

일부 페놀성 화합물의 항산화효과 및 아질산염 소거능

안선일 · 복진홍¹ · 손종연^{2*}

CJ 푸드 시스템, 신라명과¹,

한경대학교 식품생물공학과 · 식품생물산업연구소^{2*}

Antioxidative Activities and Nitrite-scavenging Abilities of Some Phenolic Compounds

Sun-Il Ahn, Bok-Jin Heuing¹, Jong-Youn Son^{2*}

CJ Food System, ¹Shilla Myunggu,

²Department of Food and Biotechnology & Institute of Food Industry and Biotechnology, Hankyong National University

Abstract

This study investigated the antioxidant and synergistic effects and nitrite scavenging ability of some phenolic compounds(catechin, rutin, quercetin and naringin). The electron donating abilities of naringin, quercetin, rutin and catechin were 6.7%, 92.8%, 87.6% and 92.2%, respectively. The antioxidant activities in O/W emulsion substrates were in order of rutin > quercetin > catechin > naringin. The antioxidant effect of rutin was stronger than that of BHT or α -tocopherol. α -tocopherol showed synergistic effect with catechin and quercetin, but ascorbic acid not showed effect. The nitrite scavenging abilities of catechin, quercetin, rutin and naringin were 99.0% 98.6%, 25.5% and 0.2%, respectively. The nitrite scavenging abilities of quercetin and catechin were very potent as compared with those of BHT and ascorbic acid.

Key words : phenolic compound, antioxidant effect, nitrite scavenging ability

I. 서 론

식물체에 존재하는 페놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 1,000여 종류 이상이 밝혀져 있으며, 그 중 flavonoid류가 대부분이며, 단순한 monocyclic phenol류, phenyl propanoid류, phenol성 quinone류도 상당량 존재하는 것으로 알려져 있다. Lignin류, melanin류 및 tannin류 등도 polyphenol성 물질이며, protein, alkaloid, terpenoid에도 phenyl group이 발견된다(Ivor ED 2000, Kim HJ 등 2000).

페놀성 화합물들은 연쇄 반응에서 alkylperoxy radical이나 alkyl radical에게 수소를 공여함으로써 그 radical을 제거하여 산화를 억제해 준다. 페놀성 화합물이 free radical 반응을 억제시킬 수 있는 것은 페놀이 수소원자를 radical에게 제공하여 안정한 non-radical을 만들고, peroxy radical은 공명 혼성체를 형성할 수 있기 때문에 비교적 안정하여 산소와 반응이 어려워서 free radical을 안정화시키는 결과가 된다(Michael JT 2000).

또한 노화의 원인 중에 하나로 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxy radical, singlet oxygen 및 H_2O_2 등의 활성 산소의 작용이 밝혀지면서 이들의 제거에 대한 관심이 높아지고 있다. 식품 중에 페놀성의 guaiacol, resorbicinol 등의 phenol계 물질들이 nitro화 반응을 강하게 억제한다는 사실이 보고되었다(Kato H 등 1987, Cooney RV와 Ross PD 1987, Kim JH와 Park KM 2000).

Corresponding author : Jong-Youn Son, Department of Food and Biotechnology & Institute of Food Industry and Biotechnology Hankyong National University 67, Sukgung-dong, Ansung-si, Gyeonggi-do 456-749, Korea
Tel : 82-31-670-5155
Fax : 82-31-677-0990
E-mail : nawin98@chol.com

Flavonoids는 C₆-C₃-C₆ 화합물로 주로 flavones, flavanones, flavonols, anthocyanidins 및 catechins로 구성되어 있으며 그 구조에 따라 특정 flavonoid는 항산화 및 항균성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다(Rice-Evans CA 등 1995, Nakatani N와 Kikuzaki H 1995, Hertog MGL 등 1993). 항암성과 항돌연변이성을 갖는 flavonoid류로는 flavonol계의 quercetin, rutin, kaempferol, myricetin, flavone계의 apigenin, luteolin, limonin, naringin, nomilin, flavanone계의 naringin 등이 알려져 있다(Hertong MGL 등 1992).

그러나 이들 페놀성 화합물들의 항산화효과는 실험실에서 소량의 추출물을 대상으로 한 결과로 추출조건, 정제정도에 따라 다소 다른 결과를 보이고, 이들의 객관적인 효과를 비교, 검토한 연구는 미흡하다. 또한 대부분의 연구는 기름기질에 대해 행해져 왔으나 O/W형 에멀젼 기질에서의 효과는 다른 것으로 알려져 있다(Frankel EN 등 1997).

따라서 본 연구에서는 기름기질에 대해 항산화 효과가 확인된 일부 페놀성 화합물(naringin, quercetin, rutin 및 catechin)의 상대적인 항산화 효과을 W/O형 에멀젼 기질에서 비교하고, 이들 화합물과 ascorbic acid나 α-tocopherol의 상승효과, 아질산염 소거능을 비교, 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 페놀성 화합물은 naringin, quercetin, rutin 및 catechin(Sigma Co., USA)을 사용하였으며, 항산화 효과에 대한 기질로서는 리놀레산(Sigma Co., USA)을 사용하였다. 또한 페놀성 화합물의 항산화 효과 및 상승효과를 비교하기 위하여 사용된 기존 항산화제 중 α-tocopherol(Aldrich chemical Co., USA), BHT(Sigma Co., USA) 및 ascorbic acid(Sigma Co., USA)이었다.

2. 전자공여능(Electron donating ability, EDA) 측정

시료의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical에 대한 소거활성을 측정은 Blois방법(Blois MS 1958)을 사용하였다. 0.15 mM DPPH solution 4 mL과 시료 0.4

mL(1,000 ppm) 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 다음 520 nm에서 흡광도를 측정하여, DPPH radical 소거활성을 다음 식에 의하여 측정하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능}(\%) = (1 - \frac{\text{SA}}{\text{CA}}) \times 100$$

SA : Sample absorbance

CA : Control absorbance

3. 항산화효과의 측정

O/W 에멀젼 기질 실험은 리놀레산 1.3 mL를 99.5% ethanol 100 mL에 용해시킨 후 10 mL씩 conical tube에 넣고 각각의 시료를 총 농도가 50 ppm이 되도록 첨가하여 행하였다. 그리고 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)를 10 mL 첨가한 뒤 증류수 4.5 mL 넣은 후 40±1°C 항온기에 저장하면서 하루 간격으로 항산화 효과를 측정하였다(Fukuda Y 등 1996). 리놀레산 에멀젼 기질에서의 항산화 효과는 thiocyanate method를 사용하여 측정하였다. 즉, 75% ethanol 4.7 mL에 각 시료 0.1 mL와 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL를 넣고, 정화히 3분 후 20 mM iron(II)chloride(in 3.5% HCl) 0.1 mL를 넣고 500 nm에서 UV/Vis spectrophotometer(TU-1800, U.S.A)로 흡광도를 측정하여 각 시료의 과산화물 함량의 지표로 삼았다. 유도기간은 산폐가 급격히 시작되는 시점, 즉, 시료의 흡광도가 0.3에 도달하는데 요구되는 시간으로 나타냈다.

4. 상승효과의 측정

O/W 에멀젼 기질에서의 일부 페놀성 화합물들에 대한 기존 항산화제와의 상승효과를 비교하기 위해, 페놀성 화합물 30 ppm과 tocopherol 또는 ascorbic acid를 20 ppm 농도로 각각 첨가하여 페놀성 화합물과의 2성분 항산화 시스템에서 이들의 상승효과를 비교하였다.

5. 아질산염 소거능

아질산염 소거작용은 Gray와 Dugan의 방법(Gray JI와 Dugan JLR. 1975)에 의하여 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 일정 농도의 시료 1 mL를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griess 시약 0.4 mL 가하여

잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 UV-spectrophotometer를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였다. 공시험은 Griess 시약 대신 중류수를 0.4 mL 가하여 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율로써 나타냈으며, 이 값이 큰 것일수록 아질산염 소거작용이 크다는 것을 의미한다.

III. 결과 및 고찰

1. 전자공여능(electron donating ability, EDA)

Naringin, quercetin, rutin 및 catechin의 DPPH radical 소거능을 시판 항산화제인 BHA, α -tocopherol, ascorbic acid와 비교하여 radical 소거능을 측정한 결과(Fig. 1), quercetin, rutin 및 catechin의 DPPH radical 소거능은 각각 1,000 ppm에서 각각 92.8%, 87.6% 및 92.2%로 강한 소거능을 보인 반면, naringin은 6.7%로 매우 약한 소거능을 보였다.

한편 시판 항산화제인 BHT, α -tocopherol, ascorbic acid의 DPPH radical 소거능은 각각 40.4%, 92.7% 및 95.3%으로 ascorbic acid와 α -tocopherol에서 비교적 강한 소거능을 보였다. 이상의 결과로부터 상대적으로 보아 환원력이 가장 뛰어나고 독성이 전혀 없는 이점을 지닌 ascorbic acid가 가장 좋은 radical 소거능을 나타내었다.

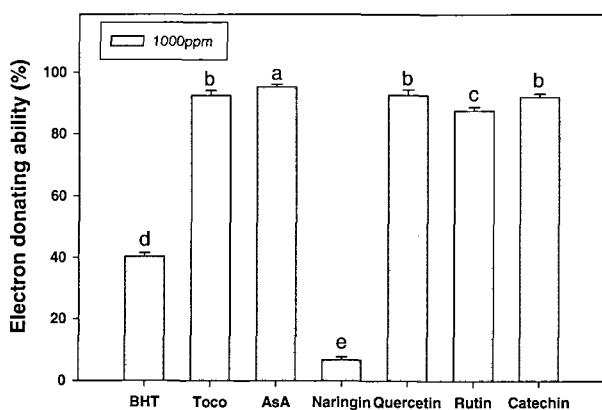


Fig. 1. Electron donating abilities of some phenolic compounds and commercial antioxidants.

^{a-e}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test

또한 quercetin, catechin의 라디칼소거능은 α -tocopherol과 비슷한 강한 소거능을 갖고 있으며, BHT보다 상대적으로 높은 것을 알 수 있었다. Rutin의 DPPH radical 소거능은 quercetin, catechin보다 낮았으나 큰 차이는 보이지 않았다.

2. 항산화효과

O/W 에멀젼 기질에서 catechin, quercetin, rutin 및 naringin을 첨가한 기질의 항산화 효과를 비교한 결과(Fig. 2), catechin, quercetin, rutin 및 naringin을 첨가한 기질 및 대조구의 저장 8일의 흡광도는 각각 0.407, 0.307, 0.069, 1.367 및 1.567로 나타났으며 catechin, quercetin, rutin 및 naringin을 첨가한 모든 시료구에서 대조구보다 낮은 흡광도를 보였다. 특히 rutin의 항산화효과가 가장 강한 것으로 나타났으며 naringin의 경우 가장 낮은 것으로 나타났다.

대조구의 유도기간은 3.3일인 반면 catechin, quercetin, rutin 및 naringin을 첨가한 기질은 각각 7.2일, 7.9일, 12.0일, 3.9일로서 대조구에 대해 2.18배, 2.39배, 3.64배 및 1.18배 정도의 연장효과를 보였다.

Flavonoid의 항산화효과는 다른 폐놀성 화합물과 마찬가지로 hydroxyl group의 수나 위치에 다르게 나타난다. 우선적으로 B-ring의 ortho-dihydroxylation(3', 4'-OH)에 의해 크게 영향을 받으며, 부수적으로 5'위치 OH기의 존재는 항산화 효과를 증가시키는 반면, OH기가 한개만 존재할 때는 그 효과를 급격히 감소되는 것으로 보고되고 있다. 예를 들면 B-ring에 3개의 OH기를 갖는 myricetin은 2개의 OH기를 갖고 있는 quercetin보다 항산화 효과가 강한 것으로 보고되고 있다(Dziedzic SH 와 Ydson BFJ 1983, Rice-Evans C 등 1996).

본 실험의 결과에서도 3', 4' 위치에 2개의 OH기를 갖고 있는 catechin, quercetin, rutin의 항산화효과가 4' 위치에 한 개의 OH를 갖고 있는 naringin보다 그 효과가 강한 것으로 나타났다. 또한 naringin의 항산화효과가 매우 약한 것으로 미루어 보아 4' 위치의 OH기보다는 3' 위치의 OH기가 항산화 효과에 더 큰 영향을 미치는 것으로 생각된다.

한편 aglycone 형태의 quercetin은 3' 위치에 rutinose가 결합되어 있는 배당체 형태의 rutin보다 항산화 효과가 강하며 이는 3위치 OH의 존재가 항산화 작용에

큰 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Das N와 Pereira T 1990, Nieto S 등 1993).

그러나 본 실험에서 향한 O/W 에멀젼 기질에서는 3 위치에 OH기를 갖고 있는 quercetin이나 배당체인 rutin은 3위치에 OH를 갖지 않은 catechin보다 항산화 효과가 강한 것으로 나타나 다소 다른 결과를 보였다.

Frankel 등(1994)은 α -tocopherol과 같은 비극성 항산화제(non-polar antioxidant)는 기름상에서는 비교적 효과가 없지만 O/W 에멀젼 기질에서 강한 효과를 보인다고 하였다. 반면 ascorbic acid와 같은 극성 항산화제(polar antioxidant)는 에멀젼 기질보다는 기름상에서 더 효과적임을 보고하였다.

본 실험에서 행한 O/W 에멀젼 기질에서는 배당체인 rutin이 quercetin보다 더 큰 항산화효과를 보인 것은 quercetin보다 rutin의 극성이 더 큰 것에 기인되며, 또한 flavonoid와 같은 폴리페놀 화합물의 항산화효과는 그 분자 내 존재하는 OH기의 수나 위치에 따라 크게 달라지며, 또한 실험 기질에 상태에 따라서도 크게 영향을 받는 것을 사료되었다.

한편, BHT, α -tocopherol 및 ascorbic acid를 각각 첨가한 기질 및 대조구의 저장 8일째의 흡광도를 측정한 결과(Fig. 3), 각각 0.373, 0.508, 1.880 및 1.567로 나타났다. 이들 결과에서 BHT나 α -tocopherol은 대조구보다 낮은 흡광도를 보였으나 ascorbic acid는 오히려 대조구보다 높은 흡광도를 나타내었다.

대조구의 유도기간은 3.3일인 반면, BHT, α -tocopherol

및 ascorbic acid를 첨가한 기질은 각각 7.6일, 7.0일, 2.4일로서 BHT 및 α -tocopherol은 대조구에 대해 2.30배, 2.12배의 연장효과를 보인 반면, ascorbic acid는 0.73배로 오히려 산화 촉진효과를 보였다.

이상의 결과에서 rutin과 quercetin은 BHT나 α -tocopherol보다 항산화효과가 우수한 것으로 나타났다. 항산화효과는 rutin>quercetin>BHT>catechin> α -tocopherol>naringin의 순이었다.

Ascorbic acid는 금속제거제로서, 폐놀계 항산화제의 수소공여체로서, 상승제로서 식품성분시스템의 산화-환원 전위차를 환원영역으로 옮기므로서 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려져 있으나 O/W 에멀젼 기질에서는 그 효과가 확인되지 않았다.

3. 상승효과

Catechin, quercetin, rutin 및 naringin(30 ppm)에 α -tocopherol(20 ppm)을 병용 첨가한 기질의 항산화효과를 비교한 결과(Fig. 4), catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 α -tocopherol을 병용 첨가한 기질 및 대조구의 저장 8일의 흡광도는 각각 0.382, 0.207, 0.192, 0.90 및 1.567로 나타났다.

대조구의 유도기간은 3.3일인 반면 catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 tocopherol을 병용하여 첨가한 기질은 각각 7.5일, 8.7일, 8.9일 및 3.9일로서 catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 α -tocopherol을 병용하여 첨가한 기질은 대조구에 대해 각각 2.27배,

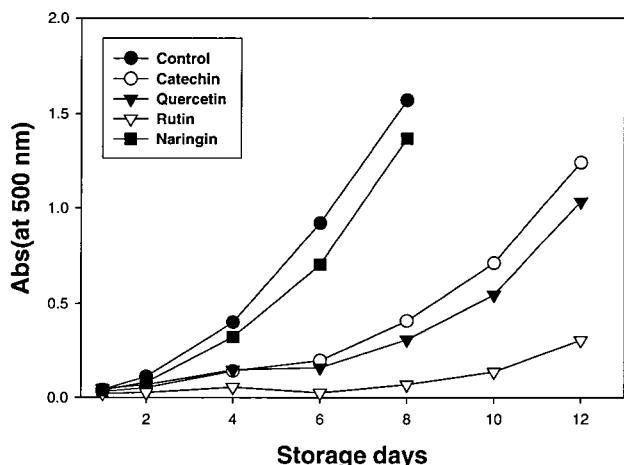


Fig. 2. Changes of the peroxide content of the linoleic acid emulsion substrates containing some phenolic compound.

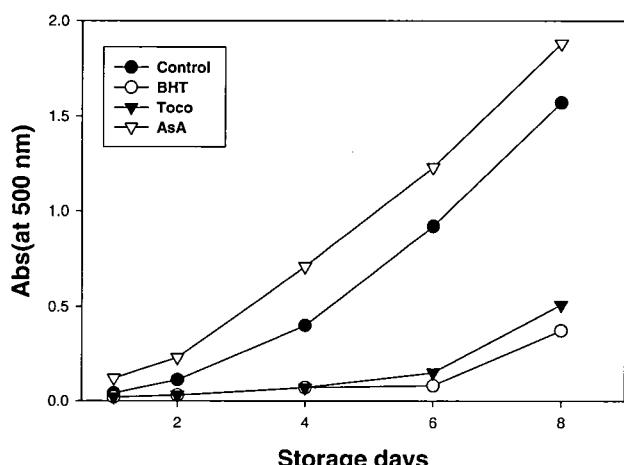


Fig. 3. Changes of the peroxide content of the linoleic acid emulsion substrates containing some antioxidants.

2.64배, 2.70배 및 1.18배의 연장효과를 보였다.

특히, catechin(30 ppm)에 α -tocopherol(20 ppm)을 병용 첨가한 경우의 유도기간은 7.5일로 catechin 50 ppm 첨가한 경우의 유도기간 7.2일로 나타났으며, quercetin(30 ppm)에 α -tocopherol(20 ppm)을 병용 첨가한 경우의 유도기간은 8.7일로 quercetin 50 ppm 첨가한 경우의 유도기간 7.9일로 나타났다. 이들 결과로부터, α -tocopherol은 catechin이나 quercetin 보다 항산화효과가 낮음에도 불구하고 병행 첨가시 항산화 효과의 증가를 보여 catechin과 quercetin은 α -tocopherol과 상승효과가 있는 것을 알 수 있었다.

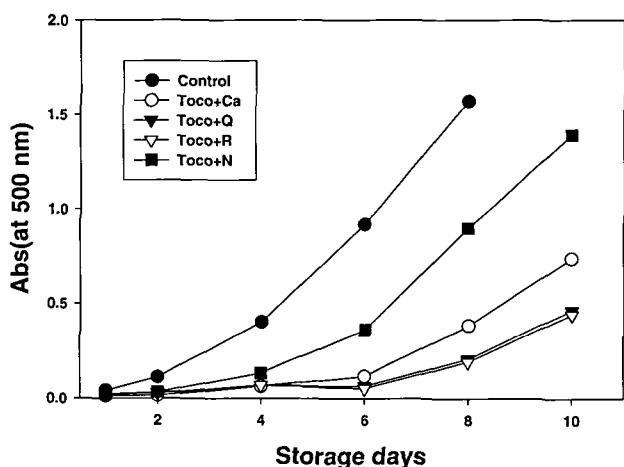


Fig. 4. Changes of the peroxide content of the linoleic acid emulsion substrates containing some phenolic compound and α -tocopherol, respectively.

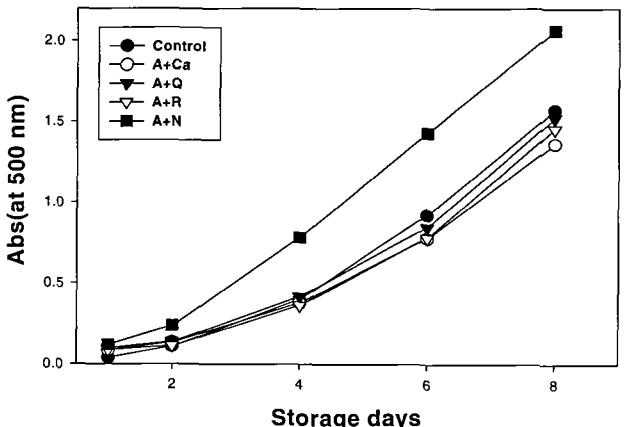


Fig. 5. Change of the peroxide content of the linoleic acid emulsion substrates containing some phenolic compound and ascorbic acid, respectively.

또한 catechin, quercetin, rutin 및 naringin(30 ppm)에 ascorbic acid(20 ppm)을 병용하여 첨가한 O/W 에멀젼 기질에서의 항산화효과를 비교한 결과(Fig. 5), catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 ascorbic acid를 병용 첨가한 기질 및 대조구의 저장 8일의 흡광도는, 각각 1.363, 1.523, 1.457, 2.065 및 1.567로 나타났다.

대조구의 유도기간은 3.3일인 반면 catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 ascorbic acid를 병용하여 첨가한 기질은 각각 3.6일, 3.4일, 3.6일 및 2.3일로서 catechin, quercetin, rutin 및 naringin에 α -tocopherol을 병용하여 첨가한 기질은 대조구에 대해 각각 1.09배, 1.03배, 1.09배 및 0.70배의 연장효과를 보였다.

이상의 결과에서 폐놀성 화합물 특히 rutin이나 quercetin은 α -tocopherol과 효과적인 상승작용을 보이며, ascorbic acid와의 상승효과는 약하거나 없는 것으로 나타났다.

4. 아질산염 소거능

Catechin, quercetin, rutin 및 naringin의 아질산염 소거능을 측정한 결과(Fig. 6), catechin, quercetin, rutin 및 naringin의 아질산염 소거능은 각각 99.0%, 98.6%, 25.5% 및 0.2%로 나타나 catechin과 quercetin에서 강한 아질산염 소거능을 보였으며, naringin의 경우는 아질산염 소거능이 거의 보이지 않았다. 한편 아질산염 소거 효과가 있는 것으로 알려져 있는 ascorbic acid 및 BHT의 아질산염 소거능은 각각 56.5% 및 55.2%로 나타났다. 이상의 결과로부터 catechin이나 quercetin의 아

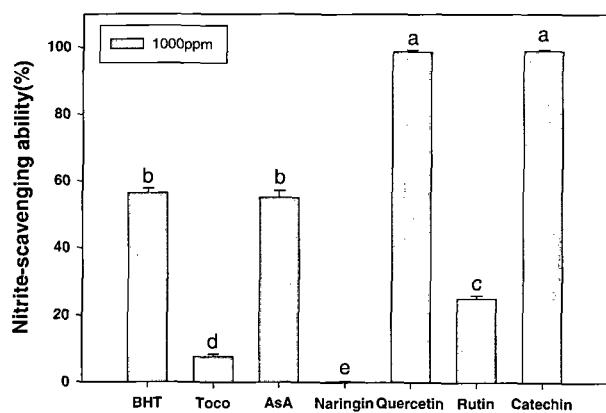


Fig. 6. Nitrite scavenging ability of some phenolic compounds

^{a-e}Means in the same column not sharing a common letter are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple test

질산염 소거능은 BHT나 ascorbic acid보다 강하며, rutin의 소거능은 BHT나 ascorbic acid보다 낮은 것으로 나타났다.

이들의 아질산염 소거능은 catechin, quercetin>ascorbic acid, BHT>rutin>naringin의 순이었다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 식물체 중에 존재하는 일부 페놀성 화합물(naringin, quercetin, rutin 및 catechin)의 항산화 효과 및 ascorbic acid나 α-tocopherol과 병용하여 첨가하였을 때의 상승효과, 아질산염 소거능을 조사하고자 하였다. Naringin, quercetin, rutin 및 catechin의 DPPH radical 소거능은 각각 1,000 ppm에서 각각 6.7%, 92.8%, 87.6% 및 92.2%로 나타났다. 리놀레산에 멀친 기질에서의 항산화 효과는 rutin>quercetin>catechin>naringin의 순이었다. 이들의 효과는 같은 농도(100 ppm)의 α-tocopherol이나 ascorbyl palmitate 첨가구보다 항산화효과가 우수하였으나 BHT보다는 다소 약한 효과를 보였다. Catechin과 quercetin은 α-tocopherol과 상승작용을 보여주었으며, ascorbic acid는 상승작용을 보이지 않았다. Catechin, quercetin, rutin 및 naringin의 아질산염 소거능은 각각 99.0%, 98.6%, 25.5% 및 0.2%로 나타나 catechin과 quercetin에서 강한 아질산염 소거능을 보였으나, naringin의 경우는 아질산염 소거능이 보이지 않았다.

참고문헌

- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Cooney RV, Ross PD. 1987. N-Nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution. Effects of vanillin and related phenols. *J Agric Food Chem* 35(5):789-796
- Das N, Pereira T. 1990. Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil: structure-activity relationships. *J Am Oil Chem Soc* 67(4):255-258
- Dziedzic SH, Ydson BFJ. 1983. Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem* 12:205-212
- Frankel EN, Huang SW, Aeschbach R. 1997. Antioxidant activity of green teas in different lipid system. *J Am Oil Chem Soc* 74:1309-1315
- Frankel EN, Huang SW, Kanner J, German JB. 1994. Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants in bulk oils versus emulsion. *J Agric Food Chem* 42(5):1054-1059
- Fukuda Y, Koizumi Y, Ito R, Namiki M. 1996. Synergistic action of the antioxidative components in roasted sesame seed oil. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* 43(12):1272-1277
- Gray JI, Dugan JLR. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40(5):981-984
- Hertog MGL, Hollman PCH, van der Putte B. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruits juices. *J Agric Food Chem* 41(8):1242-1246
- Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* 40(12):2379-2383
- Ivor ED. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition* 16:682-694
- Kato H, Lee IE, Chyune NY, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibitory of nitrosamine formation by nondilutable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51(1):1333-1338
- Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius L.*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29(6):1127-1132
- Kim JH, Park KM. 2000. Nitrite scavenging and superoxide dismutase-like activities of herb, spices and curries. *Korean J Food Sci Technol* 32(3):706-712
- Michael JT. 2000. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition* 16:716-718
- Nakatani N, Kikuzaki H. 1995. Antioxidant activity of polyphenols in food. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 69(9):1189-1192
- Nieto S, Garrido A, Sahueza J, Loyola L, Morales G, Leighton F, Valenzuela A. 1993. Flavonoids as stabilizers of fish oil: an alternative to synthetic antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 70(8):773-778
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant-activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med* 20(7):933-956
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham, JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoid. *Free Radical Res* 22:375-383

(2006년 11월 21일 접수, 2007년 2월 12일 채택)