

초임계 이산화탄소를 이용한 겨우살이(Mistletoe, *Viscum album*) 추출물의 폴리페놀 함량 및 항산화 활성

장태오¹ · 유양훈¹ · 황용철¹ · 김현구² · 우현철^{1*}

¹그린텍이십일(주)

²한국식품연구원

Total Polyphenol Content and Antioxidative Activities of Mistletoe (*Viscum album*) Extracts by Supercritical Carbon Dioxide

Tae-Oh Jang¹, Yang-Hoon Yoo¹, Yong-Chul Hwang¹, Hyun-Ku Kim², and Hyun-Chul Woo^{1*}

¹GreenTeck21 Co., LTD., Gyeonggi 430-857, Korea

²Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

This study was performed to investigate antioxidant activities of Mistletoe (MS) extracts by measuring electron donating ability (EDA), super oxide dismutase (SOD)-like activity and total polyphenol content (TPC). The extracts were obtained using supercritical carbon dioxide, hot-water and ethanol extraction. EDAs was the higher in ethanol extract (70.53%) than water (36.73%) or supercritical carbon dioxide extract (15.73% at 400 bar, 30°C) at concentration of 10 mg/mL. However, SOD-like activities and TPCs were the highest in the supercritical carbon dioxide extract. At concentration of 1 mg/mL, supercritical carbon dioxide extract (22.54% at 200 bar, 40°C) was higher SOD activity than water (7.85%) and ethanol extract (6.12%). Regarding TPCs of MS extracts, the content was the highest in supercritical carbon dioxide extract (17.57 wt% catechin equivalent at 200 bar, 50°C) followed by ethanol and water extract. These results suggest that it can be useful to develop functional foods using antioxidative active compounds of MS with high polyphenol contents.

Key words: *Viscum album*, supercritical carbon dioxide, antioxidative activity, total polyphenol content

서 론

산소는 생명유지에 절대적으로 필요하지만 안정한 분자 상태인 triplet oxygen(³O₂)이 각종 물리, 화학 및 환경적 요인 등에 의하여 hydroxyl radical(·OH), superoxide anion radical(O₂⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂), singlet oxygen(¹O₂), 오존(O₃) 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되어 생체에 치명적인 산소적 스트레스를 야기한다(1,2).

현대인의 환경조건에는 각종 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 체내에 축적될 기회가 많고 효소적, 비효소적인 방어 시스템에 의하여 정상적으로 소거되지 않게 되면 이로 인한 산화적 스트레스를 받게 된다. 따라서 ROS를 비롯한 free radical들은 세포막 분해, 단백질 분해, 지질 산화, DNA 변성 등을 초래하여 세포의 기능장애를 유발하고 암을 비롯한 뇌졸중, 파킨슨 병 등의 뇌질환과 심장 질환, 동맥경화, 염증, 노화, 자가 면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(3,4).

겨우살이는 참나무, 팽나무, 오리나무 등에 기생하는 다년생 식물로 최근엔 그 추출물이 항암활성 및 면역증강 작용이 있는 것으로 알려져(5-7) 소위 mistletoe 요법이라는 이름으로 암환자들에게 투여되고 있다. 항암활성의 본체는 주로 당단백질인 lectin(8)이 가장 잘 알려져 있으며, 그 작용 기작은 T-세포 활성화(9) 및 apoptosis(10) 등과 관련이 있는 것으로 밝혀져 있다. 그러나, Ribereau-Gayon 등(11)과 Holtskog 등(12)은 겨우살이의 항암활성은 주로 lectin 분획에 존재하나 비단백질 분획에서도 많은 활성 성분이 남아 있음을 보고하여, 겨우살이 중에는 lectin 이외에도 다수의 소수성 활성성분이 존재함을 시사한다. 저분자 물질로는 viscotoxin(13), flavonoid(14) 및 이의 배당체(15) 등이 알려져 있으나 한국산 겨우살이에 대한 저분자 화합물의 연구는 alkaloid에 관한 보고(16)가 있을 뿐이다. 또한 겨우살이가 생산하는 소수성 저분자 항산화 활성물질에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 본 연구에서는 소수성 저분자 물질의 추출에 효과적이며, 임계 온도가 낮아서 활성물질의 열변성

*Corresponding author. E-mail: whccsh@greentek21.com
Phone: 82-31-443-8918, Fax: 82-31-443-8930

을 막을 수 있고, 비가연성이며 값이 싸며 쉽게 구할 수 있고, 무엇보다도 독성이 없어 인체에 무해하고 친환경적 추출법인 초임계 이산화탄소를 이용하여 한국산 겨우살이를 추출한 후 추출물의 전자공여능 등의 항산화활성 평가 및 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

재료 및 방법

실험 재료

실험에 사용된 겨우살이는 경북 영주산으로 2009년 1월 6일, 경동시장에서 미분된 것을 구입하여 0.2 mm PE film에 밀봉 포장하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

추출방법

유용성분의 추출을 위해 초임계 이산화탄소 추출장비(Greentek21 Co., Ltd., Anyang, Korea)를 이용하여 추출을 진행하였다. 추출조는 내용량 500 mL의 용량으로 energized seal로 밀봉하였으며, extractor의 head 부분과 본체는 clamp 체결 방식을 사용하였다. CO₂ cylinder에서 나온 CO₂ gas는 condenser를 거쳐 액화되어 CO₂ 펌프에서 압축된 뒤 추출조로 들어가게 된다. 추출조에서 나온 이산화탄소와 추출물은 압력이 상압으로 낮아지면서 이산화탄소는 날아가고 추출물은 receiver에 모이게 된다. 일반 용매추출은 환류냉각관이 장치된 soxhlet을 이용하여 정제수와 ethanol을 추출 용매로 사용하여 추출하였다. 이렇게 하여 얻어진 추출물을 whatman filter paper(No. 2)에 거른 후 회전 감압증발기(Ratavapor R-123, Buchi, Flawil, Switzerland)로 감압 농축하였고 50 mL MeOH로 정용하여 겨우살이 추출물을 얻었다.

전자공여작용의 측정

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등(17)의 방법을 변형하여 각각의 겨우살이 추출물에 대한 DPPH(α, α -diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 4×10^{-4} M DPPH용액 0.8 mL를 가한 후, 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.5) 2 mL를 혼합한다. 그리고 99% ethanol 2 mL를 가하여 총액의 부피가 5 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Bio-Tek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$E(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성의 측정은 Marklund의 방법을 변형한 Kim

등(18)의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료첨가 및 무첨가구 간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$S(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀의 함량(total polyphenol content, TPC)은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folin-Denis방법(19)으로 측정하였으며, 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출액의 2배 희석액을 사용하였다. 즉, 희석액 0.5 mL에 Folin reagent 0.5 mL를 가하고 3분간 정지한 다음 0.5 mL의 10% Na₂CO₃ 용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정지한 후 분광광도계를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 총 폴리페놀 함량은 catechin으로 표준곡선을 작성하여 wt% catechin equivalent로 나타내었다.

결과 및 고찰

추출수율

겨우살이 초임계 이산화탄소 추출수율은 200 bar 30, 40, 50, 60°C에서는 각각 3.49, 6.01, 3.72, 2.44 wt%이었으며, 300 bar 30, 40, 50, 60°C에서는 각각 5.77, 12.16, 7.47, 7.03 wt%이었으며, 400 bar 30, 40, 50, 60°C에서는 각각 6.30, 8.44, 7.67,

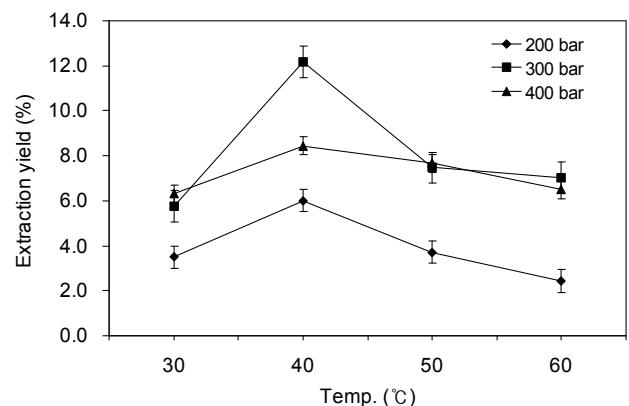


Fig. 1. Extraction yield of *Viscum album* by supercritical carbon dioxide. ◆: 200 bar, ■: 300 bar, ▲: 400 bar. Values are average of 5 replications.

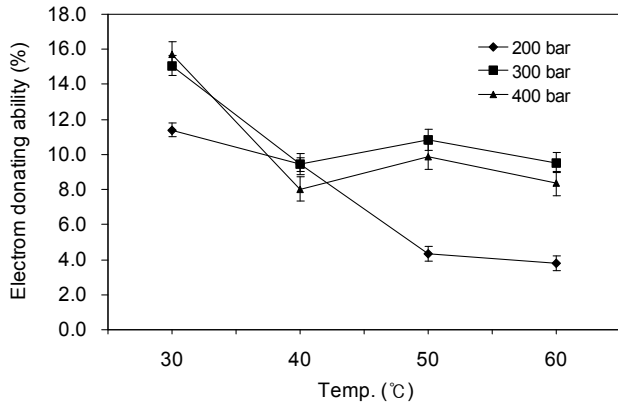


Fig. 2. Electron donating ability of *Viscum album* by supercritical carbon dioxide. ◆: 200 bar, ■: 300 bar, ▲: 400 bar. Values are average of 3 replications.

6.49 wt%를 나타냈다(Fig. 1). 일반 용매를 이용한 추출수율은 정제수의 경우 18.32%이었으며, 주정을 이용한 추출수율은 23.84%를 나타냈다(Fig. 5). 실험 결과 일반 용매 추출물의 수율이 높게 나타났는데, 이는 일반 용매 추출법에 비해 초임계 추출법의 추출 선택성이 높은 결과라 할 수 있다.

전자공여 작용

항산화물질은 free radical에 전자나 수소를 공여하여 복합체를 만든다. DPPH는 항산화물질로부터 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하므로 전자공여능으로부터 항산화 활성을 추정할 수 있는데 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 radical이 소거되며 이때의 DPPH 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있고 이 색차를 비색 정량하여 전자공여능력을 측정한다(20-24).

Fig. 2는 겨우살이의 초임계 추출압력과 추출 온도에 따른 각 추출물의 전자공여 작용을 나타낸 것이다. 각 추출물의 농도를 10 mg/mL로 처리하였을 때 200 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 11.39, 9.44, 4.34, 3.80%이었으며, 300 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 15.08, 9.44, 10.85, 9.54%이었으며, 400 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 15.73, 8.03, 9.87, 8.35%를 나타냈다. 일반 용매추출물의 경우 정제수를 이용한 추출물의 활성은 36.73%, 주정을 이용한 추출물의 활성은 70.53%를 나타내(Fig. 5), 겨우살이 추출물은 일반용매를 이용한 추출물이 초임계를 이용한 추출물보다 높은 전자공여능을 보였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD(Superoxide dismutase)는 산패로 인하여 형성된 세포에 해로운 환원산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하고 catalase는 SOD에 의해 생성된 H_2O_2 를 무해한 물 분자와 산소 분자로 전환시키는 역할을 하는 효소이다. 이번 실험에서는 생체내의 항산화 방어기구 중 효소적 방어체계의 하나로서 superoxide radical을 환원시켜서 산소독으로부터 생체를 보호하는 super-

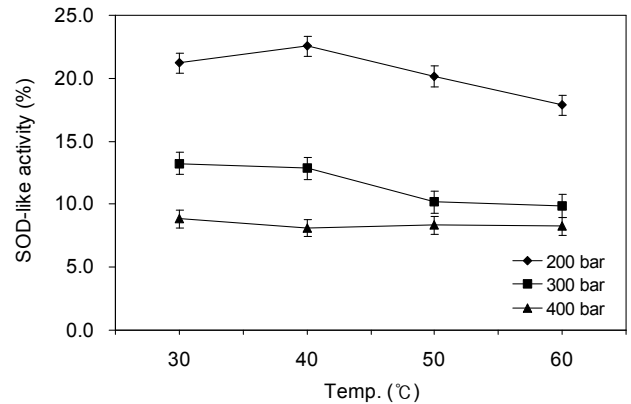


Fig. 3. SOD-like activity of *Viscum album* by supercritical carbon dioxide. ◆: 200 bar, ■: 300 bar, ▲: 400 bar. Values are average of 3 replications.

oxide radical 소거활성을 pyrogallol 자동산화로 생성되는 superoxide anion radical 소거 여부로 확인하였다(25,26).

겨우살이 초임계 추출물의 SOD 유사활성은 Fig. 3과 같다. 각 추출물의 농도를 1 mg/mL로 처리하였을 때 200 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 21.23, 22.54, 20.15, 17.86%이었으며, 300 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 13.24, 12.85, 10.16, 9.85%이었으며, 400 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 활성은 8.85, 8.12, 8.32, 8.25%를 나타냈다. 일반 용매추출물의 경우 정제수를 이용한 추출물의 활성은 7.85%, 주정을 이용한 추출물의 활성은 6.12%를 나타내(Fig. 5), 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물이 일반용매를 이용한 추출물보다 2~3배 높게 나타났다. 특히, Choi 등(27)이 보고한 식품의약품안전청에서 인정한 면역력 증강 효과가 있는 홍삼 뿌리 주정 추출물의 20.2%와 유사한 활성을 나타낸 결과는 초임계 겨우살이 추출물이 우수한 SOD 유사활성을 보여주는 결과라 할 수 있다.

총 폴리페놀 함량

식물체에 함유되어 있는 페놀성 화합물들은 항돌연변이 원성, 콜레스테롤 저하작용, 정장작용, 항암 및 항산화작용 등의 다양한 항산화 생리활성 기능을 가지고 있는데 이것은 분자 내 phenolic hydroxyl기가 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질이 있어 이러한 생리활성 기능을 나타내는 주체로 인정되고 있다고 알려져 있다(28). 특히 항산화 작용과 관련하여 최근 생체 내에서의 산소 free radical 반응이 생체조직의 노화나 질병과 관련이 있으며 페놀성물질의 hydroxyl group은 유지의 유리기 수용체로서 유지 산패의 초기 단계에 생성된 유리기들이 안정된 화합물을 형성하도록 하여 산화억제 작용을 한다(29).

폴리페놀 함량은 카테킨을 표준물질로 10~500 µg/mL 농도 범위에서 표준곡선을 작성하여 이를 환산 정량하였다. 200 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 폴리페놀 함량은 10.32, 8.50, 17.57, 11.64 wt%이었으며, 300 bar, 30, 40, 50, 60°C

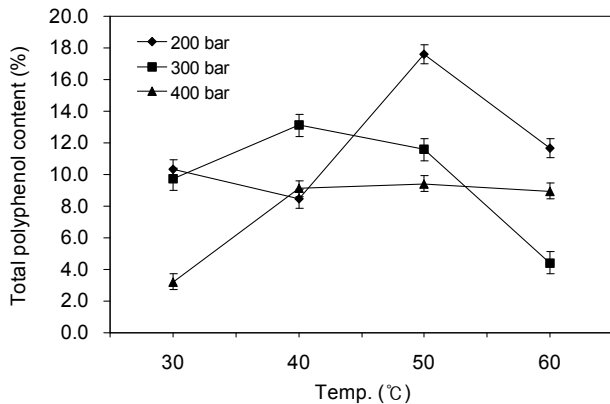


Fig. 4. Total polyphenol content of *Viscum album* by supercritical carbon dioxide. ◆: 200 bar, ■: 300 bar, ▲: 400 bar. Values are average of 3 replications.

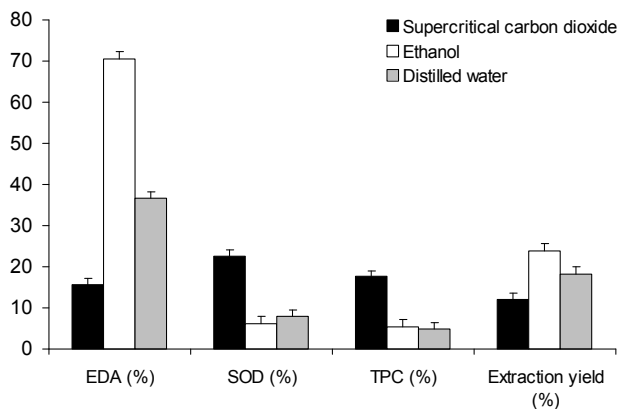


Fig. 5. Comparative of the physiological activities of *Viscum album* extracts according to the extraction method. ■: supercritical carbon dioxide, □: ethanol, ▨: distilled water. Values are average of 3 or 5 replications.

추출물의 함량은 9.71, 13.11, 11.57, 4.43 wt%이었으며, 400 bar, 30, 40, 50, 60°C 추출물의 함량은 3.21, 9.11, 9.43, 8.96 wt%를 나타냈다(Fig. 4). 일반 용매추출물의 경우 정제수를 이용한 추출물의 폴리페놀 함량은 4.79 wt%, 주정을 이용한 추출물의 함량은 5.46 wt%를 나타내(Fig. 5) 겨우살이의 경우 초임계를 이용한 추출물이 일반용매 추출물보다 약 3배 정도 높게 나타났으며, 이는 Kim 등(30)이 보고한 음양곽, 칩, 오가피, 해동피 등의 한약재 열수 추출물의 5.98~8.12 wt%보다 높은 결과라 할 수 있다. 전자공여능, SOD 유사활성 등의 항산화 활성이 폴리페놀 함량과 관련이 있다는 것은 이미 여러 연구들을 통해 밝혀졌다. 그러나 겨우살이 추출물의 경우 Lee(31)가 보고한 구릿대 잎 추출물의 가압열수 추출물이 환류 에탄올 추출물 보다 총 폴리페놀 함량은 높았으나, 전자공여능은 낮게 나온 결과와 유사하게 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물이 일반 용매추출물보다 많은 폴리페놀을 함유하였음에도 전자공여능이 낮게 나온 원인(Fig. 5)에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단되며, 상기의 결과들을 종합해 볼 때 SOD 유사활성과 전자공여능, 총

폴리페놀 함량은 200 bar의 조건이 우수하였으나 산업화를 위한 경제성 등을 검토한 결과, 추출수율이 가장 높았던 300 bar, 40°C의 조건이 최적의 추출 조건으로 판단된다.

요 약

소수성 저분자 물질의 추출에 효과적이며, 인체에 무해하고 친환경적 추출법인 초임계 이산화탄소를 이용하여 한국산 겨우살이를 추출한 후 추출물의 추출수율, 전자공여능 등의 항산화활성 평가 및 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 실험 결과 초임계 이산화탄소를 이용한 추출수율은 300 bar, 40°C에서 12.16%, 정제수와 주정을 이용한 추출물은 18.32, 23.84%로 초임계 추출물보다 높은 추출수율을 보였다. 전자공여능은 초임계 이산화탄소 추출물이 15.73%(400 bar, 30°C), 정제수와 주정을 이용한 추출물이 36.73, 70.53%로 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물의 활성은 일반 용매추출법으로부터 얻어진 추출물들에 비해 EDA 활성이 낮은 편이었다. 그러나 SOD 유사활성은 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물이 22.54%(200 bar, 40°C), 정제수와 주정을 이용한 추출물이 7.85, 6.12%로 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물이 일반용매를 이용한 추출물보다 우수한 활성을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 초임계 이산화탄소 추출물이 17.57 wt%(200 bar, 50°C), 정제수와 주정을 이용한 추출물이 4.79와 5.46 wt%로 초임계 이산화탄소를 이용한 추출물이 일반용매 추출물보다 높은 함량을 보였다. 결론적으로 초임계 이산화탄소를 이용한 겨우살이 추출물의 전자공여능은 높지 않지만 우수한 SOD 유사활성과 총 폴리페놀 함량이 풍부하여 항산화 건강기능성 식품의 가능성을 갖는 것으로 사료되었다.

문 헌

- Sawyer DT, Valentine JS. 1981. How super is superoxide?. *ACC Chem Res* 14: 393-400.
- Fridorich I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 247: 1-11.
- Evance CR, Halliwell B, Lunt GG. 1995. *Free radicals and oxidative stress: environment, drugs and food additives*. Portland press, London, England. p 1-31.
- Ames BN. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens oxygen radical and degenerative diseases. *Science* 221: 1256-1264.
- Kuttan G, Kuttan R. 1992. Immunomodulatory activity of a peptide isolated from *Viscum album* extract (NSC 635089). *Immunol Invest* 21: 285-296.
- Hajto T, Hostanska K, Frei K, Rordorf C, Gabius HJ. 1990. Increased secretion of tumor necrosis factor α , interleukin 1, and interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to β -galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res* 50: 3322-3326.
- Bussing A, Suzart K, Schweizer K. 1997. Differences in the apoptosis-inducing properties of *Viscum album* L. extract. *Anti-Cancer Drug* 8(Suppl 1): S9-14.

8. Yoon TJ, Yoo YC, Choi OB, Do MS, Kang TB, Lee SW, Azuma I, Kim JB. 1995. Inhibitory effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on tumour angiogenesis and metastasis of haematogenous and non-haematogenous tumor cells in mice. *Cancer Lett* 97: 83-91.
9. Fischer S, Scheffler A, Kabelitz D. 1997. Stimulation of the specific immune system by mistletoe extracts. *Anti-Cancer Drug* 8(Suppl 1): S33-37.
10. Pae HO, Seo WG, Shin M, Lee HS, Lee HS, Kim SB, Chung HT. 2000. Heat shock treatment protects human HL-60 cells from apoptosis induced by lectin II isolated from Korean mistletoe, *Viscum album* var. *coloratum*. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 22: 237-252.
11. Ribereau-Gayon G, Jung ML, Di Scala D, Beck JP. 1986. Comparison of the effects of fermented and unfermented mistletoe preparations on cultured tumor cell. *Oncology* 43(Suppl 1): 35-41.
12. Holtskog R, Sandvig K, Olsnes S. 1988. Characterization of a toxic lectin in Iscador, a mistletoe preparation with alleged cancerostatic properties. *Oncology* 45: 172-179.
13. Pfuller U. 2000. Chemical constituents of European mistletoe (*Viscum album* L.). *Med Aromatic Plants-Industrial Profiles* 16: 101-122.
14. Ohta N, Tagishita K. 1970. Isolation and structure of new flavonoids, flavoyadorinin A, flavoyadorinin B and homo-flavoyadorinin B, in the leaves of *Viscum album* var. *coloratum* epiphyting to *pyrus communis*. *Agric Biol Chem* 34: 900-907.
15. Fukunaga T, Nishiya K, Kajikawa I, Takeya K, Itokawa H. 1989. Studies on the constituents of Japanese mistletoes from different host trees and their antimicrobial and hypotensive properties. *Chem Pharm Bull* 37: 1543-1546.
16. Khwaja TA, Varven JC, Pentecost S, Pande H. 1980. Isolation of biologically active alkaloids from Korean mistletoe *Viscum album coloratum*. *Experientia* 36: 599-600.
17. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
18. Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
19. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
20. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
21. Seo YH, Kim IJ, Lee AS, Min HK. 2001. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea mays* L.) *Korean J Food Sci Technol* 33: 161-165.
22. Park SJ, Oh DH. 2003. Free radical scavenging effect of seed and skin extracts of black olympia grape (*Vitis labruscana* L.). *Korean J Food Sci Technol* 35: 121-124.
23. Cha HS, Park MS, Park KM. 2001. Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. *Korean J Food Sci Technol* 33: 409-415.
24. Lee MJ, Moon GS. 2003. Antioxidative effects of Korean bamboo tree, wang-dae, som-dae, maengjong-juk and o-juk. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1226-1232.
25. Moon YG, Choi KS, Lee KJ, Kim KY, Heo MS. 2006. Screening of antioxidative and antibacterial activity from hot water extracts of indigenous plants, Jeju-Island. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 164-169.
26. Trush MA, Mimnaugh EG, Gram TE. 1982. Activation of pharmacologic agents to radical intermediates: Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem Pharmacol* 31: 3335-3346.
27. Choi ME, Jeon BK, Kim DS, Mun YJ, Woo WH. 2009. A study on application for beauty food of mixture of Korean red ginseng and *Fagopyrum esculentum*. *Korean J Oriental Medical Prescription* 17: 153-162.
28. Jung HK. 2004. Investigation of the physiological activity of grapes and development of the functional processed food by use of grapes containing antioxidant ingredients. The Ministry of Agriculture and Forestry (201016-3). p 63.
29. Lee SH, Ro JS, Lee KS, Ahn YJ, Kang SJ, Hwang BY, Park WY, Ahn BT. 1996. The phenolic components of *Sapium japonicum*. *Yakhak Hoeji* 40: 183-192.
30. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
31. Lee YS. 2007. Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. *Korean J Food Preserv* 14: 78-86.

(2009년 10월 22일 접수; 2009년 11월 10일 채택)