

잔디 예지물의 생리활성 탐색

이아영¹ · 왕샤오닝¹ · 이동구² · 태현숙³ · 조은주^{1*} · 이상현^{2*}

¹부산대학교 식품영양학과, ²중앙대학교 식물시스템과학과, ³제일모직(주) 식물환경연구소

Screening of Biological Activities of Grass Clippings from Turfgrass

Ah Young Lee¹, Xiaoning Wang¹, Dong Gu Lee², Hyun Sook Tae³, Eun Ju Cho^{1*} and Sanghyun Lee^{2*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Department of Integrative Plant Science, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

³Plant & Environment Research Center, Cheil Industries Inc., Gunpo 435-737, Korea

Abstract – This study was carried out to investigate the biological activities of grass clippings from turfgrass including *Zoysia japonica* (TG-1), *Zoysia matella* (TG-2), *Agrostis palustris* (TG-3), and *Poa pratensis* (TG-4). The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity was relatively higher in TG-1 and -2. Especially, TG-1 exerted the strongest hydroxyl radical scavenging effect, showing 90.40% at the concentration of 100 µg/ml. In addition, TG-1 inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. TG-1 also showed the highest inhibitory effect of AGS human gastric adenocarcinoma cell growth and nitric oxide production against lipopolysaccharide in RAW 264.7 macrophage cells. In conclusion, among the TG extracts, TG-1 has anti-oxidative, anti-microbial, anti-cancer and anti-inflammatory effect, indicating that TG-1 may be the potential source of functional food.

Key words – Turfgrass, DPPH, Nitric oxide, Anti-cancer, Anti-inflammatory effect

현대인들의 서구화된 식생활 변화로 암, 심장질환, 동맥경화, 고혈압 등과 같은 각종 만성질환이 증가하고 있으며, 이들은 superoxide anion radical(O₂⁻), hydroxyl radical (-OH), singlet oxygen(¹O₂)과 같은 활성 산소의 과잉생성에 기인한다고 알려져 있다.¹⁾ 이러한 질병과 노화를 억제하기 위한 건강 기능성 식품에 대한 관심이 향상되면서 최근 생리활성 성분을 함유한 천연식품 소재에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 식물에 존재하는 비타민, 무기질, 플라보노이드, 카로티노이드 등의 다양한 폴리페놀 물질들은 산화적 스트레스를 막는 역할을 하여 노화, 암, 동맥경화, 심장질환과 같은 각종 질환을 예방하거나 지연시키고 항산화, 항염증 및 항암 효과를 나타낸다고 알려져 있다.^{2,3)} Butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene, tertiarybutyl hydroxyquinone와 같은 합성 항산화제의 경우 천연 항산화제에 비해 효과가 월등하지만 생체 효소, 지방의 변이 및 독성으로 인한 부작용을 유발할 수 있다는 보고로 인하여 보다 안전하고 독성이 없는 식물성 식품을 섭취하는 것이 만

성 질환의 예방과 치료에 도움이 되는 것으로 밝혀졌다.⁴⁾

한국잔디는 화본과(Gramineae family)의 *Zoysia*속(*Zoysia* genus)에 속하는 잔디 종의 하나이며, 한국, 필리핀, 태국을 포함한 아시아에 폭넓게 분포하고 있다.⁵⁾ 세계적으로 한국 잔디류에는 10개 종이 있으며 우리나라에 자생하는 한국 잔디 종은 들잔디, 비단잔디, 금잔디, 깃잔디 등이 있고 지역에 따라 많은 변이를 나타내고 있다.^{6,7)} 분류학적으로 한국 잔디는 여름에 생육이 왕성하고 늦가을에 정지되어 봄까지 생육정지 상태로 휴면기에 들어가는 난지형이 대부분이고, 서양잔디는 봄과 가을에 왕성하게 자라며 겨울철에도 약한 생장을 계속하는 한지형이 주를 이루고 있다.⁸⁾ 영년생 초종인 들잔디(중지, *Zoysia japonica*; TG-1)가 대표적인 난지형 잔디이며, 내서성과 내건성이 강하고 내한성과 생장력이 좋으며 노화 속도가 느리다고 보고되고 있다. 반면 세엽형인 금잔디(고려지, *Zoysia matella*; TG-2)는 내한성과 생장력이 약한 난지형 잔디 종의 하나이다.⁹⁾ 한국잔디는 도로나 공원 시설 등에 미적인 기능으로 이용되는 것 외에도 최근에는 소음방지, 공해방지 등의 기능적인 면도 제공하여 이에 따른 한국잔디의 이용범위가 더욱 다양해지고 재배면적도 증가하고 있다.¹⁰⁾ 반면, 대표적인 한지형 잔디인 크리핑 벤트

*교신저자(E-mail): slee@cau.ac.kr, ejcho@pusan.ac.kr
(Tel): +82-31-670-4688, +82-51-510-2837

그래스(*Agrostis palustris*; TG-3)와 켄터키 블루그래스(*Poa pratensis*; TG-4)는 대부분 유럽이 원산지이며, 연중 녹색도 지속기간이 길고 조성하기가 손쉬워 고급정원과 골프장에 많이 이용되고 있다.¹¹⁾ TG-3는 회복력이 강하고 내한성이 강해 늦겨울까지 녹색을 유지하며 배수 능력이 좋은 토양에서는 잘 자라지만, 고결화된 토양에서는 생육이 불량하여 품질유지가 어려운 단점이¹²⁻¹⁴⁾ 있는 반면, TG-4는 봄, 가을 철 잔디 엽색 및 품질이 양호하고, 생육속도가 빨라 골프장 및 경기장에 광범위하게 이용되고 있는 고품질 잔디이다.¹⁵⁾ 그러나 한지형 잔디는 starch와 같은 다당류를 저장하는 한국잔디에 비해 fructose 등의 단당류를 저장양분으로 쓰고 있기 때문에 여러 종류의 잔디 병의 발생 빈도가 높다는 보고가 있다.¹⁶⁾ 미국의 Youngner(1961)은 한국 잔디류의 생육과 개화에 미치는 온도, 광도에 관한 연구를 보고하였으며, 일본에서는 한국 잔디류 3종의 비교 및 형태학적 특성을 발표하는 등 한국 잔디류의 우수성과 이용 가치가 널리 인정되어 여러 대학 및 공공 연구기관에서 활발한 육종이 이루어지고 있다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 지금까지 잔디의 유전형질에 관한 연구나 형태적 특성에 관한 보고는 많이 되어 있으나, 생리활성에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다. 이러한 잔디들의 생리활성을 나타내는 과학적 근거가 뒷받침 된다면 단순한 경관적 가치 이상으로 고부가가치를 인정받을 수 있게 될 것이며, 차후 이들의 대량 재배를 통하여 농가 소득이 증가할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 가장 널리 사용되고 있는 잔디 4종의 예지물을 수집하여 이들의 항산화, 항균, 항암 및 항염증 활성 효과를 비교 탐색하여 기능성 소재로서의 이용 가능성을 높이기 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험을 위해 2013년 6월 25일~7월 15일에 국내 3개의 골프장으로부터 잔디 예지물을 제공받았다. 한국잔디 증지 예지물은 경기 남부지역 한 골프장의 페어웨이 깎기 작업 직후 수거하여 실내에서 5~7일 건조한 후 분석에 사용하였다. 고려지 예지물은 경남 소재 골프장 페어웨이 깎기 작업 후 제공받았다. 크리핑 벤트그래스와 켄터키 블루그래스 예지물은 경기 중남부에 있는 골프장의 그린과 티잉그라운드 깎기 후 같은 방법으로 채취하여 분석에 사용하였으며 모든 샘플은 시비와 약제 살포 3~5일 이후 채취되었다. 각 잔디는 제일모직(주) 식물환경연구소 태현숙 박사님의 식물학적 동정을 받았다.

추출물의 조제 - 건조된 4종의 잔디 예지물 각 10 g을 메탄올로 환류냉각 추출 후 진공 농축하여 *Zoysia japonica* (1.25 g), *Zoysia matella*(2.1 g), *Agrostis palustris*(1.31 g)과 *Poa pratensis*(1.39 g)의 메탄올 추출물을 각각 얻어 실험에

사용 하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) Radical 소거능 측정 - Ethanol에 녹인 시료 100 μ l와 60 μ M DPPH 용액 100 μ l를 96-well plate에 혼합하여 30분간 실온에 방치시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 free radical 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다.²⁰⁾

Hydroxyl Radical(\cdot OH) 소거능 측정 - Fenton 반응에 따라 10 mM $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ -EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 시료를 농도별로 처리한 후, 10 mM의 H_2O_2 를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid와 1.0% thiobarbituric acid solution을 각각 첨가하여 20분간 끓이고 식힌 후 490 nm에서 흡광도를 측정 하였다.²¹⁾

세포 종류 및 시약 - AGS human gastric adenocarcinoma cell과 RAW 264.7 macrophage cell은 한국 세포주 은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였고, 배양을 위한 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)과 Roswell Park Memorial Institute 1640(RPMI-1640), fetal bovine serum(FBS), trypsin EDTA 용액은 WelGENE(Gunsan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 항염증 활성 측정을 위한 lipopolysaccharide(LPS), Griess reagent, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)는 Sigma Chemical Co.(Saint Louis, Missouri, USA)로부터 구입 하였다.

세포 배양 - AGS cell과 RAW 264.7 cell은 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 RPMI와 DMEM을 각각 사용하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 1~2일에 한번 배양액을 바꾸어 주면서 배양하여 세포분화가 최대에 도달하였을 때 phosphate buffered saline으로 세포를 세척한 후 0.05% trypsin과 0.02% EDTA 혼합액으로 부착된 세포를 분리한 뒤 원심분리 하여 세포를 모은 다음 세포와 배지를 잘 혼합하여 계대 배양 하였다.

Cell Viability 측정 - AGS cell과 RAW 264.7 cell이 confluence상태가 되면 24-well plate에 5×10^4 cells/ml로 seeding하여 2~4시간 37°C에서 배양한 후 세포가 잘 부착 되면, AGS cell은 TG 추출물 처리 후 48시간을 배양한다. RAW 264.7 cell은 TG 추출물을 24시간 처리한 후 내독소인 LPS를 처리하였다. 24시간 뒤, 50 μ g/ml의 MTT solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 4시간 동안 재배양한 후 생성된 formazan 결정을 빛을 차단한 상태에서 DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정 하였다.²²⁾

NO 생성 측정 - NO 생성량은 Griess reagent를 이용하여 세포 배양 상층액에 존재하는 nitrite의 양을 측정하여 이를 근거로 NO의 생성을 확인하였다. RAW 264.7 cell을 24-

well plate에 5×10^4 cells/ml로 seeding한 뒤 TG 분획물을 처리하여 24시간 배양하였다. 그 후 내독소인 LPS를 24시간 처리한 뒤 상층액 100 μ l와 Griess reagent 100 μ l의 동량을 섞어 540 nm에서 흡광도를 측정 하였다.

항균 활성 측정 - *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*에 대한 TG 추출물의 항균활성을 디스크 확산법을 이용하여 측정하였다. Trypticase soy agar 와 Brucella agar 배지에 각각 *E. coli*, *S. aureus*와 *H. pylori* 균액 100 μ l를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper(ϕ 8 mm, Advantec, Japan)를 올리고 시료를 disc paper에 흡수시킨 후, 37°C의 CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 다음, 디스크 주위의 생육 저해환(clear zone) 생성 유무를 확인하였다.²³⁾

통계분석 - 대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 평균 \pm 표준편차로 나타내었고, 각 실험 결과로부터 ANOVA(analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple test를 이용하여 각 군의 평균 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 잔디 예지물 4종에 대한 항산화, 항균, 항암, 항염증 활성을 측정하여 천연 기능성 소재로서의 사용 가능성을 검토하였다. DPPH는 안정한 radical을 가지고 있는 수용성 물질로, 항산화능이 있는 물질에게 전자를 내어 주면서 radical이 소멸되고 고유의 짙은 자색이 없어진다. 비교적 안정적이고 간단하며 재현성이 높아 인체 내의 활성 산소에 의한 노화를 억제하는 척도로 널리 사용되는 radical 소거능 측정방법으로 알려져 있다.²⁴⁾ 4가지 TG 추출물을 대상으로 항산화 활성을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거 효과를 살펴본 결과, 100 μ g/ml의 처리 농도에서 TG-1과 -2는 30%이상의 DPPH radical 소거 효과를 보였고, 그 중 TG-2가 39.41%로 가장 높은 소거효과를 나타내었다(Table I). 유해산소는 DNA에 변이를 일으키는 것 외에도 스트레스 유전인자를 발현시켜 종양의 성장과 진행을 유도하는데,

Table I. DPPH radical scavenging activity of turfgrass

Sample (100 μ g/ml)	Scavenging activity (%)
TG-1	35.13 \pm 0.46 ^b
TG-2	39.41 \pm 0.58 ^a
TG-3	18.22 \pm 0.58 ^c
TG-4	17.29 \pm 0.84 ^c
¹⁾ Ascorbic acid (IC ₅₀ , μ g/ml)	2.17 \pm 0.11

¹⁾Ascorbic acid was used as a positive control.

Values are mean \pm SD.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table II. Hydroxyl radical scavenging activity of turfgrass

Sample (100 μ g/ml)	Scavenging activity (%)
TG-1	90.40 \pm 0.25 ^a
TG-2	89.26 \pm 0.24 ^b
TG-3	87.65 \pm 0.25 ^c
TG-4	83.68 \pm 0.27 ^d
¹⁾ Ascorbic acid (IC ₅₀ , μ g/ml)	0.04 \pm 0.00

¹⁾Ascorbic acid was used as a positive control.

Values are mean \pm SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

특히 ·OH radical은 활성 산소종 중에서 가장 독성이 강하고 반응성이 높아 세포와 조직을 쉽게 공격 한다.²⁵⁾ TG 추출물을 100 μ g/ml의 농도로 처리하여 ·OH 소거 효과를 살펴본 결과(Table II), 모두 80%이상의 높은 ·OH 소거능을 나타내었고, 특히 TG-1은 90.40%의 가장 높은 소거 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 Xu 등(2013)의 연구에서 Zoysia grass가 주요 항산화 효소인 superoxide dismutase, peroxidase와 catalase의 활성을 증가시켜 산화적 스트레스부터 보호하는 작용을 한다는 보고와 일치하였으며,²⁶⁾ TG-1이 TG-3보다 지질과산화 억제 및 항산화 효소 활성이 높다는 보고와 비슷한 결과를 나타내었다.^{27,28)} 따라서 TG-1과 TG-2가 다른 추출물에 비해 상대적으로 높은 radical 소거능을 보이는 것으로 나타나 항산화 작용에 기여하는 물질이 존재하는 것으로 생각된다.

Table III에서는 15 μ g/30 μ l와 30 μ g/30 μ l의 농도로 4종의 TG 추출물을 24시간 동안 처리하여 *E. coli*, *S. aureus*와 *H. pylori*에 대한 항균활성을 측정된 결과를 나타내었다. Disc 확산법을 통해 그람 음성균 중 하나인 *E. coli*에 대한 4종의 TG 추출물을 처리하여 나타난 생육 억제환은 15 μ g/30 μ l 농도에서 모두 11 mm를 나타내었고, 30 μ g/30 μ l 농도에서는 12 mm의 생육 억제환을 나타내어 TG는 *E. coli*의 생육을 억제하는 항균 효과가 있는 것을 알 수 있었다. 반면, 대표적 그람 양성균인 *S. aureus*에 대한 항균활성을 측정된 결과, 15 μ g/30 μ l 농도에서 TG-4가 10 mm의 억제환을 나타냈으며, 30 μ g/30 μ l에서 TG-1, TG-2와 TG-4가 각각 13, 12와 12 mm의 생육 억제환을 나타내어 TG-1과 TG-4는 *S. aureus*에 대한 항균활성이 상대적으로 높은 것을 알 수 있었다. 위염 및 위암 발생의 원인으로 잘 알려진 *H. pylori*의 항균활성을 측정된 결과, 4가지의 TG 추출물 모두 15 μ g/30 μ l 농도에서는 효과가 나타나지 않았으나 30 μ g/30 μ l의 농도에서 TG-1은 9 mm의 생육 억제환을 나타내어 *H. pylori*에 대한 항균활성을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 TG-1은 상대적으로 *E. coli*, *S. aureus*와 *H. pylori*에 대한 항균 효과가 높은 것을 알 수 있었으며, 이는 식품에

Table III. Anti-microbial activity of turfgrass

Sample	Concentration ($\mu\text{g}/30\ \mu\text{l}$)	Inhibition zone (mm)		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>H. pylori</i>
TG-1	15	11	- ¹⁾	-
	30	12	13	9
TG-2	15	11	-	-
	30	12	12	-
TG-3	15	11	-	-
	30	12	-	-
TG-4	15	11	10	-
	30	12	12	-
²⁾ Penicillin	15	16	16	18

¹⁾-: no growth

²⁾Penicillin was used as a positive control.

대한 항균 소재로서 유용하게 활용될 가능성을 가진다고 판단된다.

AGS 위암 세포에서 TG 추출물의 세포 증식 억제 효과를 MTT assay를 통하여 검토하였다. MTT는 살아있는 세포에서 물에 녹지 않는 자주색의 formazan crystal로 환원되는데, 이 crystal을 DMSO로 녹여 생성된 양을 흡광도로 측정하는 방법으로, 암 기초연구에서 널리 사용되는 방법 중의 하나이다.²⁹⁾ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 TG 추출물을 위암 세포에 처리하여 증식 억제 활성을 살펴본 결과, 4개의 TG 추출물 중 TG-4는 15.01%의 상대적으로 낮은 위암 세포 증식 억제 활성을 나타낸 반면 TG-1은 35.21%로 2배 이상의 위암 세포 성장 억제율을 나타내었으며(Table IV), 앞서 언급한 *H. pylori*균에 대한 항균활성도 가장 높아 TG-1은 항암활성 물질이 존재할 것으로 추정 되어진다.

대식세포(macrophage)는 외부자극으로부터 항상성을 유지하는 것으로 알려져 있으며 내독소로 알려져 있는 LPS가 대식세포를 자극하게 되면 inducible nitric oxide synthase가 L-arginine으로부터 발현되어 nitric oxide(NO)를 생성한다.³⁰⁾ 또한, 활성화된 대식세포는 tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, interleukin-1 β 와 같은 pro-inflammatory cytokines의 증가를 촉진시켜 염증매개물질인 NO와 prostaglandin 등을 분비하고,³¹⁾ 과다의 NO는 세포 독성 및 조직 손상을 일으켜 염증을 심화시킨다.³²⁾ 따라서 본 연구에서는 RAW 264.7 macrophage cell에 LPS를 처리한 후 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 TG 추출물을 처리하여 세포 생존율과 NO 생성율을 통해 염증 억제효과를 살펴보았다. Table V에 나타난 바와 같이 LPS가 내독소로 작용하여 모든 군에서 세포 생존율에는 영향을 미치지 않았으나 control군 100% 대비 normal군에서 35.50%의 NO 생성율이 나타난 반면, 4가지의 TG 추출물을 처리한 군에서는 50-59%의 NO 생성율을 나타내어

Table IV. Anti-cancer effect of turfgrass

Sample (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	AGS cell growth inhibition rate (%)
TG-1	35.21 \pm 0.40 ^a
TG-2	17.98 \pm 1.08 ^c
TG-3	21.44 \pm 0.09 ^b
TG-4	15.01 \pm 1.49 ^d
¹⁾ 5-FU	42.13 \pm 0.41

¹⁾5-FU (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was used as a positive control.

Values are mean \pm SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table V. Anti-inflammatory effect of turfgrass

Sample (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	NO generation (%)	Cell viability (%)
TG-1	50.67 \pm 0.29 ^c	91.91 \pm 0.78
TG-2	58.88 \pm 0.63 ^b	99.31 \pm 2.25
TG-3	57.25 \pm 3.48 ^b	95.26 \pm 1.41
TG-4	59.62 \pm 0.63 ^b	96.64 \pm 1.84
Normal	35.50 \pm 1.15 ^d	100.00 \pm 1.11
Control	100.00 \pm 0.75 ^a	99.01 \pm 2.01
¹⁾ AMT	57.59 \pm 1.44	106.05 \pm 1.86

¹⁾AMT (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was used as a positive control.

Values are mean \pm SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

TG 추출물은 LPS에 대한 NO의 생성을 억제하는 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다. 특히, TG-1은 50.67%의 가장 낮은 NO 생성율을 보여 상대적으로 염증 반응 억제효과가 높은 것을 알 수 있었다.

잔디 예지물의 항산화, 항균, 항암 및 항염증 활성이 우수한 것은 잔디 추출물에 다양한 폴리페놀 및 phytochemical 이 존재하기 때문인 것으로 생각되며,³³⁻³⁵⁾ 한국 잔디의 기능성 소재로서의 이용도가 크게 증가할 것으로 기대된다.

결 론

본 연구에서는 국내·외 잔디 예지물의 항산화, 항균, 항암 및 항염증 활성을 *in vitro*와 cellular system을 통하여 알아보았다. 4가지 TG 추출물 중에서 한국잔디류의 들잔디(TG-1)는 radical 소거 능력이 우수하고, *E. coli*, *S. aureus* 와 *H. pylori*에 대한 생육 억제환이 가장 크게 나타났다. 또한, AGS cell에 대한 세포 성장 억제율이 가장 높았으며, RAW 264.7 cell에서 LPS에 대한 NO 생성율이 가장 낮아 다른 종류의 잔디보다 생리활성이 더 우수하다고 판단된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ010156022014)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 잔디 예지물은 제일모직(주) 식물환경연구소의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- McCord, J. M. (1987) Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed. Proc.* **46**: 2402-2406
- Stahl, W. and Sies, H. (2005) Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim. Biophys. Acta.* **1740**: 101-107.
- Scalbert, A. and Williamson, G. (2000) Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* **130**: 20735-20855.
- Barene, A. L. (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**: 59-63.
- Engelke, M. C., Murray, J. J. and Yeam, D. Y. (1983) Distribution, collection and use of *Zoysia* grass in the Far East, Part . Agronomy Abstract. pp. 123-125.
- Choi, J. S. (1997) Breeding of zoysia in Korea. International Symposium of *Zoysia* Ggrass. Breeding. Dankook University. Korea. pp. 15-18.
- Choi, J. S., Ahn, B. J. and Yang, G. M. (1997) Distribution of native *Zoysia* grasses (*Zoysia* spp.) in the South and West coastal regions of Korea and classification using morphological characteristics. *J. Korean Soc. Hort.* **38**: 399-407.
- Jang, Y. S., Heo, S. I., Choi, S. R. and Wang, M. H. (2005) Effect of various pretreatment on germination in *Zoysia Japonica*. *Kor. Turfgrass Sci.* **19**: 125-130.
- Dhandapani, M., Hong, S., Aswath, C. R. and Kim, D. H. (2008) Regeneration of *Zoysia* grass (*Zoysia matrella* L. Merr.) cv. Konhee from young inflorescences and stem nodes. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **44**: 8-13.
- Choi, J. S. and Yang, G. M. (2006) Sod production in South Korea. *Kor. Turfgrass Sci.* **20**: 237-251.
- Kwon, C. H. and Kim, S. J. (1998) Comparative study of cool-season turfgrass varieties introduced. *Kor. Turfgrass Sci.* **12**:215-224.
- Lee, J. P., Kim, S. J., Seo, H. Y., Han, I. S., Lee, S. J., Kim, T. J. and Kim, D. H. (2001) The effect of shade net on summer stress of cool-season turfgrass. *Kor. J. Turfgrass Sci.* **15**: 51-64.
- Musser, H. B. (1948) Effects of soil acidity and available phosphorus on population changes in mixed Kentucky bluegrass-bent Turf. *J. Am. Soc. Agron.* **40**: 614-620.
- Wallner, S. J., Becwar, M. R. and Butler, J. D. (1982) Measurement of turfgrass heat tolerance *in vitro*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **107**: 608-613.
- Kim, K. N. Park, W. K. and Nam, S. Y. (2003) Comparison of establishment vigor, uniformity, rooting potential, and turf quality of sods of Kentucky bluegrass, perennial ryegrass, tall fescue and cool-season grass mixtures grown in sand soil. *Kor. Turfgrass Sci.* **17**: 129-146.
- Christians, N. E. (1998) Fundamentals of turfgrass management. Ann. Arbor. Press, Inc.
- Youngner, V. B. (1961) Growth and flowering of *Zoysia* species in response to temperatures, photoperiods, and light intensities. *Crop Sci.* **1**: 91-93.
- Yeam, D. Y., Murray, J. J. and Bauchan, G. R. (1986) Classification of *Zoysia* grass using morphological and isozyme traits. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **4**: 375.
- Honda, H. (1971) Comparative morphological studies of representative three species *Zoysia* lawn grasses. The transactions of faculty of horticulture, Chiba Univ. No. 5.
- Hatano, T., Edamaysu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y. Yasuhara, T., Yoshida, T. and Okuda, T. (1989) Effect of the interaction of tannins with co-existing substances, VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1,1-diphenyle-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 2016-2021.
- Chung, S. K., Osawa, T. and Kawakishi, S. (1997) Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61**: 118-123.
- Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immunol. Methods* **65**: 55-63.
- Davidson, P. M. and Parish, M. E. (1989) Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* **43**: 148-155.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **28**: 25-30.
- Halliwell, B. and Aruoma, O. I. (1991) DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* **281**: 9-19.
- Xu, C., Li, X. and Zhang, L. (2013) The effect of calcium chloride on growth, photosynthesis, and antioxidant responses of *Zoysia japonica* under drought conditions. *PLoS One.* **8**: e68214.
- Kim, D. H., Lee, B. R., Lee, J. S., Li, M. and Kim, T. H. (2006) Comparative study on antioxidant enzymes and lipid peroxidation related low temperature tolerance in overwintering *Zoysia* grass and creeping bentgrass. *J. Korean Soc. Grassl. Forage Sci.* **12**: 267-276.
- Chen, Z., Xu S., Li, Y., Xie, S., Fan, L. and Zhang, L. (2012) The effect of different drought stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation on *Zoysia japonica*. *Adv. Mat. Res.* **518-523**: 5489-5492.

29. Scudiero, D. A., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T. H., Currens, M. J., Seniff, D. and Boyd M. R. (1988) Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res.* **48**: 4827-4833.
 30. Wolf, G. (1997) Nitric oxide and nitric oxide synthase: biology, pathology, localization. *Histol. Histopathol.* **12**: 251-281.
 31. Aono, K., Isobe, K., Kiuchi, K., Fan, Z., Ito, M., Takeuchi, A., Miyachi, M., Nakashima, I. and Nimura, Y. (1997) *In vitro* and *in vivo* expression of inducible nitric oxide synthase during experimental endotoxemia: Involvement of other cytokines. *J. Cell. Biochem.* **65**: 349-358.
 32. Vodovotz, Y., Russell, D., Xie, Q. W., Bogdan, C. and Nathan, C. (1995) Vesicle membrane association of nitric oxide synthase in primary mouse macrophage. *J. Immunol.* **154**: 2914-2925.
 33. Toda, S. (2011) Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. *Chinese Med.* **2**: 29-31
 34. Singletary, K. (2000) Diet, natural products and cancer chemoprevention. *J. Nutr.* **130**: 465S-466S
 35. Johnson, A. W., Snook, M. E. and Wiseman, B. R. (2002) Green leaf chemistry of various turfgrasses. *Crop Sci.* **42**: 2004-2010.
- (2015. 7. 8 접수; 2015. 8. 31 심사; 2015. 9. 4 게재확정)