ferric thiocyanate법으로 과산화물생성 억제능을 시험하였다. 대부분의 획분에서 항산화성을 보였으며 특히 ethyl acetate 획분에서 BHA나  $\alpha$ -tocopherol과 거의 유사한 강한 hydroxyl radical 소거능과 지질과산화물생성 억제능을 보였다. Ethyl acetate 획분으로부터 항산화성 물질을 분리하기 위하여 Sephadex LH-20 column chromatography 및 prep HPLC를 행하여 단일 물질로 정제하였다. 분리, 정제된 물질을  $^1\text{H}$ -NMR과  $^{13}\text{C}$ -NMR로 구조 분석한 결과 gallic acid로 동정하였다. 페놀산을 GC로 분석한 결과 밤 귀피의 주요 페놀산으로 ellagic acid(172.22 mg%)와 gallic acid(107.39 mg%)가 확인되었다.

#### 감사의 글

본 연구는 1996년도 농림기술개발사업(관리번호: 296076)에 의하여 수행된 연구 결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

#### 문 헌

- Nha, Y.A. and Yang, C.B. : Changes of constituent components in chestnut during storage. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 1164-1170 (1996)
- Kim, S.K., Jeon, Y.J., Kim, Y.T., Lee, B.J. and Kang, O.J. : Sensory evaluation and retrogradation properties of chestnut mook. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 601-605 (1995)
- Park, Y.H., Kim, S.K., Lee, S.Y. and Kim, J.B. : Rheological properties of gelatinized chestnut starch solution. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 314-318 (1984)
- Cho, S.H., Sung, N.K., Ki, W.K., Hur, J.H., Shim, K.H. and Chung, D.H. : Effect of blanching on the prevention of discoloration in the thermal-treated chestnut powder. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **17**, 211-214 (1988)
- Lee, J.H. and Lee, S.R. : Analysis of phenolic substances content in Korean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 310-316 (1994)
- Shin, S.E., Cha, W.S., Seo, J.J. and Kim, J.S. : A study on the adsorption of heavy metals by chestnut shell. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **14**, 141-145 (1999)
- Gwan, J.B. : A study on the production of chestnut powder in the inner shell (endo carp) of a chestnut from its treatment plant-A basic study on the recycling process design of wasted inner shell. *J. Korea Solid Wastes Engineering Society*, **15**, 57-65 (1998)
- Ra, K.S., Chung, S.H., Suh, H.J., Son, J.Y. and Lee, H.K. : Inhibitor of xanthin oxidase from onion skin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 697-701 (1998)
- Jeong, W.S. and Chung, S.K. : Antioxidative activity of Korean citrus unshiu peels. *Food and Biotechnol.*, **6**, 292-296 (1997)
- Sylvester, N.O. and Navam, S.H. : antioxidant activity, fatty acid and phenolic acids composition of potato peels. *J. Sci. Food Agric.*, **62**, 345-351 (1993)
- Chung, S.K. and Park, J.C. : Research on novel antioxidative compound from the unutilized plant resources in Korea. Final report of the high-technology development project for agriculture, forestry and fisheries in Korea (1999)
- Chung, S.K., Osawa, T. and Kawakishi, S. : Hydroxyl radical-scavenging effect of spices and scavengers from brown mu-

- stard (*Brassica nigra*). *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 118-123 (1997)
13. Nakatani, N. and Kikuzaki, H. : A new antioxidative glucoside isolated oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2727-2734 (1987)
  14. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. : The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 232-239 (1996)
  15. Senter, S.D., Horvat, R.J. and Forbus, W.R. : Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. *J. Food Sci.*, **48**, 798-799 (1983)
  16. Singh, A. : Chemical and biochemical aspect of activated oxygen, singlet oxygen, superoxide anion and related specie. In *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. Miquel, J., Quintanilha, A.T. and Weber, H. (eds.), CRC press, Boca Raton, Florida, Vol. I, p.17 (1989)
  17. Kim, G.J., Oh, I.S., Whang, W.K. and Kim, I.H. : Phenolic compounds from *Cercis chinensis* leaves. *Yakhak Hoeji*, **6**, 600-609 (1995)
  18. Charles, J.P. and Jacquelyn, B. : *The Aldrich library of <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H FT-NMR spectra*. Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, p.1147 (1993)
  19. Lee, M.H., Jeong, J.H. and Oh, M.J. : Antioxidative activity of gallic acid in acorn extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 693-700 (1992)
  20. Cha, B.C., Lee, S.B., Rhim, T.J. and Lee, K.H. : Constituents of antioxidative activity and free radical scavenging effect from galla rhois (*Rhus javanica* Linne). *Kor. J. Pharmacogn.*, **31**, 185-189 (2000)
  21. Guo, G., Cao, G., Sofic, E. and Ronald, L.P. : High-performance liquid chromatography coupled with coulometric array detection of electroactive components in fruits and vegetables: relationship to oxygen radical absorbance capacity. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1787-1796 (1997)
  22. Okezie, I.A., Antonia, M., John, B. and Barry, H. : Evaluation of antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1880-1885 (1993)

(2001년 4월 2일 접수)