

오가피 메탄올 추출물의 항산화 효과 및 아질산염 소거작용

임진아 · 윤보원 · 강정일¹ · 백승화*

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 1: 전주대학교 대체의학대학 물리치료학과

Antioxidative Activity and Nitrite Scavenging Ability of Ethyl Acetate Extract from *Acanthopanax sessiliflorus*

Jin A Lim, Bo Won Yun, Jeong Il Kang¹, Seung Hwa Baek*

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,
1: Department of Physical Therapy, College of Complementary and Alternative Medicine, Jeonju University

Efficacy of antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Acanthopanax sessiliflorus* was investigated. Electron-donating ability of extract at RC₅₀ was 29.93 μg/mL. After addition of 0.96 mg/mL extract, autoxidation of pyrogallol decreased to 22.85% by superoxide dismutase-like activity. In antioxidative activity of extract against linoleic acid during incubation times of 24, 48, 96 hours at 40°C, lipid peroxidation values significantly decreased by 48.89%, 45.0%, 46.34% with addition of 0.2 mg/mL, respectively. Total phenolic content was determined as gallic acid equivalents (GAE) and values revealed 410.25±4.74 GAE μg/mg of extract. Nitrite scavenging ability showed the most remarkable effect at pH 1.2, exhibited to 88.3% by addition of 0.2 mg/mL. These results suggest that methanol extract from *A. sessiliflorus* can be used as bioactive and functional material.

Key words : *Acanthopanax sessiliflorus*, Antioxidative activity, Nitrite scavenging ability

서 론

생체내에서 산화와 관련된 현상으로 세포막에 존재하는 지질은 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성산소와 결합하여 과산화물을 만들고, 이들의 연속반응에 의하여 alcohol류, aldehyde류, ketone류 등을 생성함으로써 생체내에서 DNA를 손상시켜 암을 유발할 뿐만 아니라, 세포노화, 세포막 분해, 지방산화 등 심각한 생리적인 장애를 일으킨다^[1-3]. 지금까지 활성산소와 free radical 생성을 방지하기 위해 사용되는 항산화제로는 α-tocopherol, BHT, BHA, PG, TBHQ, ascorbic acid등이 알려져 있으며^[4], 그 중 항산화 효과가 뛰어난 BHT와 BHA는 변이원성 및 독성이 지적되어^[5], 현재는 그 사용량이 격감되는 실정이다. 따라서 최근 안전성과 관능상 문제가 되지 않는 천연 항산화제 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있으며, 더덕^[6], 오미자^[7], 버섯류^[8], 천마^[9], 등 여러 생약제재나 천연소재에서 항산화 효과가 보

고되고 있다.

육제품이나 수산가공품 등에 발색제로 첨가되는 질산염이나 아질산염은 육제품의 발색 및 육색의 안정화에 기여 할 뿐만 아니라 *Clostridium botulinum*에 대한 정균작용을 나타내며, 육의 보수성과 결착성을 개선하는 데에 중요한 역할을 한다^[10]. 이들 질산염은 소화기관내에서 또는 식품의 저장 중에 질산환원효소나 질산염 환원세균에 의하여 아질산염으로 환원되며 아질산염은 2급 및 3급 amine류와 반응하여 nitrosoamine을 생성하는 것으로 알려져 있다^[11]. Nitrosoamine은 체내에서 diazoalkane(C_nH_{2n}N₂)으로 변화하여 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 alkyl화 함으로써 암을 유발한다고 하며^[12], 또한 아질산염은 그 자신이 독성을 갖고 있기 때문에 일정한 농도 이상 계속 섭취시 혈액중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈증(methemoglobinemia)을 유발한다^[13]. Mirvish 등^[14]은 ascorbic acid에 의한 nitrosoamine 생성억제기능을 보고하였고 Millard 반응생성물에 의한 억제작용이 Kato 등^[15]에 의해 보고되었다. 또한 식품중에 phenolic guaiacol, resorcinol 등의 phenol계 물질들이 nitro화 반응을 강력하게 억제한다는 사실이 보고되었으며^[16], 아울러 해초추출물^[17], 버섯류^[18] 그리고 결명자와 갈근추출물^[19]에서 아질산염 소거

* 교신저자 : 백승화, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의학전문대학원

· E-mail : shbaek@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6225

· 접수 : 2007/05/15 · 채택 : 2007/06/29

작용이 보고되고 있다.

오가피 나무는 오갈피과(Araliaceae)에 속하는 다년생 낙엽관목으로써 panax속과 비슷하고 줄기에 가시가 있다는 뜻에서 *Acanthopanax*라 부르며, 나무는 높이가 약 3-4 m이며 7-9월에 꽃이 피고 10월에 결실이 되는 내건성 및 내한성 식물이다^{20,21)}. 한방에서 오가피는 주로 자양, 강장, 강정, 신경통, 음위, 진경, 근골동통, 산기복통, 요술동통 등의 효능이 있어 주로 강장약으로 신경통, 중풍, 고혈압, 당뇨병 및 류마티스성 관절염 등의 치료에 이용되고 있다²²⁾. 오가피의 애리학적 연구는 1965년 Hrehkman 등²³⁾에 의해 뿌리에서 lignan계 배당체의 분리와 활성이 보고된 이래 주목받기 시작하였고, 최근 오가피의 항암작용, 항알러지, 항고지혈증 등에 대한 연구가 보고되고 있으나²⁴⁻²⁶⁾, 생리활성에 대한 체계적 연구는 아직 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 오가피의 기능성 식품 소재 또는 식품첨가물로써의 가능성을 검토하고자 오가피 메탄올 추출물의 항산화효과와 아질산염 소거능을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

α,α' -Diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), pyrogallol, linoleic acid, ammonium thiocyanate, folin-ciocalteu reagent, sodium nitrite, sulfanilic acid, α -naphthylamine, sodium carbonate 그리고 gallic acid는 Sigma(USA)에서 구입하였으며, 기타 시약은 분석용 등급 이상의 시약을 사용하였다.

2. 시료의 조제

본 실험 재료인 오가피는 전남생약농업협동조합에서 구입하여 사용하였다. 음건한 오가피는 blender(aldrich, USA)로 분쇄하여 메탄올로 3회 반복 추출하였고 추출액은 여과지 (Whatman No. 2 England)를 사용하여 여과하였으며 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로 감압농축한 후, 본 실험 시료로 사용하였다.

3. 전자공여능 측정

전자공여능(electron donating ability)은 Blosis 방법²⁷⁾에 의한 DPPH free radical 소거법으로 측정되었다. 즉, 시료는 메탄올에 녹여 준비하고 메탄올에 녹인 0.3 mM DPPH 용액을 첨가하여 실온에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 양을 RC_{50} (50% reduction concentration)으로 하여 나타내었다.

4. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

Marklund과 Marklund의 방법²⁸⁾에 따라 각 농도별 시료(0.2 mL)에 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane containing 10 mM EDTA, pH 8.5, 3 mL)와 7.2 mM pyrogallol(0.2 mL)을 가하고 25°C에서 10분간 방치하였으며, 1 N HCl(1 mL)로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유

사활성은 100-[시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도]x100]으로 나타내었다.

5. 지질과산화 측정 (Ferric thiocyanate; FTC method)

지질 과산화는 Kikuzaki와 Nakatani²⁹⁾의 방법에 따라 측정되었다. 즉, 시료(3.9 mL)와 에탄올(4 mL)을 혼합하고, 에탄올에 녹인 2.52% linoleic acid(4.1 mL)과 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0, 8 mL)을 첨가하여 40°C에서 암조건을 유지시켰다. 24시간 배양 후, 이 반응액(0.1 mL)을 취하여 75% 에탄올(9.7 mL)과 30% ammonium thiocyanate(0.1 mL)을 혼합하고 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride(0.1 mL)을 가한다음, 실온에서 3분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 대조구의 흡광도가 최고치를 나타낼 때까지 24시간 단위로 흡광도를 측정하였다.

6. 총 폐놀함량 측정

총 폐놀함량은 Folin-Ciocalteu³⁰⁾의 방법에 의해 측정되었다. 반응액은 시료(20 μ L), 증류수(1.58 mL) 그리고 folin-ciocalteu reagent(100 μ L)을 혼합하여 만들었다. 위 반응액에 300 μ L의 20% sodium carbonate solution을 첨가하고 잘 혼합하였다. 그런 다음, 실온에서 2시간동안 배양한 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수를 가하여 측정하였고 표준물질로 gallic acid를 사용하였다. 총 폐놀함량은 gallic acid equivalents(GAE, μ g)/시료 100 mg로 나타내었다.

7. 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능(nitrite scavenging ability)은 Kato 등¹⁵⁾의 방법으로 측정하였다. 즉, 1 mM NaNO₂용액(2 mL)에 시료(1 mL)를 가하고 0.1 N HCl(pH 1.2), 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시키고 각 반응액(1 mL)을 취하여 2% 초산용액(2 mL)과 30% 초산용액으로 용해한 griess reagent(1% sulfanilic acid: 1% naphthylamine = 1:1, 0.4 mL)를 가한 다음 혼합하여 실온에서 15분간 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 100-[시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도]x100]으로 나타내었다.

8. 통계처리

통계처리는 각각의 시료에 대해 Student's t-test를 사용하여 mean \pm S.D.로 계산하였으며, p-value를 구하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 전자공여능

일반 식물체의 항산화 작용에 관해서는 많은 연구가 있는데 식용식물 21종을 부위별로 DPPH를 이용하여 유리라디칼 소거효과를 측정한 결과 참취잎, 쑥갓잎 및 머위잎에서 특이적으로

높은 효과가 관찰되었다³¹⁾. 오가피 메탄올 추출물의 DPPH free radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 환원시키는데 필요한 시료량(RC_{50} ; 50% reduction concentration)으로 측정한 결과 29.93 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 나타났다(Fig. 1). 그리고 표준 물질로 사용된 β -carotene과 BHA의 RC_{50} 이 각각 18.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 18.48 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (data not shown)으로 나타나 오가피 메탄올 추출물은 매우 우수한 전자공여능을 보이는 것으로 관찰되었다.

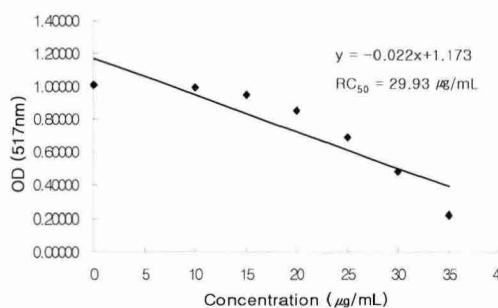


Fig. 1. Electron donating ability of methanol extract from *A. sessiliflorus*. The values represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

2. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포에 해로운 환원 산소종(superoxide)을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다. SOD는 30 KDa 이상의 분자량을 가진 단백질 물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고 체외로 배출되며^{32,33)}, 열과 pH에 불안정하다³⁴⁾. 따라서 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완할 수 있는 SOD 유사활성 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다.

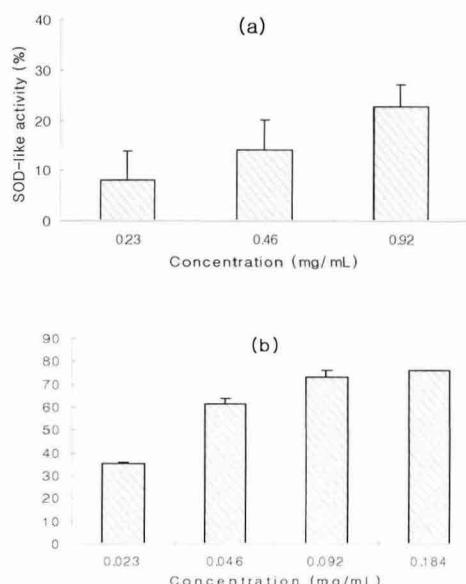


Fig. 2. SOD-like acitivity of (a) methanol extract from *A. sessiliflorus* and (b) ascorbic acid. The value represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments.

오가피 메탄올 추출물의 superoxide(O_2^-) 산화억제작용을 알아보기 위해 superoxide와 반응하여 갈변물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화반응을 측정하여 SOD 유사활성을 측정하였다²⁸⁾. 오가피 메탄올 추출물은 각각 0.23, 0.46, 0.92 mg/mL 으로 첨가했을 때 8.18%, 14.07% 그리고 22.85%의 SOD 유사활성을 나타냈다(Fig. 2).

3. 지질과산화 측정

생체막에 존재하는 지질은 라디칼에 의해 지방산으로부터 수소원자가 박탈됨으로써 산화되기 시작하여 반응성이 높은 유리라디칼이 형성된다. 지질의 산화에 의해 생성된 hydroperoxide가 촉매력이 강한 전이 금속들에 의해 분해되어 만들어지는 alkoxy radicals (RO^\cdot), peroxy radicals (ROO^\cdot), hydroxyl radical (OH^\cdot) 및 malondialdehyde나 4-hydroxynonenal등은 간접적으로 단백질과 DNA의 손상을 일으킬 뿐만 아니라 노화와 암 발생의 중요인자이기도 하다³⁵⁾.

오가피 메탄올 추출물의 지질과산화와 관련한 항산화 효과를 검토하기 위하여 linoleic acid에 추출물을 첨가하여 40°C에서 96시간동안 지질과산화물을 흡광도(500 nm)로 측정하였다. 그 결과, 대조구는 24, 48, 96시간 후 0.779, 0.903, 1.442로 흡광도가 측정되었고 0.2 mg/mL 의 추출물을 첨가하였을 때에는 각각 0.398, 0.496, 0.774로 흡광도가 나타나 대조구에 비해 추출물 첨가구의 지질과산화수치가 각각 48.89%, 45.0%, 46.34%로 유의성 있게 감소되었다(Fig. 3). 위의 결과로 오가피 메탄올 추출물은 효과적으로 지질과산화를 억제하는 것으로 관찰되었다.

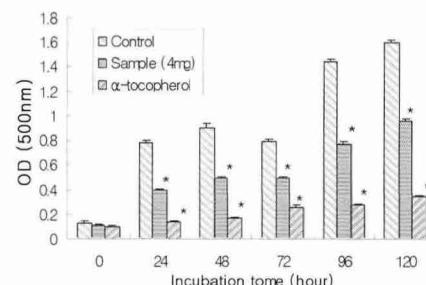


Fig. 3. Lipid peroxidation in linoleic acid substrate containing methanol extract from *A. sessiliflorus* during storage at 40°C. The value represent the mean \pm standard deviations for triplicate experiments. *Significantly different from the control values($p<0.05$).

4. 총 페놀함량 측정

식품 중에 함유되어 있는 많은 생리활성 phytochemical 중 phenol은 가장 널리 함유되어 항산화 활성을 가지는 것으로 알려져 있다³⁶⁾. Hayes *et al*³⁷⁾은 chlorogenic acid와 caffeic acid등이 매우 높은 항산화 효과를 나타낸다고 하였으며, Lee & Lee³⁶⁾는 페놀화합물이 높은 항산화 활성이 있다고 보고하였다. 오가피 메탄올 추출물의 총 페놀함량은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 측정되었고 gallic acid equivalents(GAE, μg)/시료 mg로 나타내었다. Gallic acid는 농도 의존적으로 유의성 있는 OD값의 증가를

나타내었고, gallic acid의 표준곡선을 토대로 시료 1 mg의 총 폐놀함량을 측정한 결과 $410.25 \pm 4.74 \mu\text{g}$ GAE로 측정되었다(Fig. 4).

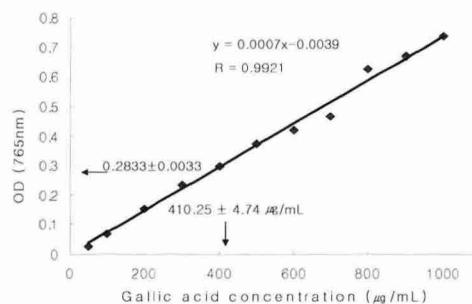


Fig. 4. Total phenol content of methanol extract from *A. sessiliflorus*. The value represent the mean±standard deviations for triplicate experiments.

5. 아질산염 소거능

아질산나트륨 용액에 오가피 메탄올 추출물 0.2 mg/mL을 첨가하고 pH 조건을 각각 pH 1.2, 3.0 그리고 6.0으로 조정하여 아질산염에 대한 소거율을 측정하였다. 이들 pH 범위는 인체내 위에서의 pH 변화를 고려하였으며, 각 pH 조건(pH 1.2, pH 3.0, pH 6.0) 하에서 아질산염 소거능은 각각 88.3%, 83.61%, 8.07%으로 나타나 매우 효과적인 pH 의존적인 아질산염 소거능을 보였다(Fig. 5).

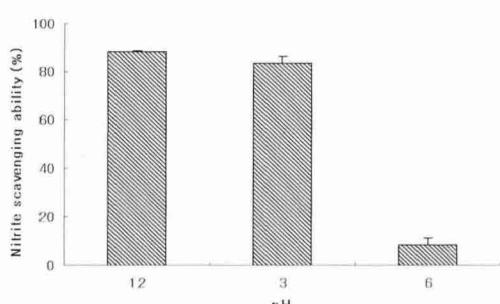


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of methanol extract from *A. sessiliflorus*. The value represent the mean±standard deviations for triplicate experiments.

이와 유사한 결과로 Kang 등³⁸⁾은 각종 phenol성 화합물의 농도를 0.1-6 mM 수용액으로 조제한 후, 아질산염 소거율을 여러 pH 조건에서 측정한 결과 pH 1.2에서 가장 높게 나타났으나, pH 6.0에서는 10% 정도로 대부분 상실되었다고 보고하였다. 아질산염은 식육제품에 첨가되어 발색제 및 보존제로 이용되고 있으나, 식품중에 존재하는 amine류와 반응하여 벌암물질은 nitrosoamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 니트로화(nitrosation)에 영향을 주는 nitrite는 nitrous acid(HNO₂)를 형성하기 위해서 산성화되고 HNO₂는 H₂NO₂⁺으로 proton화되어 선택적으로 amide와 반응하여 nirosamide를 형성한다. 이러한 산성화(acidification)과정 때문에 니트로화반응은 주로 생체내 산성위(acidic stomach)에서 발생한다^{40,41)}. 연구결과에 의하면, 아질산염 소거능이 인체의 위

내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 측정되어 오가피 메탄올 추출물은 생체내에서도 효과적인 아질산염 소거작용을 통해 nitrosoamine 생성을 억제할 것으로 생각된다.

결 론

본 연구는 오가피 메탄올 추출물의 생리활성 및 기능성을 검토하기 위해서 항산화효과와 아질산염 소거능을 측정하였다. 그 결과, 오가피 메탄올 추출물의 전자공여능(RC₅₀)은 29.93 μg /mL로 나타났고 SOD 유사활성은 추출물(0.96 mg/mL)을 첨가하였을 때 22.85%로 가장 높게 관찰되었으며, linoleic acid에 대한 항산화력은 추출물(0.2 mg/mL)을 첨가하여 지질과산화물을 측정한 결과 배양시간 24, 48, 96시간 경과 후 각각 48.89%, 45.0%, 46.34% 감소율을 보임으로써 효과적인 항산화 효과를 나타냈다. 총 폐놀함량은 gallic acid equivalents (GAE)로 측정되었고, $410.25 \pm 4.74 \mu\text{g}$ GAE $\mu\text{g}/\text{mg}$ extract으로 조사되었다. 아질산염 소거능은 복합 생약추출물(0.2 mg/mL)을 첨가하였을 때 pH 1.2 조건에서 88.3%로 가장 높게 나타났으며 pH가 증가할수록 감소하였다. 이상의 결과로 오가피 메탄올 추출물은 우수한 항산화 효과와 아질산염 소거능을 나타냄으로써 기능성 식품 소재 및 식품첨가물로써 사용가능 하리라 사료된다.

참고문헌

- Fridorich, I. The biological activity of oxygen radicals. Science 201: 875-881, 1987.
- Gardner, D.R., Fridorich, I. Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phospho gluconate dehydratase. J. Biol. Chem. 266: 1478-1483, 1991.
- Imlay, J.A., Linn, S. DNA damage and oxygen radical toxicity. Science 240: 1302-1309, 1986.
- Dziezak, J.D. Antioxidants. Food Technol. 40: 94-102, 1986.
- Branen, A.L. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil Chem. Soc. 52: 59-63, 1975.
- Mang, Y.S., Park, H.K. Antioxidant activity of ethanol extract from Dodok (*Codonopsis lanceolata*). Korean J. Food Sci. Technol. 23: 311-316, 1991.
- Jung, G.T., Ju, I.O., Choi, J.S., Hong, J.S. The antioxidative, antimicrobial and nitrate scavenging effects of *Schizandra chinesis* RUPRECHT (Omija) seed. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 928-935, 2000.
- Jeong, E.J. Antioxidative and nitrate scavenging effects of solvent extracts from *Gyrophora esculenta*. Korean J. Food Nutr. 11: 426-430, 1998.
- Heo, J.C., Park, J.Y., An, S.M., Lee, J.M., Yun, C.Y., Shin, H.M., Kwon, T.K., Lee, S.H. Anti-oxidant and Anti-tumor Activities of Crude Extracts by *Gastrodia elata* Blume.

- Korean J. Food. Storage Circul. 13(1):83-87, 2006.
10. Christiansen, L.N., Tompkin, P.B., Shaparis, A.B., Kueper, T.V., Johnston, R.W., Kautter, D.A., Kolari, O.J. Effect of sodium nitrite on toxin production by *Clostridium botulinum* in bacon. Appl. Microbiol. 27: 733-737, 1974.
 11. Macrae, R., Robinson, R.K., Sadler, M.J. Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition. Academic Press, New York, NY, USA. 3240-3249, 1993.
 12. Bartsh, H., Ohshima, H., Pignatell, B. Inhibition of endogenous nitrosation: Mechanism and implications in human cancer prevention, Nut. Res. 202: 307-324, 1988.
 13. Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Kim, S.B., Park, Y.H. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 1. Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. Bull. Korean Fish. Soc. 20: 463-468, 1987.
 14. Mirvish, S.S. Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst. 44: 633-639, 1970.
 15. Kato, H., Lee, I.E., Chyuen, N.V., Kim, S.B., Hayase, F. Inhibitory of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 51(1):1333-1338, 1987.
 16. Cooney, R.V., Ross, P.D. N-Nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effects of vanillin and related phenols. J. Agric. Food Chem. 35: 789-796, 1987.
 17. Kim, S.B., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Park, Y.H., Kim, D.S. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 2. Nitrite-scavenging effects of seaweed extracts. Bull. Korean Fish Soc. 20: 469-475, 1987.
 18. Lee, G.D., Chang, H.G., Kim, H.K. Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 432-436, 1997.
 19. Ha, J.U., Ryu, Y.K., Park, H.J. Nitrite scavenging ability and antioxidant activity of water extract and ethanol extract from *Cassia foecaria* L. and *Pueraria thunbergiana*. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 21: 1-9, 2001.
 20. 이창복. 한국수목도감. 임업시험장, p 143, 1966.
 21. 육창수, 안덕균. 현대본초학. 고문사, p 239, 1972.
 22. Kim, Y.M. Pharmaceutical comparison of ginseng with *Acanthopanax* from the Aspect of Oriental Medicine. Korean J. Pharmacol. 8(3):131-138, 1977.
 23. Brekhman, I.I., Dardymov, I.V. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. Ann. Rev. Pharmacol. 9: 419-430, 1969.
 24. Wang, J.Z., Tsumura, H., Shimura, K., Ito, H. Antitumor activity polysaccharide from a chinese medicinal herb, *Acanthopanax giraldii* Harms. Cancer lett. 65(1):79-84, 1992.
 25. Yoon, T.J., Lee, S.W., Shin, K.S., Choi, W.H., Hwang, S.H., Seo, S.H., Kim, S.H., Park, W.M. Effect of hot water extract from *Acanthopanax senticosus* on systemic anaphylaxis. Korean H. Food Sci. Technol. 34: 518-523, 2002.
 26. Lee, S.Y., Jung, S.H., Lim, S.S., Ji, J., Lee, S.H., Shin, K.H. Effects of the water extract from the stem bark of *Acanthopanax senticosus* on hyperlipidemia in rats. Korean J. Pharmacogn. 32: 103-107, 2001.
 27. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use a stable free radical. Nature. 26: 1199-1200. 1958.
 28. Marklund, S., Marklund, G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 468-474, 1974.
 29. Ismail, M., Manickam, E., Danial, A.M., Rahmat, A., Yahaya, A. Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract. J. Nutr. Biochem. 11(11-12):536-542, 2000.
 30. Slinkard, K., Singleton, V.L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. Am. J. Enology and Viticulture 28: 49-55. 1977.
 31. Cho, S.Y., Han, Y.B., Shin, K.H. Screening for antioxidant activity of edible plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 133-137, 2001.
 32. Donnelly, J.K., McLellan, K.M., Walker, J.L., Robinson, D.S. Superoxide dismutase in foods: A review. Food Chem. 33: 243-270, 1989.
 33. Kim, S.J., Han, D.S., Moon, K.D., Rhee, J.S. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotechnol. Biochem. 59: 822-826, 1995.
 34. Korycka-Dahl, M., Richardson, T., Hicks, C.L. Superoxide dismutase activity in bovine milk serum. J. Food Prot. 42: 867-871, 1979.
 35. Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Arch. Biochem. Biophys. 315: 161-169, 1994.
 36. Lee, J.H., Lee, S.R. Analysis of phenolic substance content in Korean plant foods. Korean J. Food Sci. Thechnol. 26: 310-316, 1994.
 37. Hayes, R.E., Bookwalter, G.N., Bagley, E.B. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives. J. Food Sci. 6: 1527-1532, 1997.
 38. Kang, Y.H., Park, Y.K., Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donationd ability of phenolic compound. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 232-239, 1996.

39. Gray, J.I., Dugan, Jr L.R. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40: 981-984, 1975.
40. Leaf, C.D., Vecchio, A.L., Roe, D.A., Hotchkiss, J.H. Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. *Carcinogenesis* 791-795, 1987.
41. Mirvish S.S. Formation of N-nitro compounds: Chemistry, kinetics and *in vivo* occurrence. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 31: 325-351, 1975.