

## 활나물 잎 추출물의 분획별 항산화 활성

김태수<sup>1</sup> · 고상범<sup>2</sup> · 박춘근<sup>3</sup> · 성하정<sup>4</sup> · 강명화<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>호서대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>한국화학시험연구원 안전성 평가본부, <sup>3</sup>농촌진흥청 국립원예특작과학원, <sup>4</sup>호서대학교 융합기술연구소

### Antioxidant Effects of *Crotalaria sessiliflora* L. Leaf Extracts Fractionated from Each Solvent

Tae-Su Kim<sup>1</sup>, Sang-Beom Ko<sup>2</sup>, Chun-Geon Park<sup>3</sup>, Ha-Jeong Seong<sup>4</sup> and Myung-Hwa Kang<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Nutrition, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

<sup>2</sup> Safety Assessment Center, Korea Testing and Research Institute for Chemical Industry, Gimpo 415-871, Korea

<sup>3</sup>National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Umsong 369-873, Korea

<sup>4</sup>Institute of Fusion Technology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

#### Abstract

In this study, *Crotalaria sessiliflora* L., leaf was extracted with a solvent mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and CH<sub>2</sub>OH (3:1). In order to draw or separate effective components from the leaf extract with high activity, a 1:1 solvent mixture of water and butanol was used after removal of the sugar and fat from the extract. From the decompressed and concentrated butanol layer, 10 small fractions (Fr1, Fr2, Fr3, Fr4, Fr5, Fr6, Fr7, Fr8, Fr9, and Fr10) were obtained using a chromatography column filled with sephadex LH-20. The activity of each fraction was measured by the same method as that used to measure the antioxidant effect of each part ( $p < 0.05$ ). The Fr1, Fr4, and Fr6 fractions showed the highest activity levels ( $p < 0.05$ ). The vital unknown material that vitality exists in the strong butanol fractions of F1, F4 and F6 will be isolated and identified. Currently, we are performing for a single compound from an unknown peak by instrumental analysis.

Key words : *Crotalaria sessiliflora* L., antioxidant activity, column chromatography, Sephadex LH-20.

#### 서 론

활나물(*Crotalaria sessiliflora* L.)은 두과식물로 종양, 식도암, 직장암, 폐암, 위암 및 만성기관지염에 이르기까지 각종 질환들을 치료하거나 해독제로 민간요법에서 널리 이용되어 왔다. 일년생 초본으로 높이 20~70 cm이고, 표면을 제외한 전체에 긴 갈색 털이 나 있고 황무지의 잡초 밭에서 자생하며, 우리나라 전국에 널리 분포한다(Shin *et al* 1999). 활나물은 pyrrolizidine alkaloids(PAS)계인 monocrotaline을 생합성하며(Anon R 1975), PAS는 마우스육종 180, 백혈병 L615, Walker 암 256 등의 치료에 외용, 내복 및 주사제로 이용되며, 중국에서는 민간약으로써 피부암, 자궁경부암, 음경암, 유선암, 위암, 간암, 식도암, 폐암, 만성기관지염 등의 치료에 이용되고 있다(Atal & Sawhney 1973, Schaeffer *et al* 1989). 활나물에는 monocrotaline이라는 특정 성분이 항암 효과를 나타내는 것으로 알려지면서, monocrotaline 성분의 항암 효과에 대

한 연구가 시작되었으나 아직 초기 단계에 불과하다(Lee & Lin 1988). 활나물에는 monocrotaline이 전초에 0.02%, 종자에 0.4%가 함유되어 있고, 또 다른 alkaloid 계통의 물질이 함유되어 있어 이들 성분들에 의해 다양한 생리활성 효과가 나타난다고 한다(Kang *et al* 2001). 그러나 활나물은 종자발아율이 매우 부진하고 타 작물의 발아를 억제하는 것으로 알려져 자원화 하기에 상당한 어려움이 있었으나, 최근 활나물 종자의 휴면 타파를 위해 저온 처리 방법, 저온 대체 효과가 있는 것으로 알려진 gibberellin(GA3)이 종자의 수분 상태를 조절하는 KNO<sub>3</sub>와 경실종자의 종실 연화 처리가 휴면을 타파하여 발아율을 높이는 방법이 개발되어 활나물의 대량 증식이 가능하게 되었다(Kang *et al* 2001).

최근 급속한 경제 발전에 따른 생활 수준의 향상으로 노령인구가 증가하고 식생활의 서구화로 인하여 과거의 감염성 질환의 발병율이 감소한 반면, 심장질환이나 동맥경화, 고혈압 및 당뇨와 같은 만성퇴행성 질환의 발병율이 점차적으로 증가하고 있는 추세이다. 이에 따라 건강식품에 대한 관심이 높아지면서 성인병, 강장 및 노화와 관련된 식품들의 수요가

† Corresponding author : Myung Hwa Kang, Tel : +82-41-540-5973, Fax : +82-41-548-0670, E-mail : mhkang@hoseo.edu

꾸준히 늘고 있다. 최근에 와서는 우리나라 약용식물에 대한 연구, 개발 차원에서 그것의 가치가 더해 가고 있고, 과일과 채소에 함유된 천연 물질 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 또한, 가공식품과 인스턴트식품의 이용이 높아지면서 이들 식품의 장기 보존을 위해 천연의 항산화제, 보존제 등의 중요성과 함께 개발의 필요성이 더욱 대두되고 있다. 특히 생리활성에 관련된 연구가 매우 활발하게 진행되고 있는 실정이다(Leibovitz & Siegel 1980). 이들 유용 성분 중 항산화 물질은 유지의 자동 산화 과정의 연쇄 반응을 억제시키는 radical scavenger나 LDL 산화에 의한 동맥경화, 심장병 예방, 노화 억제 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Monach *et al* 1998, Rice *et al* 1996). 각 부위별 활나물 에탄올 추출물의 항산화 효과와 활나물 부위별 항산화 활성을 비교한 결과 추출수율이 높았던 잎에서 활성도 높게 나타났다(Kang *et al* 2002, Woo *et al* 2005). 따라서 본 연구는 자생하고 있는 식물자원의 하나인 활나물을 부위별 항산화 활성을 토대로 활성이 가장 강한 잎 부위를 분획 추출하여 활나물의 분획별 항산화 활성 효과를 규명하고 추출물중 활성이 강한 butanol fraction에 존재하는 미지의 물질을 구조·동정하여 천연물의 항산화 활성과 천연 첨가물로서의 사용 가능성, 기능성 식품 신소재로서 개발의 기초 연구 자료로 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

본 실험에 사용된 활나물은 농촌진흥청 작물과학원 약용작물 시험 포장에서 2002년 재배된 것을 수확한 후 잎을 분류하여 세척한 후 그늘에서 자연 건조하여 공시 재료로 각종 분석에 이용하였다. 실험에 사용된 시약은 천연 항산화제로 tocopherol, sesamol(Sigma Co, U.S.A)을 각각 사용하였으며, 특급 chloroform, ethanol을 추출 용매로 사용하였다.

### 2. 추출 방법

활나물의 잎 부위를 에탄올과 메틸렌 클로라이드 혼합용매(3:1)로 추출한 후 여과지에 거른 후 감압 농축하였고 rotary evaporator(EYELA N-1000, Lab corporation, Japan)를 이용하여 용매를 완전히 제거시킨 후 동결 건조기(FD 8508 ilshin Lab Co., Ltd. Korea)를 이용하여 건조 후 각종 실험에 사용하였다. 활성이 높은 잎 추출물에서 유효 성분을 추출 및 분리하기 위해서 당과 지방 성분을 제거하고, water와 n-butanol 용매를 1:1 비율로 혼합하여 분획 추출하였다. n-butanol층은 감압·농축 후, Sephadex LH-20이 충전된 column chromatography를 이용하여 Fr1-Fr10의 소 분획물을 얻었다(Fig. 1).

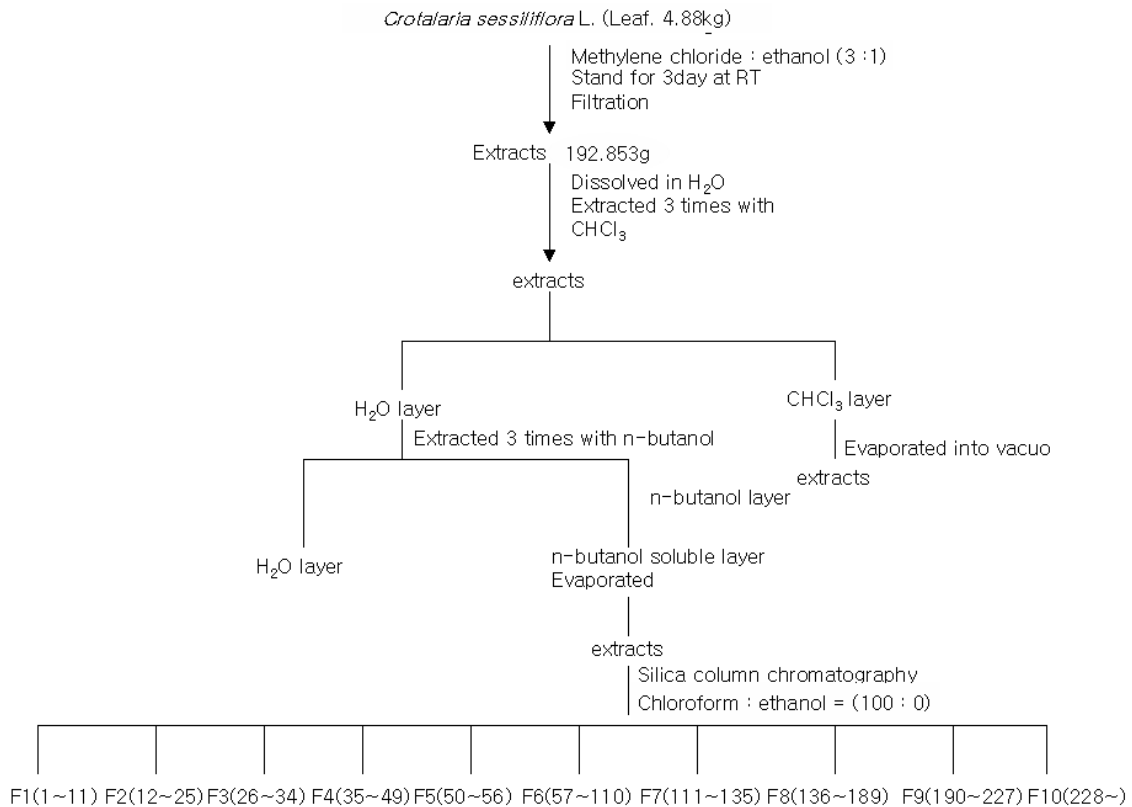


Fig. 1. Scheme of extraction and solvent fractionation of n-butanol extract from *Crotalaria sessiliflora* L. leaf.

1) 활나물 잎 추출물의 Sephadex LH-20 에 의한 분획물 제조

활나물 잎 n-butanol 분획물 2 g을 loading하여 chloroform : ethanol(100 : 0 ~ 0 : 100)으로 용출한 시료를 UV-vis spectrophotometer에 의해 흡수 파장을 확인하였으며, 같은 파장의 분획물은 하나의 fraction으로 모아서 감압 농축한 후 시료로 사용하였다(Fig. 2).

3. 페놀성 화합물 정량

활나물 잎 분획물 추출물의 페놀성 화합물은 Folin-Denis 법(Choi *et al* 2001)을 일부 변형하여 비색 정량하였다. 즉, 각 시료 0.2 mL에 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 2.0 mL 가하고 2분간 실온에 방치하고 50%의 Folin-Denis 시약을 0.2 mL 가하고 혼합하여 30분 정치하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catechin을 이용하여 시료의 페놀성 화합물 정량을 위한 검량선을 작성하였으며, 모든 과정은 3회 반복하였다.

4. 전자공여능 측정

DPPH에 의한 항산화 활성 측정법은 항산화 물질의 전자공여능으로 인하여 방향족 화합물과 아민류 등이 환원되는 것은 지표로 하여 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 각 시료의 항산화 활성은 DPPH free radical 소거법에 의한 전자공여능(EDA)으로 측정하였다(Marklund & Marklund 1974). 각 추출 방법에 의하여 추출된 시료는 0.5 mL DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydazyl) 시약 3 mL를 가하고, 실온에서 30분간 방치 후 UV-visible spectrophotometer(Phanrmaca biotech Ultra-spec 3000, England)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다.

$$\text{Electron Donating Ability (EDA, \%)} = 100 - (A/B \times 100)$$

- A : 시료 첨가군의 흡광도
- B : 시료 무 첨가군의 흡광도

5. Super Oxide Dismutase(SOD) 유사 활성 측정

SOD 유사 활성 측정은 각 추출물 시료 0.2 mL에 tris-HCl

buffer(pH 8.5) 3 mL와 0.2 mM pyrogallol을 가하여 25°C에서 10분간 방치한 후 1N-HCl로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 측정하였다(Kang *et al* 2002).

$$\text{SOD-liked Activity (\%)} = 100 - (A/B \times 100)$$

- A : 시료 첨가군의 흡광도
- B : 시료 무 첨가군의 흡광도

6. Hydroxyl Radical 소거능 측정

FeSO<sub>4</sub>/EDTA 용액, 2-deoxyribose, 각 분획물, phosphate-buffer, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 혼합, 2시간 동안 반응시킨 후 TCA(trichloroacetic acid)용액과 TBA(thiobarbituric acid) 용액을 넣고 15분 가열한 후 급속히 냉각시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 비교하였다(Chung SK 1997).

$$\text{Hydroxyl radical scavenging activity (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

- A : 시료 무 첨가군의 흡광도
- B : 시료 무 첨가군의 흡광도

7. Hydrogen Peroxide 소거능 측정

일정량의 lecithin을 chloroform에 녹인 후 질소가스를 이용하여 용매를 완전히 제거한 추출물, 2 mM FeSO<sub>4</sub>, 2 mM ascorbic acid를 첨가하여 혼합하고 37°C에서 30분간 incubating 후 과산화 지질을 TBARS법(2-thiobarbutric acid relative substance)으로 측정하였다(Muller HE 1985).

8. 통계 처리

통계 분석은 SAS(Statistical Analysis System) 통계 프로그램을 사용하여 분산 분석(ANOVA)을 실시하였고(SAS 2000), 각 시료 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 사용하였다(p<0.05).

결과 및 고찰

1. 총 페놀성 화합물 함량

폴리페놀 화합물 중 flavonoid는 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>나 ·O<sub>2</sub><sup>-</sup>와 반응하며, 안정한 complex를 형성하여 이들의 소거 작용을 가지고 있어 지질의 과산화에 대한 항산화제로 잘 알려져 있다. 활나물 추출물로부터 항산화 활성이 높은 정제된 분획물을 동정하기 위해 silica gel을 이용하여 chloroform : ethanol (100 : 0 ~ 0 : 100)로 Fr1~Fr10까지의 물질을 얻어 각 분획별 페놀 함량을 측정하였다.

페놀성 화합물 측정 결과(Fig. 3), Fr4(2.98 mg/mL) > Fr1(1.34 mg/mL) > Fr5(1.07 mg/mL) > Fr10(1.00 mg/mL) > Fr3

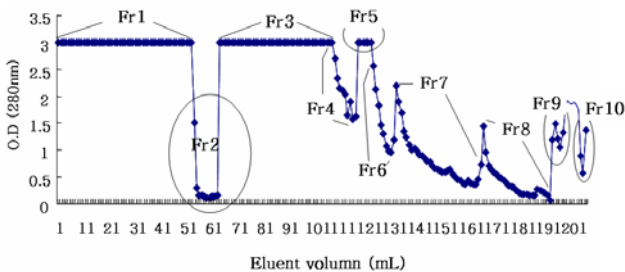
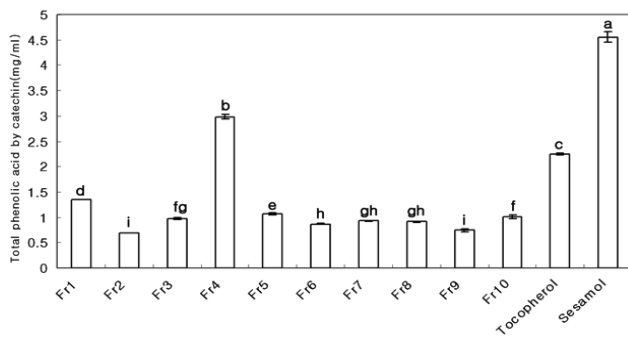


Fig. 2. Silica chromatogram of each fractionation prepared by UV spectrum.



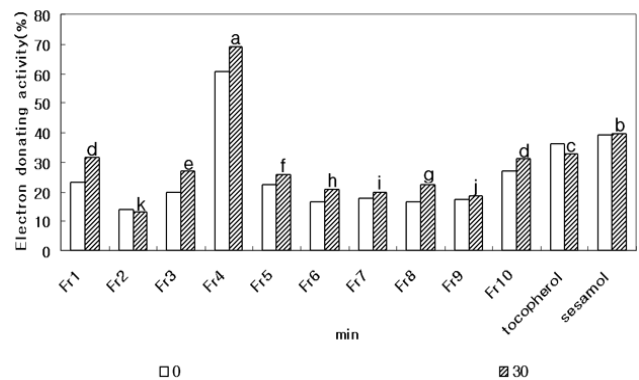
**Fig. 3.** Total phenolic acids contents of each fractions purified from glass column chromatogram in *Crotalaria sessiliflora* L. leaf

Values with different alphabets are significantly different among the groups by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

(0.97 mg/mL) > Fr7(0.93 mg/mL) > Fr8(0.91 mg/mL) > Fr6(0.86 mg/mL) > Fr9(0.74 mg/mL) > Fr2(0.68 mg/mL)의 함량을 보였다. Fr4에서 대조군인 sesamol(4.55 mg/mL)보다는 낮은 함량을 나타내었으나, tocopherol(2.24 mg/mL)보다는 유의적으로 높은 함량을 나타냈다. 이러한 결과는 Ahn & Cho(1999)의 결과와 비교하였을 때 높은 값이었다. Kang *et al*(2007)은 보리잎차와 녹차 침출액의 총 수용성 페놀 함량을 분석한 결과, 보리잎차와 녹차 모두 총 수용성 페놀 함량은 추출 온도가 높을수록 많이 용출되었다고 하였고, Lee *et al*(2005) 등의 실험에서 울릉도산 산채류 추출물의 총 페놀 함량을 측정 한 결과 물엿경귀 잎과 섬 고사리 잎 추출물에 각각 130.2와 130.7  $\mu\text{L}/\text{mg}$ 으로 높은 폴리페놀 함량이 측정되었다. 이러한 결과는 추출 방법과 물질의 정제에 따른 차이라고 생각되어진다. 페놀 화합물은 식물자원에 함유되어 있는 천연물질로써 다양한 구조와 생리활성 기능을 가지고 있다. 페놀 화합물의 함량과 항산화 효과와는 밀접한 관계가 있다는 Ra *et al*(1997)의 보고에서와 같이 본 실험에서도 총 페놀 화합물의 함량이 높은 것이 뛰어난 항산화 효과를 가지고 있을 것으로 예상된다.

## 2. 전자공여능

전자공여능의 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil) radical 소거법으로 측정하는데 DPPH는 분자 내 radical을 함유하고 있다. 토코페롤, 아스코르빈산, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원, radical이 소거되어 짙은 자색이 탈색되는데, 이 정도를 항산화 물질의 전자공여능으로 측정하는 방법이다(Blois MS 1954). 이때 DPPH 분자의 움직임은 hydroxyl radical과 유사하여 free radical 소거 실험에 활용된다(Kang *et al* 2001). DPPH와 활나물 잎 추출물의 분획물을 반응시켜 DPPH scavenger 활성을 측정한 결과(Fig. 4),



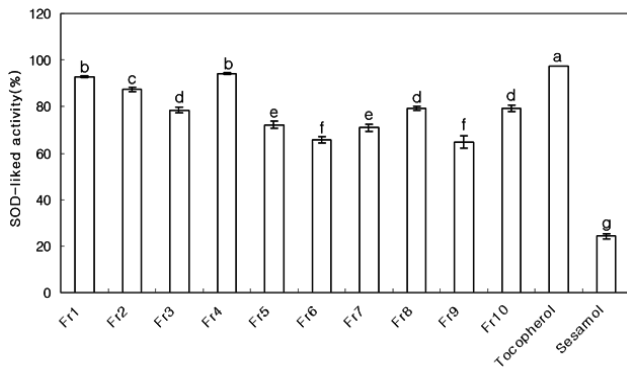
**Fig. 4.** Electron donating ability of each fractions purified from glass column chromatogram in *Crotalaria sessiliflora* L. leaf.

Values with different alphabets are significantly different among the groups by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

Fr4(69.15%) > Fr1(31.56%) > Fr10(31.33%) > Fr3(26.96%) > Fr5(25.67%) > Fr8(22.25%) > Fr6(20.73%) > Fr7(19.67%) > Fr9(18.42%) > Fr2(12.88%) > 순으로 Fr4에서 가장 높게 나타났다. 대조군인 sesamol(39.71%), tocopherol(32.83%)보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. Kang *et al* (2007)은 보리잎차와 녹차 침출액의 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 결과 녹차는 50.56%였으며, 보리잎차는 11.06%로 녹차에 비해 5배 정도 낮은 값을 나타내었다. 또한, 밤꽃 추출물의 전자공여능을 비교한 결과 17.22%이었다고 한다(Kang *et al* 2002). Blois MS(1954)의 덩굴 잎 추출물과 비교하였을 때 Fr4에서 다른 잎 추출물보다 활성이 높거나 비슷한 전자공여능을 보였다. 한국 약용 및 식물 자원의 항산화성 식물탐색에 대한 결과를 보면 식물자원이 20% 미만의 활성을 보고한 Choi *et al*(2003)에 의하면 활나물 잎 분획물은 높은 전자공여능을 나타내었다.

## 3. Super Oxide Dismutase(SOD) 유사 활성

Superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 유사 물질의 활성능을 측정한 결과 silica gel 분획물의 SOD 유사 활성 측정 결과(Fig. 5), Fr4(94.18%) > Fr1(92.79%) > Fr2(87.30%) > Fr8(79.34%) > Fr10(79.33%) > Fr3(78.44%) > Fr5(72.22%) > Fr7(70.93%) > Fr6(65.76%) > Fr9(64.76%) > 순으로 총 페놀 함량과 전자 공여능이 높았던 Fr4에서 높은 SOD 유사 활성을 보였다. 대조군인 tocopherol(97.34%)보다는 낮은 활성을 나타내었으나, sesamol(24.26%)보다는 활나물의 모든 분획물이 매우 높게 측정되었다. Kim & Chung (2002)은 녹차 열수 추출물이 85.3%로 팽이버섯, 마늘, 하수오, 오미자, 행인 및 솔잎 추출물에 비해 높다고 하였다. 이러한 결과와 비교할 때 활나물 분획물은 아주 높은 전자공여능을 나타냈고, su-

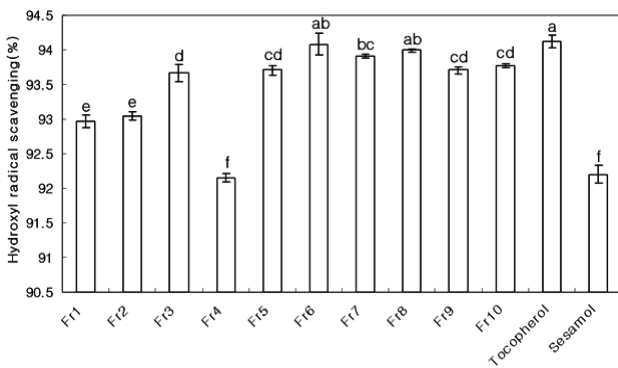


**Fig. 5. SOD-like activities of each fractions purified from glass column chromatogram in *Crotalaria sessiliflora* L. leaf.** Values with different alphabets are significantly different among the groups by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

peroxide anion 제거능이 높은 물질을 함유하고 있음을 예상할 수 있다.

**4. Hydroxyl Radical 소거능**

Hydroxyl radical( $\cdot OH$ ) 소거능은 2-deoxyribose oxidation method에 의해 측정하였다. Hydroxy radical은 활성산소 중에서 반응성이 강하여 생체 산화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 활나물 잎 추출물을 Sephadex LH-20에 의해 분리한 분획물의 hydroxyl radical 소거 활성을 측정한 결과(Fig. 6), Fr6(94.08%) > Fr8(93.99%) > Fr7(93.90%) > Fr10 (93.77%) > Fr9, Fr5(93.70%) > Fr3(93.66%) > Fr2(93.04%) > Fr1(92.97%) > Fr4(92.15%) 순으로 대조군인 tocopherol(94.12%), sesamol(92.19%)과 비교하여 유의적으로 비슷하거나 높은 활성을 나타내었다. Jang & Han(2002) 등의 한국산 약초 잎에 대한 연구 결과와 Yoo *et al* (2004)의 포도 부산물 결과와 비교하



**Fig. 6. Hydroxyl radical scavenging activity of each fractions purified from glass column chromatogram in *Crotalaria sessiliflora* L. leaf.** Values with different alphabets are significantly different among the groups by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

여 볼 때 활나물 잎 추출물의 분획물이 높은 수준의 hydroxy radical 소거 활성을 보이는 것으로 보아 활나물에는 항산화 활성이 높은 물질이 다량 함유되어 있을 것으로 사료된다.

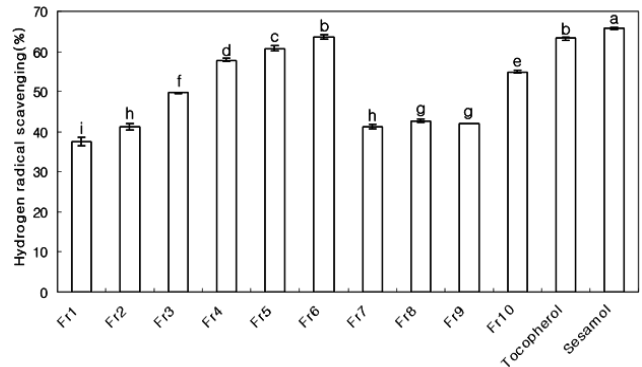
**5. Hydrogen Peroxide 소거능**

$H_2O_2$ 는 과산화지질의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 과산화지질은 동맥경화, 뇌졸중 등과 같은 성인병의 원인이 되고, 간장의 세포막에 과산화지질을 증가시켜 세포의 기능이 저하되어 염증이 유발되며, 그 결과 간경화, 간염 등을 초래한다고 보고되고 있다(Halliwell & Gutteridge 1999a, 1999b).

Hydrogen radical 소거활성은 SOD에 의해 생성된 과산화수소를 peroxidase를 첨가하여 물과 산소분자로 환원시켜 최종적으로 산패를 억제시켜주는 능력을 측정하는 것으로 본 실험 결과(Fig. 7), Fr6(63.51%) > Fr5(60.71%) > Fr4(57.82%) > Fr10(54.93%) > Fr3(49.74%) > Fr8(42.60%) > Fr9(42%) > Fr7(41.32%) > Fr2(41.23%) > Fr1(37.58%) 순으로 Fr6 분획물이 대조군인 sesamol(65.73%)보다는 낮은 활성을 나타내었으나, tocopherol(63.26%)과 유사한 hydrogen radical 소거능을 가지고 있음을 확인하였다. Yoo *et al* (2004)의 포도 과피의 항산화 활성이 55.6~66.6%로 활나물 분획물과 유사한 결과를 보여 활나물은 천연물로서의 항산화 소재로 개발 가능할 것으로 여겨진다.

**요 약**

활나물 잎을 에탄올과 메틸렌 클로라이드 혼합용매(3:1)로 추출하였다. 이중 가장 활성이 높은 유효성분을 추출 및 분리하기 위해서 당과 지방 성분을 제거하고, water와 n-butanol 용매를 1:1 비율로 혼합하여 분획 추출하였다. n-butanol층



**Fig. 7. Hydrogen radical scavenging activities of each fractions on the peroxidation of egg yolk lecithin.** Values with different alphabets are significantly different among the groups by Duncan's multiple range test( $p < 0.05$ ).

은 감압·농축 후, Sephadex LH-20이 충전된 column chromatography를 이용하여 10개(Fr1, Fr2, Fr3, Fr4, Fr5, Fr6, Fr7, Fr8, Fr9, Fr10)의 소 분획물을 얻었다. 분획물의 각종 항산화 활성 결과 Fr1, Fr4, Fr6에서 높은 항산화 활성을 나타내었다 ( $p < 0.05$ ). 분획물중 활성이 강한 F1, F4 및 F6에서 미지의 물질을 발견하였으므로 각종 기기분석을 통해 그물질을 동정 중에 있다.

## 감사의 글

본 논문은 2002년도 농림부 농림기술센터의 연구비 지원에 의해 수행된 연구 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

## 문헌

- Ahn MS, Cho HS (1999) Antioxidative effect of phenolic acids in defatted perilla flour on soybean oil. *Korean J Food Cookery Sci* 15: 55-61.
- Anon R (1975) Group Shan Dong province. *Res Chin Mat Med* 6: 95.
- Atal CK, Sawhney RS (1973) The pyrrolizidine alkaloids from Indian *Crotalaria*s. *Indian J Pharm* 35: 1-12.
- Blois MS (1954) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1204.
- Choi CS, Song ES, Kim JS, Kang MH (2003) Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. methanol extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1216-1220.
- Choi YH, Kim MJ, Lee HS, Yun BS, Hu C, Kwak SS (2001) Antioxidative compounds in aerial parts of *Potentilla fragariodes*. *Korean J Pharmacogn* 29: 79-85.
- Chung SK (1997) Hydroxy radical scavenging effects of speices and scavengers from brown mustard. *Biosci Biotech Biochem* 61: 118-123.
- Halliwell B, Gutteridge JNC (1999a) Hydrogen peroxide. In: Halliwell B, Gutteridge J.N.C.(Eds.), *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, pp. 82-83.
- Halliwell B, Gutteridge JNC (1999b) Mechanism of damage of cellular targets by oxidative stress: lipid peroxidation. In: Halliwell B, Gutteridge J.N.C.(Eds.), *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Oxford, pp 284-313.
- Jang JK, Han JY (2002) The antioxidant ability of grape seed extracted. *Korean J Food Sci Technol* 34: 524-528.
- Kang JH, Kim YJ, Jeon BS (2001) Effect of presown cold stratification, G.A<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub> and acetone treatment on germination of *Crotalaria sessiliflora* L. *Korean J Medicinal Crop Sci* 9: 124-129.
- Kang MH, Choi CS, Kim JS, Chung HK, Min KS, Park CK, Park HW (2002) Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiliflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1098-1102.
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB (2001) Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhizia uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 138-142.
- Kang MJ, Shin SR, Kim KS (2002) Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion *Taraxacum officinale*. *Korean J Food Preser* 9: 253-259.
- Kang OJ, Jang JH, Choi HS, Cheong HS (2007) A comparison of the antioxidant activity of barley leaf tea and green tea according to leaching conditions in distilled water. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 165-172.
- Kim YC, Chung SK (2002) Relative oxygen radical species scavenging effects of Korean medicinal plant leaves. *Food Sci Biotechnol* 11: 407-411.
- Lee H, Lin JY (1988) Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutation Res* 204: 229-234.
- Lee SO, HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
- Leibovitz BE, Siegel B (1980) V. Aspects of free radical reactions in biological systems. *Aging J Gerontology* 35: 45-56.
- Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Monach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Taxier O, Regerat F, Remesy C (1998) Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivative which retain antioxidant properties. *FEBS Lett* 426: 331-336.
- Muller HE (1985) Detection of hydrogen peroxide produced by microorganisms on an ABTS peroxidase medium. *Zbl Bakt Hyg* 259: 151-155.
- Ra KS, Suh HJ, Chung SH, Son JY (1997) Antioxidant activity of solvent extract onion skin. *Korean J Food Sci Te-*

- chnol* 29: 595-600.
- Rice ECA, Miller NJ, Paganga G (1996) Structure antioxidant activity relationship of flavonoid and phenolic acid. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
- SAS (2000) *User's guide*. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Schaeffer ST, Zalkow LH, Teja AS (1989) Extraction of monocrotaline from *Crotalaria spectabilis* using supercritical carbon dioxide and carbon dioxide-ethanol mixtures. *Bio-technol. Bioeng* 34: 1357-1365.
- Shin MK, Song HJ, Kang YS, Ryu, HS, Han DS, Kang KU, Baek SH (1999) Development of anticancer agents from 46 Korean medicinal plants. Part 13. Studies on the cytotoxicity and antitumor activity of Herba *Crotalaria sessiliflora* L. *Korean J Pharmacogn* 30: 130-136.
- Woo NRY, Kim TS, Park CG, Seong HJ, Ko SB, Jung JW, Kang MH (2005) Comparison of antioxidative activities of *Crotalaria sessiliflora* L.. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1297-1301.
- Yoo MA, Chung HK, Kang MH (2004) Optimal extract methods of antioxidant compounds from coat of grape dreg. *Korean J Food Sci Technol* 36: 134-140.
- (2008년 12월 23일 접수, 2009년 3월 17일 채택)