KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 37, No. 5, pp. 833~837 (2005)

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

송화분, 참나무 및 백합화분 추출물의 항산화 효능

김석중* · 윤광섭 · 박희성[1]
대구가톨릭대학교 식품공학과, [1]생명공학과

Antioxidative Effect of Pine, Oak, and Lily Pollen Extracts

Seok Joong Kim*, Kwang-Sup Youn, and Hee Sung Park[1]
Department of Food Science and Technology
[1]Department of Biotechnology and Bioindustry, Catholic University of Daegu

Antioxidative activities of pine, oak, and lily pollen extracts were evaluated based on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging ability and inhibition of lipid peroxidation in animal tissues. Each pollen was extracted with 50% ethanol, 100% ethanol or water. DPPH radical-scavenging capacity of 50% ethanol extract (EC_{50} 40.0 mg/mL) of pine pollen was higher than those of water (46.8 mg/mL) and 100% ethanol (131.2 mg/mL) extracts of pollen. Fifty percent ethanol (3.2 mg/mL) was also better than 100% ethanol (4.5 mg/mL) and water (8.3 mg/mL) for extraction of oak pollen. For preparation of lily pollen extracts, 100% ethanol was most effective (14.0 mg/mL), followed by water (18.8 mg/mL) and 50% ethanol (24.0 mg/mL). Oak pollen showed higher DPPH radical-scavenging activity than others. Lipid peroxidation in rat brain homogenate induced by ascorbate-Fe3+-EDTA and rat kidney homogenate were inhibited by water extracts of all pollens in dose-dependent manner. Extracts of oak and lily pollen showed higher lipid peroxidation inhibition than pine pollen extract. Polyphenol content was highest in oak pollen extract (32.5±2.9 μg/mg pollen), followed by lily extract (25.9±1.4 μg/mg pollen) and pine extract (9.3±0.7 μg/mg pollen).

Keywords: pollen, DPPH radical, lipid peroxidation, polyphenol

서 론

벌에게 단백질과 아미노산의 주 공급원이 되는 화분(1)은 탄수화물, 지방, 비타민, 무기질(2,3) 등의 영양성분도 풍부하게 존재하는 것으로 알려져 있어 오래전부터 영양공급을 위한 식품이나 의약품으로 사용되어 왔다(4-6). 그리고 현재 미국에서는 꿀벌화분 (bee pollen)이 dietary supplement로(7), 독일에서는 의약품으로 공식 인정되었으며(8), 국내에서도 건강기능식품으로 판매되고 있다.

동의보감에 따르면 화분은 심장, 혈관 및 순환기계, 소화기계, 비뇨생식기계, 신경정신계, 피부과계, 안과계, 신진대사계, 이비인후과계 질환, 기타 관절염, 류마티스, 노화 등 다양한 질환에 효과가 있다고 알려져 있으며(9), 최근 동물을 이용한 실험에서 항산화(10-12), 면역 증강(13), 간손상 방어(12,14), 무기질 이용성 증진(15) 등의 다양한 효능이 알려지고 있다. 특히, 화분의 항산화능과 관련해서는 화분에 존재하는 다량의 flavonoid/polyphenol 물질들과 관련이 있는 것으로 추정되고 있다(7,16,17).

항산화 효능의 경우 건강 또는 질병의 억제 및 치료 등과 관련하여 관심을 끌고 있는데 그 이유는 생체산화를 일으키는 활성산소나 자유 radical들이 DNA, RNA, 단백질, 지질 등과 반응하여 세포나 조직에 손상을 유발하고 이는 고혈압, 동맥 경화, 뇌졸중 등 심혈관계 질환이나 암 발생 또는 노화를 촉진시키는 것과 관련 되는 것으로 알려지고 있기 때문이다(18). 이에 활성산소나 라디칼에 의한 생체 산화를 방지할 수 있는 항산화 물질이 각광을 받고 있으며, 특히 부작용이 낮은 천연소재에 대한 관심이 높다(19-21). 이와 관련하여 기능성 식품소재인 화분에 대해서도 항산화 효능 평가 및 효능물질인 polyphenol 분석이 진행된 바 있다(10-12,14,16,17). 그러나 이들 대부분의 연구는 주로 여러 종의 화분이 혼합된 꿀벌화분에 관한 것이고 단일 화분의 경우에도 송화분정도여서 기타 화분들에 대한 항산화 효능 평가 및 관련 성분에 대한 연구는 미미한 수준이다.

이에 본 연구에서는 우리나라에서 그 수량이 많은 소나무 및 참나무 유래 화분, 그리고 초본류로서 화분의 생산이 많은 백합화분에서의 항산화 물질 추출 조건, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 및 동물조직을 이용한 항산화 효능 평가, 그리고 polyphenol 함량분석을 수행하여 기능성 식품소재로서의 활용가능성을 조사하였다.

*Corresponding author: Seok Joong Kim, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Hayang, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea
Tel: 82-53-850-3218
Fax: 82-53-850-3218
E-mail: sjkim@cu.ac.kr

재료 및 방법

화분 추출물의 조제

실험에 사용된 송화분(*Pinus densiflora* S.et Z) 및 참나무화분(*Quercus mongolica* Fischer)은 2004년 5월 중순 대구가톨릭대학교 인근 야산에서 채취한 것이었고, 백합화분(*Lilium longiflorum* Thunb)은 직접 재배한 꽃으로부터 채취한 후 −70°C에서 실험 전까지 보관하였다. 화분 추출물의 제조를 위해서, 막자사발에서 동결 화분 0.6 g을 2분간 마쇄 한 후 추출용매 20 mL를 첨가하여 1분간 더 마쇄하였다. 추출용매로는 100% ethanol, 50% ethanol, 물을 사용하였다. 각 추출물을 9,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(HM-15-3, Hanil Ind. Co., Korea)시켜 얻은 상등액을 40°C에서 감압농축시킨 다음 각 추출용매를 이용하여 300 mg/mL 화분 추출물을 조제하였다.

DPPH radical 소거능 분석

DPPH radical 소거능 분석(16)을 위해 0.4 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액 0.8 mL에 2-3 mL의 ethanol을 가하고 10초 동안 강하게 진탕한 후 525 nm에서의 흡광도 값이 0.95-0.99가 되도록 준비하였다. 이 용액에 다양한 농도의 화분 추출물 0.2 mL을 첨가하여 10초 동안 강하게 진탕한 후 10분 동안 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 화분 추출물 대신 ethanol을 사용한 처리구의 흡광도를 대조구로 하였으며 화분추출물 처리구의 DPPH radical 소거능이 50%될 때의 화분 추출물 양을 EC_{50}으로 정하였다. 실험은 3회 반복 실험하였으며, 화분추출물과의 효능비교를 위해 ascorbic acid를 양성 대조구로 사용하였다.

DPPH radical 소거능(%) =
{1 − (대조구 흡광도 − 시료 처리구 흡광도/대조구 흡광도)} × 100

동물조직에 대한 항산화 효능의 분석

무게 200-300 g의 Sprague-Dawley계열 흰쥐를 ether로 마취시킨 다음 4°C의 0.85% 생리식염수 용액을 심장에 공급하면서 perfusion시켜 조직으로부터 혈액을 제거한 후에 뇌, 간, 신장을 적출한 다음 실험 전까지 −80°C에서 보관하였다. 각 조직 1 g에 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 10 mL를 첨가한 후 얼음 속에서 homogenizer로 4분간 균질화시켜 각 조직의 homogenate를 조제하였다(22). 각 조직 homogenate 0.5 mL에 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 1.3 mL, 1 mM EDTA-$FeCl_3$ 0.1 mL, 5 mM ascorbate 0.1 mL를 첨가한 후 37°C에서 1시간 반응시켜 조직의 산화를 유도하였다(23). 산화가 유도된 조직 homogenate는 10,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 지질산화의 분석에 이용하였다.

상기한 상등액의 지질산화도(lipid peroxidation)는 다음과 같은 조건에서 분석하였다(24). 즉, 각 시험관에 acetonitrile에 용해시킨 10.3 mM의 N-methyl-2-phenylindole 용액과 methanol이 3 : 1(v/v)로 구성된 혼합물 650 μL에 지질산화도 분석을 위한 상등액 200 μL를 첨가하고 3-4 초간 교반한 후 15.4 M의 methanesulfonic acid 150 μL를 가한 다음 재교반하였다. 각 시험관을 cork cap으로 막은 후 45°C의 shaking water bath에서 40분간 반응시킨 다음 꺼내 얼음 속에서 2분간 냉각시켜 586 nm에서 흡광도의 변화를 조사하였다. 발색 물질은 지질산화의 산물인 malondialdehyde(MDA)와 4-hydroxyalkenal(4-HDA)로서 조직 homogenate의 지질산화도는 nmol(MDA+4-HDA)/mg protein으로 나타내었으며 표준물질로 10 mM의 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 사용하였다. 한편, 화분 추출물의 산화억제 효능 평가를 위해서는 완충용액 대신 동량의 화분 추출물을 사용하였다.

상등액의 단백질함량은 bicinchoninic acid(BCA)법(25)을 이용하여 분석하였는데, 상등액 50 μL에 1 mL BCA 용액(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 혼합하여 60°C에서 30분간 반응시킨 다음 586 nm에서의 흡광도를 분석하였다. 표준물질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

Polyphenol 함량의 분석

화분 추출물에 존재하는 polyphenol 함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 Folin-Ciocalteau 법(26)으로 분석하였다. 즉, 0.5 mL 화분 추출물에 0.2 N의 Folin-Ciocalteau phenol 시약(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL 및 포화 Na_2CO_3 용액 0.5 mL를 혼합한 후 25°C에서 1시간 방치 후 765 nm에서의 흡광도를 분석하였다.

결과 및 고찰

화분 추출물의 DPPH radical 소거능

송화분, 참나무화분 및 백합화분의 항산화 효능을 분석하기 위해서 물 추출물, 50% ethanol, 100% ethanol 추출물을 농도별로 조제한 다음 이들의 DPPH radical 소거능을 비교하였다. 그 결과 송화분의 경우 Fig. 1에 나타난 바와 같이 모든 추출물에서 농도가 증가함에 따라 소거능이 증가함을 알 수 있었다. 특히, 각 추출물 별로 50%의 DPPH radical 소거능을 보이는 농도(EC_{50})를 구하기 위해 50% 효능 근처에서의 회귀선을 이용한 결과, 송화분은 50% ethanol 추출물에서 EC_{50}이 40.0 mg/mL로 가장 낮게 나타났으며 100% ethanol 추출물은 131.2 mg/mL, 물 추출물은 46.8 mg/mL이었다. 그러므로 송화분을 50% ethanol 용매로 추출하는 것이 DPPH radical 소거능을 지닌 항산화 물질의 추출에 가장 효과적이었음을 알 수 있었다.

참나무화분 추출물의 경우는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 50% ethanol 추출물에서 3.2 mg/mL의 EC_{50} 값을 나타내어 100% ethanol 추출물의 4.5 mg/mL, 물 추출물의 8.3 mg/mL보다 낮은 값을 보였다. 특히, 송화분 추출물과 비교 시 모든 추출조건에서 DPPH radical 소거능이 우수하였으며 가장 효능이 높았던 50% ethanol 추출물을 비교해 보면 송화분보다 약 12배 이상 효과가 높은 것으로 나타났다.

그러나, 백합화분(Fig. 3)에서는 앞의 두 화분과 달리 100%

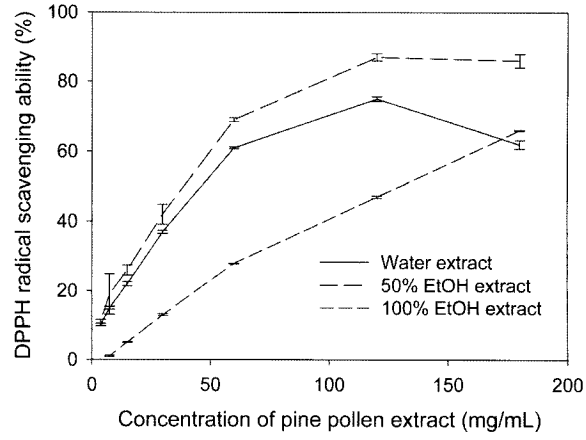

Fig. 1. DPPH radical scavenging ability of pine pollen extract.

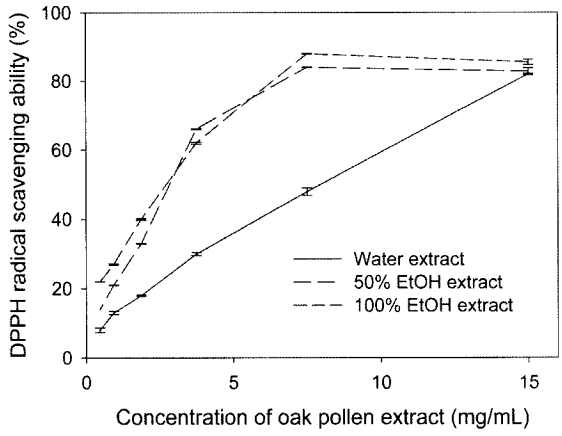

Fig. 2. DPPH radical scavenging ability of oak pollen extract.

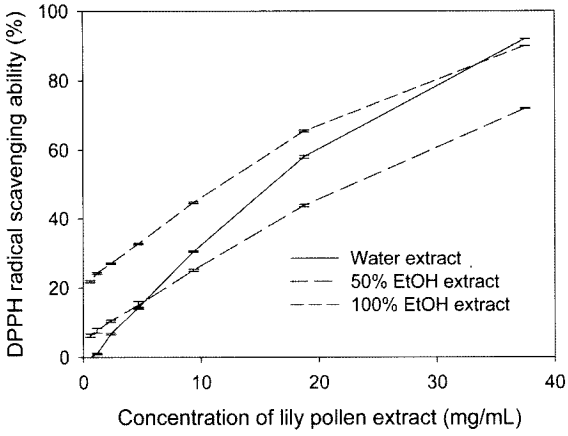

Fig. 3. DPPH radical scavenging ability of lily pollen extract.

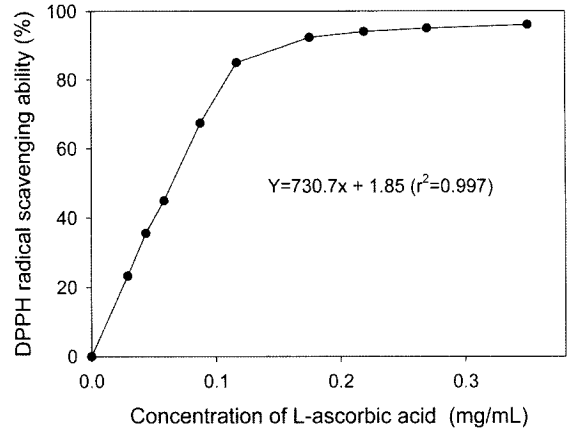

Fig. 4. DPPH radical scavenging ability of L-ascorbic acid.

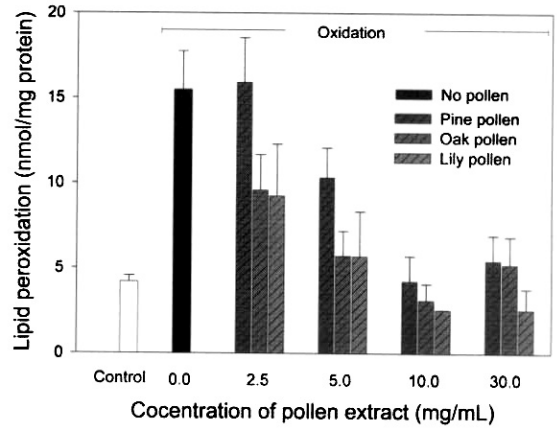

Fig. 5. Inhibition of lipid peroxidation by pollen extract in brain homogenate.
Lipid peroxidation in brain homogenate was induced by ascorbate-Fe^{3+}-EDTA as described in Materials and Methods.

ethanol 추출물의 EC_{50}값이 14.0 mg/mL로, 50% ethanol 추출물(24.0 mg/mL) 및 물 추출물(18.8 mg/mL)에 비해 가장 낮아 100% ethanol이 가장 좋은 추출용매임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 꿀벌화분의 ethanol, methanol/물, 물 추출물 조제시 추출수율에서 물이나 methanol/물이 우수하였으나, DPPH radical 소거능은 ethanol 추출물에서 가장 우수하였다고 보고한 Kroyer 등(7)의 결과와 유사한 것이다. 이와 같은 현상은 백합화분이나 꿀벌화분의 경우는 주로 초본식물의 꽃에서 유래한 화분이지만, 송화분이나 참나무 화분은 목본화분으로 그 특성에서 차이가 있기 때문으로 사료된다.

한편, 잘 알려진 항산화제인 L-ascorbic acid를 화분의 DPPH radical 소거능에 대한 양성대조구로서 비교한 결과, Fig. 4.와 같이 0.061 mg/mL의 EC_{50}을 보였다. 이를 기준으로 송화분 및 참나무화분의 50% ethanol 추출물을 평가해 보면, 두 화분은 각각 ascorbic acid의 1.5×10^{-3} 및 19.1×10^{-3}배 정도의 효능을 나타냈으며, 백합화분의 ethanol 추출물은 4.4×10^{-3}배의 효과를 나타내어 나타나 3종의 화분 추출물 중에서는 참나무 화분이 가장 우수한 DPPH radical 소거능을 지닌 것으로 평가되었다.

동물조직에 대한 산화방지 효능

DPPH radical 소거능 외에 실지 생체조직에서 일어나는 산화를 방지하는 효능을 분석하기 위하여 perfusion 시킨 흰쥐의 뇌 조직을 이용하여 화분 추출물 첨가 시, 활성산소에 의해 유도된 지질산화를 억제하는 정도를 평가하였다. 본 실험을 위한 화분 추출물은 물로 추출한 시료를 이용하였는데, 이는 물 추출물이 일반적으로 추출 수율이 높은 점(8), 생체조직 지질산화에 대한 ethanol의 촉진작용, 그리고 향 후 기능성 음료 형태 등으로의 가공 편의성, 또한 실지 DPPH radical 소거능 분석에서 물 추출물이 다른 용매 추출물에 비해 효능이 크게 낮지 않았던 점 등을 고려하여 우선적으로 효능을 평가하였다.

효능 평가와 관련된 뇌 조직의 지질산화는 ascorbate-Fe^{3+}-EDTA을 첨가하여 유도시켰는데, ascorbate-Fe^{3+}-EDTA는 ascorbate와 철이온의 반응을 통해 반응성이 매우 강한 hydroxyl radical(·OH)을 생성시켜 지질을 빠르게 산화시키는 것으로 알려져 있다(23). 뇌 조직에서 산화를 유도시킨 결과, Fig. 5에 나타난 바와 같이 지질산화도가 4.2에서 15.5(MDA+4-HDA) nmol/mg protein으로 증가하였다. 그리고 이러한 조건에서 각 화분 추출물을 농도별로 첨가한 결과, 송화분, 참나무화분, 백합화분 모두가 농도 의존적으로 뇌조직의 지질산화를 감소시켰으며 송화분보다는 참나무와 백합화분의 효능이 우수하였다.

또한 뇌조직 이외에 신장과 간조직을 이용한 화분 추출물의 산화 억제 효과를 분석하기 위하여 두조직에서도 ascorbate-Fe^{3+}-EDTA를 이용해 산화를 유도한 결과 신장에서는 지질산화가 유의적으로 증가하였다(Fig. 6). 그러나 지질산화도는 뇌조직에서보다는 높지 않았는데 이는 뇌조직이 다른 조직에 비해 산화가 가능한 지질 불포화도가 높고 항산화 효소계가 적은 이유

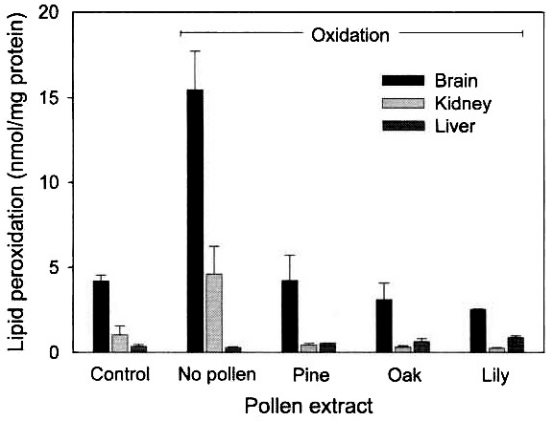

Fig. 6. Inhibition of lipid peroxidation by 10 mg/mL pollen extract in brain, kidney, and liver homogenate.
Lipid peroxidation in each homogenate was induced by ascorbate-Fe^{3+}-EDTA as described in Materials and Methods.

Table 1. Polyphenol content in water extract of pollen

Pollen	Polyphenol content (μg/mg pollen)
Pine	9.3±0.7
Oak	32.5±2.9
Lily	25.9±1.4

로 판단된다. 간조직의 경우에는 산화가 유도되지 않았는데 이는 간 조직에 다량의 항산화 효소와 저분자 물질이 존재하기 때문으로 추정된다. 한편, 신장조직에 10 mg/mL 화분 추출물 처리 시 뇌조직에서와 유사하게 송화분보다 참나무와 백합화분 추출물의 효능이 높게 나타났다. 간조직에서는 산화유도가 되지 않아 추출물의 효능평가는 불가능하였다.

이상의 결과로부터 동물조직에 대한 화분 추출물의 항산화 효능은 DPPH 라디칼 소거능과 유사하게 송화분보다 참나무화분과 백합화분이 높은 점을 알 수 있었다.

Polyphenol 함량

현재 화분의 항산화효능과 관련되어 가장 관련성이 높게 평가되는 성분은 화분의 flavonoid/polyphenol으로 알려지고 있다(7,16,17). Kroyer 등(7)은 DPPH radical 소거능이 우수한 ethanol 추출물에서 polyphenol 함량도 가장 높다고 보고하였다. 이에 본 연구에서도 각 화분 추출물의 항산화 효능과 polyphenol 함량과의 상관성을 조사하기 위해 화분 추출물에서 총 polyphenol 함량을 분석하였다. 그 결과 Table 1과 같이 DPPH radical 소거능 및 뇌, 신장 조직에 대한 항산화 효과가 가장 낮았던 송화분 추출물에서 polyphenol 함량이 가장 적게 나타났으며, radical 소거능 및 지질에 대한 항산화 효능이 높았던 참나무화분과 백합화분에서 함량이 높게 나타났고, 특히 참나무 화분에서 함량이 가장 높았으며 DPPH radical 소거능과 polyphenol의 함량이 잘 일치하였다.

일반적으로 polyphenol 함량과 조성은 화분분류의 기준(27)이 되기도 하는데, Serra Bonvehi 등(28)은 화분의 가장 풍부한 성분은 주로 flavonol이고 기타 rutin, quercertin, myricetin 등이 주요 polyphenol이라고 보고한 바 있다. 이와 관련하여 Campos 등(17)은 화분의 polyphenol 함량 뿐 아니라 polyphenol 종류의 차이에 의해서도 화분의 항산화능이 차이가 있음을 보고한 바 있다. 또한 이들은 화분의 저장 기간 동안에 falvonoid/phenol 함량 감소는 없이 항산화능이 감소한다고 보고하여 화분의 항산화능에는 polyphenol 이외의 다른 성분이 관여하고 있음을 추정한 바 있다. 이에 본 연구에서 참나무화분과 백합화분이 polyphenol 함량에서 차이가 있음에도 불구하고 지질에 대한 항산화능이 유사한 이유도, 두 화분 간에 polyphenol 종류의 차이 및 기타 다른 항산화 성분의 존재 등과 관련이 있으리라 판단되었다.

요 약

송화분, 참나무화분 및 백합화분에 대한 항산화 효능을 DPPH radical 소거능 및 동물조직의 지질산화 억제효능을 이용하여 평가하였다. 각 화분을 ethanol, 50% ethanol 및 물을 이용하여 추출물을 조제한 후 이들에 대한 DPPH radical 소거능을 분석한 결과 50% 소거능을 나타내는 EC_{50} 값은, 송화분의 경우 50% ethanol 추출물(40.0 mg/mL)이 가장 낮게 나타났으며 물 추출물(46.8 mg/mL), 100% ethanol 추출물(131.2 mg/mL) 순 이었다. 참나무화분에서는 50% ethanol 추출물(3.2 mg/mL), 100% ethanol 추출물(4.5 mg/mL), 물 추출물(8.3 mg/mL) 순이었고 백합화분에서는 100% ethanol 추출물의 EC_{50}값이 14.0 mg/mL로, 50% ethanol 추출물(24.0 mg/mL) 및 물 추출물(18.8 mg/mL)에 비해 가장 낮았다. 3 종의 화분에서는 참나무 화분의 DPPH radical 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 한편 ascorbate-Fe^{3+}-EDTA에 의해 유도되는 뇌조직에서의 지질산화도는 송화분, 참나무화분, 백합화분 추출물에 의해 모두 농도 의존적으로 억제되었으며 신장에서의 지질산화도 억제되었다. 그리고 이 중에서 송화분보다는 참나무와 백합화분의 효능이 우수한 것으로 나타났다. 화분 추출물에 대한 총 polyphenol의 함량을 분석한 결과 참나무화분(32.5±2.9 μg/mg pollen)이 백합화분(25.9±1.4 μg/mg pollen)이나 송화분(9.3±0.7 μg/mg pollen)보다 높게 나타났다.

문 헌

1. González Paramás AM, Gómez Bárez JA, Cordón Marcos C, García-Villanova RJ, Sánchez Sánchez J. HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee pollen). Food Chem. 95: 148-156 (2006)
2. Lee BY, Choi HD, Hwang JB. Components analysis of Korean pollens and pollen extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 867-875 (1997)
3. Serra Bonbehi J, Escola Jorda R. Nutrient composition and microbiological quantity of honeybee-collected pollen in Spain. J. Agric. Food Chem. 45: 725-732 (1997)
4. Lynghein L, Scagnetti J. Bee Pollen-Nature's Miracle Health Food. Wilshire Book Co., Hollywood, CA, USA. pp. 1-90 (1979)
5. Abreu M. Food use of pollen in relation to human nutrition. Alimentaria 235: 45-46 (1992)
6. Block G, Sinha R, Gridley G. Collection of dietary-supplement data and implication for analysis. Am. J. Clin. Nutr. 59 (Suppl. 1): S234-S239 (1994)
7. Kroyer F, Hegedus N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 2: 171-174 (2001)
8. Linskens HF, Jorde W. Pollen as food and medicine-A review. Econ. Bot. 51: 77-78 (1997)
9. Lew YS. A review on the efficacy of natural pollen described in an orient medical handbook Dong-Eul-Pogam. Korean J. Apiculture 3: 26-47 (1988)
10. Dudov IA, Starodub NF. Antioxidant system of rat erythrocytes under conditions of prolonged intake of honeybee flower pollen

load. Ukrainian Biochem. J. 66: 94-96 (1994)
11. Uzbekova DG, Makarova VG, Khvoynitskaya LG, Slepnev AA. Evaluation of bee-collected pollen influence on lipid peroxidation, antioxidant system and liver function in old animal. J. Hepatol. 38 (suppl.2): 203 (2003)
12. Lee YJ, Park MH, Bae MJ, Han JP. Effect of pine pollen on serum and liver lipids in rats in a fed high fat diet. J. Korean Soc. Food Nutr. 23: 192-197 (1994)
13. Dudov I.A, Mornets AA, Artinkh VP, Starobub NF. Immunomodulatory effect of honeybee flower pollen loas. Ukrainian Biochem. J. 66: 91-93 (1994)
14. Yeo JY, Lee YJ, Han JP. Effect of pine pollen proteins on rat liver injury induced CCl_4, J. Korean Soc. Food Nutr. 25: 34-38 (1996)
15. Haro A, López-Aliaga I, Lisbona F, Barrionuevo M, Alferez MJM, Campos MS. Beneficial effect of pollen and/or propolis on the metabolism of iron, calcium, phosphorus, and magnesium in rats with nutritional ferropenic anemia. J. Agric. Food Chem. 48: 5751-5722 (2000)
16. Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicals, hydroxyl radicals, and DPPH radicals. Nutr. Res. 22: 519-526 (2002)
17. Campos MG, Webby RF, Markham KR, Mitchell KA, Cunha AP. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. J. Agric. Food Chem. 51: 742-745 (2003)
18. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd ed., Glarendon Press, Oxford, UK. pp. 416-508 (1993)
19. Frei B. Natural Antioxidants in Human and Disease. Academic Press, NY, USA. pp. 107-128 (1994)
20. Eriksson CJ, Na A. Antioxidant agents in raw materials and processed foods. Biochem. Soc. Symp. 61: 221-234 (1996)
21. Ramaranthnan N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidants to human health. Trend. Food Sci. Technol. 6: 75-82 (1995)
22. Pless G, Frederiksen TJ, Garcia JJ, Reiter RJ. Pharmacological aspects of N-acetyl-5-methoxytryptamine (melatonin) and 6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline (pinoline) as antioxidants: reduction of oxidative damage in brain region homogenates. J. Pineal Res. 26: 236-246 (1999)
23. Kim SJ, Reiter RJ, Qi W, Tan D, Cabrera J. Melatonin prevents oxidative damage to protein and lipid induced by ascorbate-Fe^{3+}-EDTA: Comparison with glutathione and α-tocopherol. Neuroendocrinol. Lett. 21: 269-276 (2000)
24. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Method. Enzymol. 186: 407-421 (1990)
25. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD. Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal. Biochem. 50: 76-85 (1985)
26. Singleton VL, Joseph A, Rossi J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144-158 (1965)
27. Campos MG, Mitchel K, Cunha A, Markham KR. A systematic approach to the characterization of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. Phytochem. Anal. 8: 181-185 (1997)
28. Serra Bonvehí J, Torrentó MS, Centelles Lorente E. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. J. Agric. Food Chem. 49: 1848-1853 (2001)

(2005년 8월 24일 접수; 2005년 9월 9일 채택)