

Basil(*Ocimum basilicum* L.) 추출물의 생리활성 탐색

김정환 · 윤소정 · 이경환 · 권효정 · 천성숙¹ · 김태완² · 조영제*

상주대학교 식품공학과, ¹영남대학교 식품가공학과, ²경북대학교 농업과학 기술연구소

Screening of Biological Activities of the Extracts from *Basil* (*Ocimum basilicum* L.)

Jeung-Hwan Kim, So-Jung Yoon, Kyoung-Hwan Lee, Hyo-Jung Kwon, Sung-Sook Chun¹, Tae-Wan Kim² and Young-Je Cho*

Department of Food Engineering Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

¹Department of Food Science & Technology Yeungnam University, Gyeongsan, 712-749, Korea

²Institute of Agricultural Science & Technology Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

Received January 3, 2005; Accepted March 14, 2005

Physiological functionalities of water and ethanol extracts from *Basil* were determined. The concentration of total phenolic compounds of the water and ethanol extracts were 286.0 µg/ml, 250.0 µg/ml. Antioxidant activities of *Basil* extracts were determined using 2,2'-azinobis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cations (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl radicals (DPPH), antioxidant protection factor and thiobarbituric acid reactive substances. The total antioxidant activities of *Basil* extracts using ABTS were 96.8% in the water extracts and 94.7% in the ethanol extract, DPPH were 87.0%, 93.9%, PF were 0.69, 1.16 and TBARS were 0.2×10^{-3} µM, 0.6×10^{-3} µM. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity and xanthine oxidase inhibitory activity of *Basil* were higher in ethanol extracts (99.7%, 100.0%) than those of water extracts (39.9%, 54.7%). Phenolic profiles in *Basil* extracts were analyzed using HPLC. The result was that among the 6 phenolics, rosmarinic acid was the highest in ethanol extracts.

Key words: biological activity, *Basil* (*Ocimum basilicum* L.), xanthine oxidase, angiotensin converting enzyme, antioxidant

서 론

생체 내에서 에너지 생산을 위한 산화과정 중에 상당량의 활성산소들이 생성된다. 이들 활성산소는 생체 내 제거기작에 의해 대부분 소멸되지만 순간적으로 활성산소가 다량으로 발생되거나 만성적으로 활성산소가 발생되어 항산화방어체와의 균형이 깨지면 각종 질환의 원인이 된다. 즉 류마티스성 관절염, 세균성이나 바이러스성 감염, 심장병, 파킨슨씨병, 알츠하이머, 암, 세포 노화 등이 활성산소에 의해 유발된다고 알려져 있다.¹⁾ 활성산소의 독성을 억제하기 위한 항산화성 물질로는 아스코르브산, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 아미노산, 펩티드, 단백질, 인지질 등의 천연 항산화제²⁾와 butylated hydroxy anisol(BHA) 및 butylated hydroxy toluene(BHT) 등 합성 항산화제가 있다. 천연 항산화제들은 항산화력이 비교적 낮고 합성 항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로

인체에 암을 유발할 수 있다는 보고가 있어³⁾ 보다 안전하고 효력이 강한 항산화제의 연구가 요구되고 있고 현재 산화반응을 억제하는 항산화 물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 최근에는 식물류에 들어 있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아져 이들 생리활성 성분을 함유한 천연식품 소재들을 천연 항산화제와 항진균제의 원료로 이용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다. 식품에 존재하는 생리활성 물질의 대부분은 페놀성 화합물이고 이들 페놀성 화합물들은 일반적으로 수용성이며 플라보노이드류가 주를 이루고 단순한 페놀류, 페놀산, 페닐 프로파노이드류, 페놀성 퀴논류들을 포함하는 것으로 항세균, 항알레르기, 항산화, 항종양, 항암, 충치방지, 심장질환 및 당뇨병 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.^{4,6)} 여러 가지 herb 중에서 토마토 풍미에 좋고 이탈리아에서는 전통적으로 토마토 퓨레의 제조나 토마토를 사용하는 요리의 기초적인 향미재료로서 이용되는 *Basil*(*Ocimum basilicum* L.)은 수분 5~7%, 정유 0.2~0.4%, 조지방 3~4%, 전회분 13~17%, 조섬유 18~21% 단백질 10~12%의 일반성분으로 이루어져 있으며 주성분인 methysabicol은 anise의 향기를 가지고 또 linarol은 계곡의 백합

*Corresponding author

Phone: +82-54-530-5265; Fax: +82-54-530-5269

E-mail: yjcho@sangju.ac.kr

을 생각나게 하는 달콤한 좋은 향기의 알코올이다. 이 외에 eugenol이 존재하지만 clove와 같은 달콤함과 약간의 매운맛이 난다. 수증기 증류에서 얻은 Basil oil은 널리 가공식품분야에서 사용되고 있다. 토마토 가공품, 육제품, 소스, 드레싱 등에 달콤하고 상큼한 향의 flavor로서 널리 이용되지만 식품의 향료 이외에도 구강청량제, 치약용 향료 및 사료용 향료 그리고 화장품 향료 등에도 많이 사용되고 있으며, Saponin 등을 함유하고 있으므로 의약품분야에서 신경통약으로 사용된다. 프랑스의 식품 의료가 모리스 메세제의 약초요법에 의하면 현기증, 산통, 객담, 구내염, 백일해, 그리고 신경, 소화불량으로부터 오는 두통 등에 탁월하다고 설명하고 있다.⁷⁾

최근 우리나라는 국민소득의 증가와 함께 의학 및 생명과학의 발달로 인하여 평균수명이 증가하고 있는 추세이나 식습관의 변화와 환경조건의 악화로 성인병의 발병율이 높아지고 있다. 또한 스트레스에 시달리는 현대인들은 자연지향 또는 건강지향에 관심이 높아져 가고 있으며, 특히 성인병에 대한 관심이 날로 증가하고 있다. 따라서 영양, 건강이나 식품의 품질을 증진시킬 수 있는 항산화성과 항진균성이 높고, 기능성을 겸비한 허브의 수요가 확대될 수 밖에 없는 시점에 이르렀고 허브를 이용한 식품의 개발이 이루어지고 있다. 현재까지도 성인병의 치료에는 한계가 있으므로 항산화 효과와 항진균 효과가 풍부한 식품을 일상적으로 섭취함으로써 이들 식품구성성분의 생체조절기능에 대한 효과를 병행하는 방법 등이 다양하게 검토되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 Basil로부터 생리활성 물질 탐색 연구의 일환으로 고혈압을 유발하는 angiotensin converting enzyme(ACE), 관절염을 유발하는 xanthine oxidase(XOase)의 저해물질을 분리하고 저해효과를 검토하여 기능성을 입증하고 항산화효과와 항진균 효과를 살펴봄으로써 기능성식품 소재로서 활용키 위한 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 실험장치. BHT, yeast extract, beef extract, pyruvic acid, β -carotene, H_2O_2 , linoleic acid, tween 40, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), XOase, xanthine, ACE, hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL), hippuric acid 등은 Sigma사(USA)의 특급시약을 사용하였으며, 시료의 페놀 분리에 사용한 HPLC는 Agilent 1100 series와 VWD 1100 UV detector를 사용하였고 이동상으로서 메탄올은 J.T.Baker사의 HPLC급을, phosphoric acid, Folinicocalteu시약, trichloroacetic acid(TCA), Na_2CO_3 , HCl 등은 일제 특급시약을 사용하였다.

시료의 선정. Basil은 herb 농장에서 재배되고 있는 것을 일단 채취하여 열풍건조기를 이용하여 50°C에서 건조시켜 분말화하여 물과 에탄올로 추출하여 사용하였다.

추출물의 조제. Basil 잎의 알콜추출액은 60% ethanol 70 ml에 Basil 건조잎 3 g을 넣고 24시간 진탕 추출한 후 원심분리하였고, 열수추출액은 증류수 150 ml에 Basil 건조잎 3 g을 넣고 액이 70 ml가 될 때까지 가열한 후 냉각하고 24시간 동안 교반 추출하고, 10,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 각각의 상정액을 Whatman No. 1 여과지로 여과한 후 필요에 따라

Table 1. HPLC eluent condition (v/v,%) for separating phenols

Time (min)	Methanol	Phosphoric acid (pH 2.5)
0	60	40
8	60	40
15	100	0
18	0	100
25	0	100

This experiment repeated 6 times.

rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Phenol 화합물 정량.⁸⁾ 시료 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml를 첨가하고 1 N Folin-cicalteu reagent 0.5 ml를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, Na_2CO_3 1 ml를 가한 후, 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 표준곡선으로 양을 환산하였다.

HPLC 분석. 표준 용액은 protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosemarinic acid, quercetin 총 6종을 메탄올에 용해시켜 사용하였고 시료는 0.2 μ m filter로 2 ml를 여과하고 그중 5 μ l를 주입하여 분석하였다. 분석 조건은 column은 Agilent Zorbax(SB-C18, 250 \times 4.6 mm)를 30°C로 유지하였고, 검출기는 VWD UV detector를 사용하여 306 nm에서 측정 하였다. 이동상은 메탄올과 phosphoric acid(pH 2.5)이며 기류 용리 조건은 Table 1에 나타내었다. 이때 흐름 속도는 1 ml/min이었다.

ACE 저해효과. ACE 저해효과 측정은 Cushman 등⁹⁾의 방법으로 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 HHL 2.5 mM을 녹인 액 0.15 ml, ACE(0.25 unit/ml, Sigma사) 0.1 ml와 각 추출시료 용액 0.1 ml를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1 ml를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1 N HCl 0.25 ml 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 ml의 ethylacetate를 첨가하였다. Ethylacetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 ml의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 280 nm에서 측정한 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left[1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}} \right] \times 100$$

XOase 저해효과. XOase 활성저해 측정법은 Stirpe와 Corte의 방법¹⁰⁾에 준하여 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 3 ml에 효소액 0.1 ml와 추출용액 0.3 ml를 넣고 대조구에는 추출용액 대신 증류수를 0.3 ml 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 20% TCA 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left[1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}} \right] \times 100$$

ABTS radical cation decolorization의 측정. ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등¹¹⁾의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 5 ml와 140 mM $K_2S_2O_8$ 88 μ l를 섞은 용액 1 ml와 ethanol 88 ml를 혼합한 ABTS용액 1 ml와 시료용액 50 μ l를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 percentage inhibition(%)으로 나타내었다.

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정. PF는 Andarwulan과 Shetty의¹²⁾ 방법으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene/50 ml chloroform 용액 1 ml를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 μ l linoleic acid, 184 μ l Tween 40과 50 ml H_2O_2 를 가하여 emulsion을 만들고, 5 ml의 emulsion에 시료용액 100 μ l를 혼합하여 vortex로 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능 측정. DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois의¹³⁾ 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 0.5 ml에 60 μ M DPPH 3 ml를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은(시료 첨가구 흡광도 - 대조구의 흡광도/대조구의 흡광도)×100으로 나타내었다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)측정. TBARS는 Burge와 Aust의 방법¹⁴⁾에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 ml와 시료 0.2 ml를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 ml에 TBA/TCA 시약 2 ml를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1000 rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치 후 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARS값은 흡광도 수치×0.0154로 1 ml 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxy propane(TEP)의 μ M으로 표시하였다.

결과 및 고찰

Basil 추출물의 페놀성 화합물의 측정. 식품 내의 지질이나 체내의 생체막에 존재하는 지질은 활성산소의 존재 하에 유리기와 연쇄반응을 일으켜 산화되어 식품의 품질변화 및 생체 노화의 원인이 된다.¹⁵⁾ 이러한 산화반응을 방지하기 위하여 연쇄반응의 전파단계에서 과산화기와 탈수소 반응을 통해 수소원자를 공유함으로써 라디칼이 비교적 안정한 형태를 형성하게 유도하는데, 이러한 역할을 수행하는 물질로, 페놀성 화합물이 널리 이용되고 있다.¹⁶⁻¹⁷⁾ 본 실험에서 사용한 Basil의 총 페놀함량은 Table 2와 같이, 열수 및 60% 에탄올 추출물에서 각각

Table 2. Phenol contents of water and ethanol extract from Basil

Herb sample	Phenol content (μ g/ml)	
	Water extract	60% Ethanol extract
<i>Ocimum basilicum</i> L.	286.0±0.1	250.0±0.2

*This experiment repeated 6 times.

Table 3. Phenol profiles of Basil

Phenol	Content (μ g/ml)	
	Water extracts	Ethanol extracts
Protocatecuic acid	N.D	N.D
Caffeic acid	3.2±0.1	6.3±0.2
Chlorogenic acid	17.1±0.2	12.0±0.5
Coumaric acid	0.8±0.1	0.6±0.1
Rosemarinic acid	12.4±0.1	22.7±1.1
Quercetin	N.D	12.6±2.7

*N.D: Not detected

*This experiment repeated 6 times.

286.0 μ g/ml, 250.0 μ g/ml로 나타났다. 최 등¹⁸⁾은 홍차, 녹차, 한차의 총 페놀 함량은 101.5 μ g/ml, 94.9 μ g/ml, 77.0 μ g/ml라고 보고하였다. 이에 비해 본 실험에서 사용한 Basil의 총 페놀함량이 비교적 높아 천연 항균제 및 생리활성 물질로의 이용 가능성을 추측할 수 있었다.

HPLC 분석. HPLC를 이용하여 생리 활성에 관여하는 6종의 페놀인 protocatecuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosemarinic acid, quercetin을 선택하여 시료 중에 이러한 페놀 존재 여부 확인을 위해 표준 물질과 retention time을 비교하여 정량 분석을 한 결과 Table 3과 같이 protocatecuic acid는 검출되지 않았으며 알콜 추출물에서 방부 작용에 효과가 있는 rosemarinic acid 함량이 높은 것으로 나타나 식품이나 화장품 등의 변질을 막는 천연 방부제의 역할을 기대할 수 있을 것으로 생각되었다.

고혈압 효과. 고혈압은 콩팥에 혈류 장애가 생기면 신장에서 renin이라는 효소가 생성되어 angiotensinogen에 작용하여 angiotensin I을 생성하며 이는 다시 ACE에 의해 angiotensin II로 전환된다. angiotensin II는 직접 혈관 수축을 일으키고 aldosterone의 분비를 향상시켜 나트륨 이온과 수분 저류를 초래하여 체액 증가를 일으켜 혈압을 상승시키며 이를 예방 또는 치료하는 방법으로 ACE 저해제가 사용되는데 화학 합성품으로 만들어져 많은 부작용이 발생한다.¹⁹⁾ 이런 문제를 해결하기 위해 천연 식물 중 Basil을 물과 에탄올에 추출하여 ACE저해 효과를 확인한 결과 Table 4와 같이 열수 추출물은 39.9% 알콜 추출물은 96.7%로 나타났고 높은 저해 활성을 나타내 고혈압 예방에 도움이 될 것으로 예상되었다.

Table 4. Effect of inhibition on angiotensin converting enzyme by water and ethanol extracts from Basil

Herb sample	Water Extract		Ethanol Extract	
	Hippuric acid (μ g/ml)	Inhibitory activity (%)	Hippuric acid (μ g/ml)	Inhibitory activity (%)
Control	9.4±0.3	-	9.4±0.3	-
<i>Ocimum Basilikum</i> L.	5.2±0.1	39.9	0.3±0.1	96.7

*This experiment repeated 6 times.

Table 5. Effect of inhibition on xanthine oxidase by water and ethanol extracts from *Basil*

Herb sample	Water Extract		Ethanol Extract	
	Uric acid ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Inhibitory activity (%)	Uric acid ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Inhibitory activity (%)
Control	32.2	-	32.2	-
<i>Ocimum Basilikum</i> L.	14.6 \pm 0.1	54.7	N.D	100.0

*This experiment repeated 6 times

Table 6. Antioxidant activity of water and ethanol extracts from *Basil*

Antioxidant activity	Solvent		
	Control	Water extract	Ethanol extract
DPPH	-	87.0 \pm 1.2	93.9 \pm 3.5
ABTS ⁺	-	96.8 \pm 0.1	94.7 \pm 0.6
Protection factor (PF)	-	0.7 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1
TBARS ($\times 10^{-3}$ μM)	2.9 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1

*This experiment repeated 6 times

항관절염 효과. XOase는 생체내 퓨린 대사에 관여하는 효소로 xanthine 혹은 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하여 혈장내 uric acid가 증가되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍을 일으킨다.²⁰⁾ 따라서 XOase에 대한 추출물의 저해 활성을 살펴본 결과 Table 5과 같이 열수 추출물은 54.7% 알콜추출물은 100.0%의 효과를 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 *Basil* 추출물에 함유된 phenolic 물질은 통풍의 예방과 치료에 효과가 있음을 예측할 수 있었다.

Basil 추출물의 항산화 효과. 추출물의 상대적인 항산화력의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물의 항산화력 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법¹⁸⁾을 사용하였고, PF의 측정을 위하여 β -carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 사용하여 *Basil* 추출물의 항산화력을 측정하였다. 그리고 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 것을 이용하여 전자공여능을 측정하였으며 지방산패 정도를 측정하는 TBARS는 지방의 산화에 의해 생기는 malonaldehyd와 TBA가 반응하여 생성되는 복합체의 양을 나타내는데, 시간의 경과, 지방산의 조성, 산소의 활성, 항산화제 등에 의해 영향을 받는다는 Tarladigis 등²¹⁾의 보고가 있으며 추출물의 항산화력을 확인한 결과 Table 6과 같이 전자공여능은 열수추출물과 알콜 추출물이 87.1%, 93.9%였으며 ABTS는 열수추출물은 96.8% 알콜 추출물이 94.7%로 높은 항산화력을 나타냈고, PF는 0.7, 1.2의 비교적 낮은 값을 나타내었으며 지방산패 정도를 나타내는 TBARS는 대조구 2.9×10^{-3} μM 에 비해 열수 추출물 첨가구 0.2×10^{-3} μM , 알콜추출물 첨가구 0.6×10^{-3} μM 로 나타나 추출물이 지방의 산화를 저해하는 효과가 우수한 것으로 판단되었다.

초 록

*Basil*을 물과 에탄올로 추출하여 생리 기능성을 알아 보았다. 추출물의 총 페놀 함량은 열수 추출물이 286.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 알콜을 추출물이 250.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. 추출물의 항산화 효과는

DPPH가 열수 추출물과 알콜 추출물이 각각 87.0%, 93.9%로 나타났고, antioxidant protection factor는 각각 0.7, 1.2으로 낮게 나타났다. ABTS는 열수 추출물이 96.8%, 알콜 추출물이 94.7%로 높게 나타났으며 TBARS는 0.2×10^{-3} μM , 0.6×10^{-3} μM 로 대조구 2.9×10^{-3} μM 에 비해 malonaldehyde와 thiobarbituric acid가 반응하여 생성되는 복합체 TBARS값이 낮아 추출물이 지방 산화에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. ACE 저해 효과와 XOase 저해 효과는 알콜을 추출물에서 각각 96.6%, 100.0%로 열수 추출물 각각 39.9%, 54.7%보다 높게 나타났다. HPLC로 분석한 결과 알콜 추출물에서 rosmarinic acid가 가장 많은 것으로 나타났다. 이 결과로 *Basil*은 인공 합성 항산화제가 가지는 단점을 보완할 수 있는 천연 항산화제 및 통풍 저해와 항 고혈압 기능을 겸비한 기능성 소재로의 개발이 가능할 것으로 생각된다.

Key words: 생리활성, *Basil*(*Ocimum basilicum* L.), xanthine oxidase, angiotensin converting enzyme, 항산화

감사의 글

본 연구는 한국산업기술재단에서 지원하는 2003년도 지역전략산업 석박사 연구인력 양성사업인 “한약재 및 herb로 부터 *Helicobacter pylori*에 대한 항균성 물질 및 항당뇨 물질의 정제 및 사업화(과제번호 KOTEF-19)” 과제로부터 얻어진 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Aruoma, O. I. (1998) Free radical, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am. Oil. chem. Soc.* **75**, 199-212.
2. Shin, D. H. (1996) The trend and direction of natural antioxidants research (in Korean). *Food Sci. Ind.* **30**, 4-21.
3. Kyrtopoulos, S. A. (1989) N-nitroso compound formation in human gastric juice. *Cancer Surv.* **8**, 423-442.

4. Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y. (1992) Phenolic compounds in food. In *phenolic compounds in food and their effects on health II*. Maple Press, New York. pp. 2-7.
5. Azuma, K., Nakayama, M., Koshika, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3963-3966.
6. Ham, S. S., Hong, J. K. and Lee, J. H. (1997) Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 155-161.
7. Deni, B. (1990) In *Encyclopedia of herbs and their uses*. New York. pp. 166-167.
8. Duval, B. and Shetty, K. (2001) The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed Anise root extract. *J. Food Biochem.* **25**, 361-377.
9. Cushman, D. W. and Ondetti, M. A. (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1871-1877.
10. Stirp, F. and Corte, E. D. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3863.
11. Pellegrin, N., Roberta, R. Min, Y. and Catherine, R. E. (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
12. Andarwulan, N. and Shetty, K. (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1776-1780.
13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1199.
14. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* **105**, 302-310.
15. Choi, H. S. (1994) Peroxide and nutrition of lipids. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **23**, 867-878.
16. Pratt, D. E. (1992) Natural antioxidant from plant material. In *phenolic compounds in food and their effects on health*. Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y. eds. *American Chemical Society*, Washington DC. pp. 54-72.
17. Higasi, G. S. (2000) Appraisalment of antioxidative activity from vegetables. *Jap. J. Food Ind.* **57**, 56-64.
18. Choi, Y. C., Kim, M. G., Shin, J. J., Park, J. M. and Lee, J. S. (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 723-727.
19. Lee, D. H., Kim, J. H., Kim, N. M., Pack, J. S. and Lee, J. S. (2002) Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using *Paecilomyces japonica*. *Kor. J. Mycol.* **30**, 141-146.
20. Yagi, K. (1987) Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipids* **45**, 337-34.
21. Tarladigis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. and Dugan, L. R. Jr. (1960) A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **37**, 44-49.