

배추김치의 dichloromethane 획분으로부터 항산화 물질의 분리 및 동정

이윤미 · 권명자 · 김재곤¹ · 서홍석¹ · 최재수² · 송영옥*

부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소
부산대학교 화학과 및 기능성소재 연구소, ²부경대학교 식품생명공학부

Isolation and Identification of Active Principle in Chinese Cabbage *Kimchi* Responsible for Antioxidant Effect

Yoon-Mi Lee, Myung-Ja Kwon, Jae-Kon Kim¹, Hong-suk Suh¹,
Jae-Soo Choi², and Yeong-Ok Song*

Department of Food Science and Nutrition/Kimchi Research Institute, Pusan National University
¹Department of Chemistry and Chemistry Institute for Functional Materials, Pusan National University
²Faculty of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University

The active compound responsible for the anti-oxidant activity in Chinese cabbage *kimchi* were isolated and identified. The dichloromethane fraction of Chinese cabbage *kimchi* with the greatest anti-oxidant activity was used. Silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, TLC, and Sep-pak cartridge were used for isolating the active compounds and IR, EI-MS, GC-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR were used to identify the structure of the isolated compounds. 3-(4'-Hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid of molecular weight 226, which had 3.4 times greater free radical scavenging activity than Vit. C and significantly greater anti-oxidant activity against LDL oxidation than the control, was obtained. This active principle may be beneficial in preventing hyperlipidemia and atherosclerosis in human.

Key words: *kimchi*, 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid, anti-oxidant, isolation, identification

서 론

김치의 건강증진에 관한 연구는 최근 여러 연구자에 의해 다양하게 수행되기 시작하여 과학적인 근거를 확립하고 있다. 이중 김치의 지질저하 효과는 김치 담금 시 사용되는 주재료들 내의 지질저하 효과가 있는 물질에 기인하는데, 배추의 β -sitosterol(1), 고추의 capsaicin(2,3), 마늘의 methylcystein sulfoxide 및 S-allylcystein sulfoxide(4-7) 등이 활성물질로 보고되어 있으며, 이외에도 양파의 allyl compound 그리고 배추, 고추 파 등에 함유된 β -carotenoids, flavonoids, phenol compound 등이 지질저하 효과를 가지고 있는 것으로 생각되고 있다. 배추김치의 지질저하 효과에 관하여는 김치의 항산화 효과(8,9), 동맥경화 예방 효과(10-21) 등이 보고되었다. 본 연구팀은 배추김치로부터 지질 저하 효과를 지니고 있는 활성물질을 분리 동정하기 위하여 배추김치의 용매획분별 지질저하 효과에 관한 연구를 *in vitro* 및 *in vivo*에서 수행하였을 때 배추김치의 dichlo-

romethane 획분의 LDL 산화억제 효과가 가장 높았고, 특히 고콜레스테롤 혈증을 유발한 토끼의 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 농도가 유의성 있게 감소하였음을 확인하였다(14,15). 이에 본 논문에서는 선행연구 결과를 바탕으로 배추김치의 dichloromethane 획분으로부터 항산화 효과 및 지질 저하효과를 가진 기능성 물질을 분리·동정하고자 하였다.

재료 및 방법

배추김치

김치 담금시 사용된 배추(*Brassica pekiinensis*)는 김해산(2.0-2.5 kg), 고춧가루는 경북 안동산인 청결고춧가루를 사용하였고, 기타 재료는 재래시장에서 구입하였다. 김치는 절인 배추 1kg에 고춧가루 18g, 마늘 7.5g, 생강 1.9g, 까나리 액젓 45g, 참쌀풀 12.8g을 섞은 양념으로 포기 김치를 담구어 5°C에서 15일간 숙성시켰다. 숙성된 김치의 염도는 2.24%, pH 4.13, 산도 0.75, 환원당 함량은 1.26%이고 젖산균은 9.07 logCFU/mL이었다. 김치는 동결건조하여 사용하였으며, 환원당 정량은 신(39)의 방법으로 실시하였다.

정제용 시료의 제조

김치의 활성성분을 분리하기 위하여 동결건조 김치를 극성

*Corresponding author : Yeong-Ok Song, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University 30 Jangjeon-Dong, Geumjeong-Gu, Busan 609-735, South Korea
Tel: 82-51-510-2847
Fax: 82-51-516-7421
E-mail: yosong@pusan.ac.kr

이 다른 용매를 사용하여 분획한 다음 LDL 산화 억제 활성이 가장 높은 획분을 선택하여 정제를 계속하였다. 즉 동결건조 김치를 hexan으로 탈지한 다음 이에 5배의 메탄올을 첨가하여 반복 추출하여 메탄올 추출물을 얻었다. 메탄올 추출물에 dichloromethane(CH₂Cl₂) : methanol : H₂O을 10 : 9 : 1로 혼합한 용액을 첨가하여 반복 추출하여 dichloromethane 획분을 얻었고, 잔사는 에틸아세테이트, 부탄올로 순차적으로 분획하여 아세테이트, 부탄올 그리고 물 획분을 얻었다. 이들 획분의 LDL 산화 억제효과를 측정하여 가장 활성이 높은 dichloromethane 획분을 선정하였다(14). 3 kg 동결건조 김치로부터 얻어진 dichloromethane 획분의 수율은 1.66%이었다. 정제를 계속하기 위하여, 용매 분획에 의해 얻어진 dichloromethane 획분을 다시 메탄올로 용해하여 용매에 녹는층과 잔사층을 분리한 다음 이들 두 층의 LDL산화 억제 효과와 free radical 소거능을 측정하여 활성이 높았던 dichloromethane의 메탄올층을 감압 여과하여 정제용 시료로 하였다. 이들로부터 silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, thin layer chromatography(TLC) 및 Sep-pak cartridge로 활성성분을 분리 정제하였다(Fig. 1).

분리 및 정제

1차 silica gel column chromatography: Silica gel(Kiesel gel Art 7734, Merck)을 CH₂Cl₂ : MeOH 20 : 1의 용매에 현탁시킨 후 column(150 cm×8 cm i.d.)에 충전시키고 동일 용매로 반복하여 씻어 내려 고정칼럼을 준비하였다. 이동상 시료는 정제용 시료를 CH₂Cl₂에 녹인 후 silica gel에 고루 흡착시키고 실온에서 건조 분쇄하여 분말화하였다. 활성성분의 용출은 최초 300 mL까지는 CH₂Cl₂와 메탄올 20 : 1 혼합액으로 하고, 이후 메탄올의 양을 점차적으로 늘여(10 : 1/5 : 1/3 : 1/2 : 1/1 : 1) 용출하였다(22,23).

Thin layer chromatography: 정제과정 중 얻어진 획분의 활성성분을 확인하기 위하여 TLC용 silica gel plate(Kiesel gel 60 F254, 두께 0.1-0.25 mm)을 이용하였다. 전개 용매는 CH₂Cl₂와 메탄올을 다양한 비율로 섞은 용매를 사용하였고, 활성성분의 위치 확인은 UV 254 nm에서 실시하였고, plate를 탄화시켜 R_f 값을 구한 후 R_f치별로 획분을 모았다(24,25).

Sephadex LH-20 column chromatography: Silica gel column chromatography에서 얻어진 동일 획분 중 DPPH 소거활성이 큰 획분을 모아 Sephadex column chromatography로 정제하였다(26,27). 상업적으로 가능한 Sephadex LH-20(Sigma, USA)에 활성획분을 올려 메탄올로 분획한 후, TLC상에서 활성을 확인하고, 활성 획분 중 R_f치가 높은 극성 획분은 Sephadex column chromatography를 반복적으로 실시하여 TLC상에서 단일 spot 으로 나타날 때까지 정제를 계속하였다.

Sep-pak cartridge을 이용한 정제: Sephadex column chromatography에서 얻어진 획분 중 R_f치가 낮은 비극성 활성성분이 들어있는 획분은 reversed-phase Sep-pak cartridge에 주입시킨 후 메탄올을 순차적으로 통과시켜 활성성분은 카트리지에 머무르게 하고 불순물은 제거하였다(28,29). 이를 반복적으로 실시하여 활성성분이 다량 카트리지에 머물 수 있도록 한 다음 메탄올과 dichloromethane 혼합 용액의 비율을 100 : 0/60 : 40/40 : 60/0 : 100의 순으로 바꾸어 주면서 활성성분을 용출하였다.

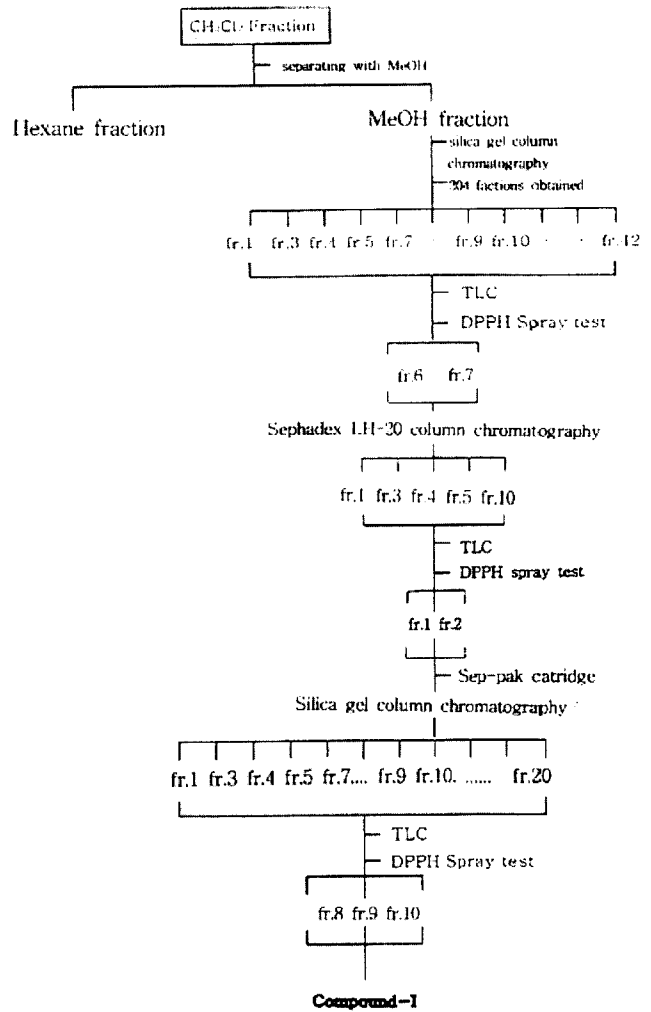


Fig. 1. Isolation of active compound responsible for antioxidant activity in CH₂Cl₂ fraction of Chinese cabbage kimchi. Compound-I is 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid.

2차 silica gel column chromatography: Sep-pak cartridge을 통과시켜 얻어진 활성 획분은 silica gel column chromatography를 반복적으로 실시하여 TLC상에서 단일 spot을 얻을 때까지 반복하여 정제하였다.

물질 동정

분리 정제된 활성성분의 동정은 infrared spectroscopy (IR) (30,31), electron impact-mass spectrometry(EI-MS)(32,33), gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS)(34), ¹H-NMR 그리고 ¹³C-NMR 등에 의해 수행되었다.

활성성분의 항산화성 확인

Column chromatography 정제과정 중 항산화성은 TLC상에서 전개된 물질에 7% DPPH 용액을 분사하여 활성을 확인하였다. 항산화성이 강할수록 노란색의 강도가 높아졌다. 김치 활성물질의 항산화성은 DHHP 소거능(35,36)을 측정하여 IC₅₀ 값을 구하였고 사람으로부터 분리한 LDL의 산화 억제능을 TBARS법(37)으로 측정하였다.

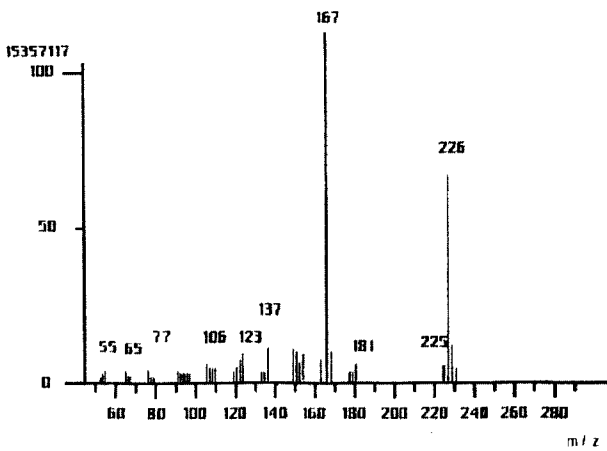


Fig. 2. EI-MS spectrum of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid, isolated from *Chinese cabbage kimchi*.

LDL의 분리

12시간 절식한 건강한 사람으로부터 채취한 혈액으로부터 혈장을 분리한 후 이를 density gradient ultracentrifugation을 하여 분리하였다(38). 분리된 LDL은 phosphate buffered saline으로 투석하고, 0.45 μm syringe-mountable filter로 살균시켜 실험에 사용하였다.

결과 및 고찰

김치의 항산화 활성물질의 동정

Dichloromethane 획분중 메탄올층을 분리 정제하여(Fig. 1) 얻어진 활성물질이 단일물질임을 확인하고 IR spectrum을 분석하였을 때 -OH, -COOH, -CH₃ 및 aromatic ring이 존재함을 확인하였다. 화합물의 질량 측정 및 구조해석을 위하여 EI-MS를 실시하여 226 m/z(M⁺)에서 분자 이온 peak가 관찰되었고 m/z 181에서 분자 이온 peak로부터 carboxyl기가 이탈된 peak가 발견되었다. Base peak는 분자이온 peak로부터 일련의 기들이 탈락하여 생성된 peak가 발견되었는데, m/z 167에서는 ·CH₂COOH 기의 이탈, m/z 153에서 ·CH₂CH₂COOH의 이탈, m/z 152에서는 수소 전이 후 CH₃CH₂COOH기의 이탈, m/z 121에서는 CH₃CH₂COOH 및 methoxy기의 이탈, m/z 164에서는 2개의 methoxy기 이탈, m/z 136에서는 CH₃CH₂COOH 및 OH의 이탈에 기인한 peak가 관찰되었다. 그리고 m/z 77에서 phenyl기가 확인되었다. 이 결과로부터 활성물질은 CH₃CH₂COOH, 2개의 CH₃O 및 OH로 치환되어 있는 4치환 benzene임을 확인하였다(Fig. 2).

구조식을 확인하기 위하여 ¹H-NMR 및 ¹³C-NMR을 실시하였고 그 결과는 Table 1과 2에 나타내었다. ¹H-NMR spectrum으로부터 δ 2.58 ppm 및 δ 2.85 ppm에 spin 결합정수가 8 Hz인 2개의 proton이, δ 3.80 ppm에는 단중선의 6개 proton이 존재하였고, δ 5.5 ppm에는 phenolic 수산기에 기인한 단중선이, δ 6.37 ppm에는 benzene ring에 기인한 2개의 proton. 단중선이 관찰되어 1,3,4' 및 5'의 위치에 치환기가 존재하고 1개의 대칭면이 있음을 확인하였고, 14개의 수소핵이 존재함을 확인하였다.

¹³C-NMR(75.0 MHz, CDCl₃) spectrum으로부터 δ 177.58 ppm에서 carboxyl기에 유래한 4급탄소, δ 147.02 ppm에서는 methoxy기와 결합한 aromatic ring상의 4급탄소 2개, δ 133.24 ppm에서는 수산기와 결합되어 있는 aromatic ring상의 4급탄소 1

Table 1. ¹H-NMR chemical shifts of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid isolated from *Chinese cabbage kimchi*

Proton	3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid (δ)
2	2.58(CH ₂ , 2H)
3	2.85(CH ₂ , 2H)
3', 5'	3.80(OCH ₃ ×2, 6H)
2', 6'	6.37(H×2, 2H)
1	5.5(COOH, H)

Table 2. ¹³C-NMR chemical shifts of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid isolated from *Chinese cabbage kimchi*

Carbon	3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid (δ)
1	177.582(COOH, 1C)
3', 5'	147.02(CH ₃ O-C, 2C)
4'	133.24(OH-C, 1C)
1'	131.37(CH ₂ CH ₂ COOH-C, 1C)
2', 6'	104.98(H-C, 2C)
CH ₃	56.27(CH ₃ O, 2C)
2	35.90(CH ₂ , 1C)
3	30.92(CH ₂ , 1C)

개, δ 131.37 ppm에는 methylene기와 결합되어 있는 aromatic ring 상의 4급탄소 1개, δ 104.98 ppm에는 수소와 결합해있는 aromatic ring상의 3급탄소 2개로부터 유래된 signal이 관찰되었다. δ 56.27 ppm에서는 methoxy기 2개로부터 오는 1급 탄소 signal과 δ 35.90 ppm 및 δ 30.92 ppm에서는 2개의 methylene기에 유래하는 2개의 2급탄소 signal이 관찰되었다. ¹³C-NMR로부터 총 11개의 탄소가 존재함을 확인하였다. 이상의 분석결과로부터 배추김치의 항산화 활성물질은 C₁₁H₁₄O₅의 분자식을 가진 분자량 226의 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid로 동정되었다(Fig. 3).

배추김치 활성물질의 항산화성 및 동맥경화 예방효과

배추김치 활성물질의 LDL 산화 억제 효과는 농도 의존적이며, 김치의 dichloromethane 획분에 비해 LDL 산화를 억제하는 효과가 현저하였다(Fig. 4). 그리고 이들의 free radical(유리기) 소거능을 살펴보았을 때 vitamin C에 비해 약 3.4배의 효과를 나타내어 강력한 항산화력을 보였다(Table 3). 이와 같은 강력한 유리기 소거능은 활성물질인 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid의 구조에서 설명을 찾아 볼 수 있다. 이 활성물질에는 4' 위치에 입체적으로 가리워져 있는 알코올 작용기가 있다. 즉 1', 3' 및 5' 위치의 작용기들에 의하여 입체적으로 가리워져 있으며 이와 같은 4' 알코올작용기는 유리기와 만나게 되면 자기 자신이 유리기로서 전환된다. 형성된 유리기는 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid의 페닐기에 의하여 공명안정화가 된다. 즉 불안정한 다른 유리기가 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid에 상응하는 안정한 유리기로 전환되어 불안정한 다른 유리기의 소거역할을 수행한다. 이와 유사하게 입체장애가 있는 페놀류등은 유리기 소거역할을 하는 것이 알려져 있다(40).

이러한 김치의 유리기 소거능과 LDL 산화억제 효과는 생체 내에서 지질산화를 억제하고, LDL 산화를 억제하는 기전으로 동맥경화를 예방하는 효과를 지닐 수 있을 것으로 생각된다.

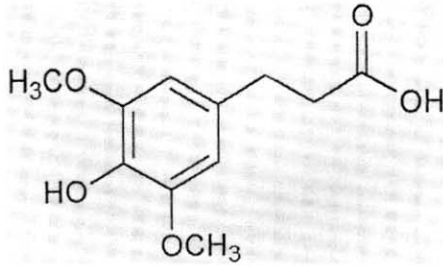


Fig. 3. Structure of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid, isolated from Chinese cabbage kimchi.

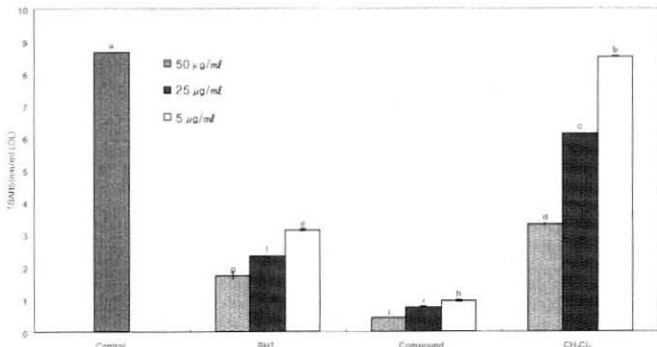


Fig. 4. Antioxidative effect of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid isolated from Chinese cabbage kimchi on LDL oxidation.

^{a-c}Data were significantly different by one-way ANOVA followed Duncan's multiple range test. Compound is 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid.

Table 3. The free radical scavenging effect of 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid isolated from Chinese cabbage kimchi on DPPH radical

Sample	50% reducta (SC ₅₀) µg/mL
3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl) propionic acid	0.78 ± 0.08 ¹⁾
CH ₂ Cl ₂ fraction	73.9 ± 2.07
Vitamin C	2.74 ± 0.32

¹⁾Amount required for reduction of DPPH after 30 min. Values are means of triplicates.

요 약

배추김치의 dichloromethane 획분의 수율은 약 1.66% 이었으며, 이로부터 silica gel column chromatography, Sepadex LH-20 column chromatography, Sep-pack cartridge 등을 이용하여 활성물질을 분리 정제하였고, IR, EI-MS, GC-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR로 구조를 확인하여 분자량 226인 3-(4'-hydroxyl-3',5'-dimethoxyphenyl)propionic acid로 밝혔다. 배추김치 활성성분의 DPPH 유리기 소거능은 vitamin C에 비해 3.4배 높았고, LDL 산화억제 효과는 대조군에 비해 현저히 높아 인체에서 지질저하 효과 및 동맥경화 억제 효과가 있을 것으로 예상된다.

감사의 글

본 연구는 과학재단에서 시행한 지역대학 우수과학자 지원 연구(R05-2000-000-00210-0)로 수행된 연구 결과의 일부로 연

구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Fujiwara M. Antihypercholesterolemic effect of sulfur containing amino acid, S-methyl-L-cysteine sulfoxide isolated from cabbage. *Experimenta* 28: 254-259 (1972)
- Kawada T, Hagigara K, Iwai K. Effect of capsaicin on lipid metabolism in rats fed diet. *J. Nutr.* 116: 1272-1279 (1986)
- Sambaiah K, Satyanaya MN. Influence of red pepper and capsaicin on body composition on lipogenesis in rats. *J. Biosci.* 4: 425-430 (1982)
- Stacy P, William SH. Garlic supplementation and lipoprotein oxidation susceptibility. *Lipids* 28: 475-477 (1993)
- Jain RC, Konar DB. Effect of garlic oil in experimental cholesterol atherosclerosis. *Atherosclerosis* 29: 125-129 (1978)
- Bordia A. Effect of garlic on blood lipids in patients with coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 2100-2101 (1981)
- Yoshinoro I, Kikuko I, Sukenari S, Fujiwara M. Effect of S-methylcysteine sulfoxide, s-allylcysteine sulfoxide and related sulfur containing amino acids on lipid metabolism of experimental hypercholesterolemic rats. *J. Nutr.* 103: 88-92 (1973)
- Lee YO, Park KY, Cheigh HS. Antioxidative effect of kimchi with various fermentation period on the lipid oxidation of cooked ground meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 261-266 (1996)
- Lee YO, Cheigh HS. Antioxidant activity of various solvent extracts from freeze dried kimchi. *Korean J. Life Sci.* 6: 66-71 (1996)
- Kwon MJ, Song YS, Song YO. Antioxidative effect of kimchi ingredients rabbits fed cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 1189-1196 (1998)
- Kwon MJ, Chun JH, Song YS, Song, YO. Daily kimchi consumption and its hypolipidemic effect in middle-aged men. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 1144-1150 (1999)
- Kwon MJ, Song YS, Choi MS, Park SJ, Jeong KS, Song YO. Cholesteryl ester transfer protein activity and atherogenic parameters in rabbit supplemented with cholesterol and garlic powder. *Life Sci.* 72: 2953-2964 (2003)
- Kwon MJ, Song YS, Choi MS, Song YO. Red pepper attenuates cholesteryl ester transfer protein activity and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Clinica Chimica Acta.* 332: 37-44 (2003)
- Hwang JW, Song YO. The effects of solvent fractions of kimchi on plasma lipid concentration of rabbit fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 204-210 (2000)
- Kim HJ, Kwon MJ, Song YO. Effects of solvent fractions of Korean cabbage kimchi on antioxidative enzyme activities and fatty acid composition of phospholipid of rabbit fed 1% cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 900-907 (2000)
- Kim HJ. Antiatherogenic effect of solvent fraction of cabbage kimchi in rabbit. MS thesis, Pusan National University, Busan, Korea (2000)
- Lee YM. Identification of active principle responsible for anti-atherogenesis in methanol extract of Baechu kimchi. MS thesis, Pusan National University, Busan, Korea (2000)
- Jeon HN, Kwon MJ, Song YO. Effects of kimchi solvent fractions on accumulation of lipids in heart, kidney and lung of rabbit fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 814-818 (2002)
- Jeon HN, Kim HJ, Song YO. Effects of kimchi solvent fractions on anti-oxidative enzyme activities of heart, kidney and lung of rabbit fed a high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 250-255 (2003)
- Choi SH, Kim HJ, Kwon MJ, Baek YH, Song YO. The effect of kimchi pill supplementation on plasma lipid concentration in healthy people. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 913-920 (2001)
- Choi MW, Kim KH, Park KY. Effects of kimchi extracts on the growth of Sarcoma-180 cells and phagocytic activity of mice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 254-260 (1997)
- Cazes J. Gel Permeation Chromatography. 6th ed. Academic Press, Orlando, FL, USA (1971)

23. Heftmann E. *Chromatography*. 5th ed. Elsevier Science, New York, NY, USA (1992)
24. Stable E. *Thin-Layer Chromatography*. 2nd ed. George Allen and Unwin, London, UK. pp. 27-39 (1973)
25. Tork H, Funk WT, Fischer W. *Thin-Layer Chromatography*. VCH, Weinheim. pp. 102-148 (1990)
26. Marston A, Hostettman K. Isolated and characterization of plants. *Nat. Prod. Rep.* 8: 391-403 (1991)
27. Bevan CD, Marshall PS. Studies on constituents of plants. *Nat. Prod. Rep.* 11: 45-53 (1994)
28. Scherer KV, Ono T, Yamanouchi K, Fernandez R, Henderson P. F-2,4-dimethyl-3-ethyl-3-pentyl and F-2,4-dimethyl-3-isopropyl-3-pentyl: Stable tert-perfluoroalkyl radicals prepared by addition of fluorine or trifluoromethyl to a perfluoroalkene. *J. Am. Chem. Soc.* 107: 718-724 (1985)
29. Charles C, Andrew JR. *Recombinant protein from plants: Production and Isolation of Clinically Useful Compounds*. Porter, Humana Press, New Jersey, NY, USA. pp. 560-608 (1998)
30. Nakanish K. *Infrared Spectroscopy Practical*. Nankodo, Tokyo, Japan. pp. 82-95 (1962)
31. Pretsch TF, Clear B, Seible GW, Simon AH. *Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds*. Chemical Laboratory Practical, Springer-verlog, NY, USA. pp. 32-51 (1993)
32. Silverstein R, Bassier MG, Morrill TC. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Springer, NY, USA. pp. 462-479 (1991)
33. Ferraro JR, Krishnam K. *Practical Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Academic Press, NY, USA. pp. 193-327 (1989)
34. Wolfender JL, Hostettmann K, Abe F, Nageo T, Okabe H, Yamauchi T. Liquid chromatography combined with thermospray and continuous-flow fast atom bombardment mass spectrometry of glycosides in crude plant extracts. *J. Chromatography* 712: 155-168 (1995)
35. Blos MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1190-1200 (1958)
36. Yoshida T, Mori K, Hatano T, Okumura T. Studies on inhibition mechanism of antioxidation by tannins and flavonoids-V. Radical scavenging effects of tannin and related polyphenols on DPPH radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37: 1919-1921 (1989)
37. Buege JA, Audt SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52: 302-310 (1978)
38. Hurt CE, Camejo G, Roseugren B, Lopez F, Ahlstrom C, Fager G, Bondjers G. Effect of arterial proteoglycans and glycosaminoglycans on low density lipoprotein oxidation and its up take by human macrophage and arterial smooth muscle cell. *Arterio. Throm.* 12: 569-582 (1992)
39. Shin HS. *Food Analysis, Theory, Experiment*. Shingwang Pub., Seoul, Korea. p. 91 (1987)

(2003년 10월 13일 접수; 2003년 11월 19일 채택)