

## 차가버섯 용매별 분획물의 항산화 활성과 Tyrosinase 저해 활성

임도연<sup>1</sup> · 이경인<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>광주여자대학교 교양교직과정부, <sup>2</sup>동신대학교 바이오센터

### Antioxidative Activity and Tyrosinase Inhibition Effect of Fractions from the Extract of *Inonotus obliquus*

Do-Youn Im<sup>1</sup> and Kyoung-In Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Liberal Arts and Teacher Training, Kwangju Women's University, Gwangju 62396, Korea

<sup>2</sup>Bio-center, Dongshin University, Naju 58205, Korea

**Abstract** – This study was conducted to investigate the antioxidative activities and tyrosinase inhibition effects of fractions from the distilled water extract of *Inonotus obliquus*. Moreover, GC-MS based analysis with trimethylsilyl (TMS) derivatization was carried out for active compound in the extract of *I. obliquus*. In DPPH radical scavenging ability, SC<sub>50</sub> values of the ethyl acetate fraction was 0.393 mg/ml as a result of the most effective than other fractions. Meanwhile, aqueous fraction showed higher effect in tyrosinase inhibitory activity. In GC-MS based analysis with TMS derivatization, 7 compounds including syringic acid, vanillic acid and protocatechuic acid were observed in ethyl acetate fraction, and oxalic acid is the main compound in aqueous fraction. As a result, it was confirmed that oxalic acid in aqueous fraction from the distilled water extract of *I. obliquus* was a compound showing tyrosinase inhibition effect.

**Keywords** – *Inonotus obliquus*, Antioxidative activity, Tyrosinase, Trimethylsilyl derivatization, GC-MS

차가버섯(*Inonotus obliquus*)은 주로 자작나무에 기생하여 나무의 영양분을 흡수하는 기생 곰팡이류(parasitic fungus)로 성장하면서 껍질을 뚫고 나와 표면으로 돌출되어 단단 하면서 큰 덩어리를 형성하는 특성을 가진 소나무비늘버섯과(Hymenochaetaceae)에 속하는 버섯이다.

차가버섯은 러시아의 시베리아, 캐나다 북부, 일본의 북해도, 중국과 북한의 일부 지역 등 북위 45° 이상의 지역에서 자생하는 것으로 알려져 있으며, 표면이 검은 덩어리 형태가 일반적으로 다른 버섯류에서 발견되는 특징 중 하나인 갓(pileus)이 존재하지 않는다.<sup>1,2)</sup>

차가버섯은 16세기부터 러시아와 폴란드 등의 국가에서 이미 약용 버섯으로 이용되어 왔으며, 주로 폐결핵이나 간장을 포함한 소화기계 계통의 질환과 심혈관계 질환, 당뇨병 등의 치료에 활용되어 온 것으로 알려져 있다. 이러한 차가버섯의 효과들은 관련된 연구를 통하여 항결핵 활성,<sup>3)</sup> 비장세포 증식능과 cytokine 생성능에 미치는 영향,<sup>4)</sup> 항산화 및 항암효과,<sup>5)</sup> 면역조절에 미치는 영향,<sup>6)</sup> 체중증가 억제 및

지방대사 개선작용<sup>7)</sup> 등이 보고되고 있으며, 추출조건에 따른 면역활성 다당 등 생리활성물질 최적 추출조건 탐색에 관한 연구도 진행되었다.<sup>1)</sup> 또한 피부 미백 활성<sup>8)</sup>과 주름개선 효과,<sup>9)</sup> 세포손상에 대한 항산화효과,<sup>10)</sup> 염증 억제 효과<sup>11)</sup> 등이 차가버섯 추출물에서 확인되었다. 차가버섯의 주요 활성 성분으로서 beta-glucan과 같은 다당체가 알려져 있으며, inoscavin A와 B와 같은 성분과 gallic acid와 같은 phenolic 물질과 narirutin, epicallocatchin 등과 같은 일부 flavonoid 성분이 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>12)</sup>

본 연구에서는 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획에 대한 항산화 활성과 tyrosinase 저해활성을 비교하고 아직까지 많이 밝혀지지 않은 차가버섯의 다양한 활성 성분에 대한 탐색의 한 방법으로서 trimethylsilyl 유도체화를 실시한 차가버섯 추출물의 성분을 GC-MS에서 분석함으로써 생리활성과 성분들 간의 연관성을 확인해보고자 하였다.

### 재료 및 방법

**실험재료** – 실험에 사용된 차가버섯은 중국 흑룡강성 하

\*교신저자(E-mail): lki@dsu.ac.kr  
(Tel): +82-61-336-3104

열빈시에서 구입한 것이며, 표품은 동신대학교 바이오센터에 보관되어 있다. 열수 추출물을 제조하기 위해 차가버섯 표피 부위를 1~2 cm 제거한 후 직경 5 mm 이하로 분쇄한 것을 추출에 사용하였다.

**추출 및 분획** - 분쇄한 차가버섯 시료 200 g과 증류수 5 l를 혼합하여 100°C에서 3시간씩 3회 반복하여 추출을 실시하였다. 추출액은 여과 후 동결건조를 실시하여 추출물 46.2 g을 획득하였으며, 이중 30 g을 증류수에 분산시킨 후 ethylacetate, *n*-butanol을 사용하여 순차적으로 용매분획을 실시하였다. 분획된 시료는 여과와 농축 및 동결건조 후 추출물과 함께 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였으며, 최종 분획수율은 ethylacetate, *n*-butanol 및 aqueous 분획이 각각 3.05%, 23.99%, 72.96%로 나타났다.

**DPPH Radical 소거능 측정** - 차가버섯 열수 추출물 및 분획물 시료의 항산화활성을 비교하기 위해 DPPH를 사용하여 radical 소거능을 측정하였다.<sup>13)</sup> 각 시료를 methanol에 0.1~10 mg/ml의 다양한 농도로 용해시킨 시료액 20 µl와 200 µM로 용해시킨 DPPH 용액 180 µl를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader(BIO-TEK, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 바탕으로 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도(SC<sub>50</sub>)를 계산하였다. Positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였다.

**총 Polyphenol 함량 측정** - Folin-Denis법을 이용하여 차가버섯 열수 추출물 및 분획물 시료의 polyphenol 함량을 측정하였다.<sup>14)</sup> Methanol에 1 mg/ml농도로 용해시킨 시료액 80 µl와 Folin-Denis reagent 80 µl를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 80 µl를 혼합하여 1시간동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 µl를 취하여 96well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 chlorogenic acid를 0~500 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 표준 검량선을 작성하고 총 polyphenol 함량을 mg/g로 나타내었다.

**Tyrosinase 저해 활성 측정** - 차가버섯 추출물 및 분획물 시료의 미백활성을 측정하기 위해 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다.<sup>15)</sup> 0.1 M phosphate buffer 100 µl와 농도별 시료 액 20 µl를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응 액에 0.1 M phosphate buffer에 용해시킨 tyrosinase(1 K unit/ml) 30 µl와 1.5 mM tyrosine 30 µl를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출하였고, positive control로 arbutin를 사용하였다.

**Trimethylsilyl 유도체화** - 농축 및 동결건조된 차가버섯 추출물은 pyridine에 녹인 methoxyamine hydrochloride

(MEOX)과 1% trimethylchlorosilane을 함유하는 N-methyl-N-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide(MSTFA)을 사용하여 유도체화를 실시하였다.<sup>16)</sup> 내부표준물질로서 ribitol을 첨가하여 정량적인 비교에 활용하였다.

**GC-MS 분석** - 유도체화가 완료된 시료액은 TQ8040 GC-MS(Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 분석을 실시하였으며, 분석용 column은 DB-5MS(30 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness)를 사용하였다. 90°C에서 시작하여 310°C까지 순차적으로 oven 온도를 승온시키는 조건을 적용하였으며, 이동상으로서 He을 1.0 ml/min으로 유속으로 설정하였다. Inject port의 온도는 250°C로 하였으며, splitless mode로 1 µl를 주입하여 분석하였다. 질량분석기 조건으로서 ion source와 interface 온도는 각각 200°C와 250°C로 설정하였으며, 70 eV의 electron impact 이온화 조건에서 40-600 *m/z* 범위의 scan mode로 분석을 진행하였다. GCMSsolution (Version 4.20, Shimadzu, Kyoto, Japan) software를 분석 data를 해석하는데 사용하였으며, NIST library(Version 11)를 적용하여 분석 결과를 해석하였다. 각 성분의 최종 동정은 library와의 비교에서 90% 이상의 일치도를 가진 것으로서 retention index를 고려하여 실시하였으며, 내부표준물질로 사용된 ribitol의 peak 면적을 기준으로 상대적인 함량을 산출하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

**차가버섯 분획물의 항산화 활성** - 식물 중의 polyphenol 화합물은 항암 활성 등 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 특히 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물의 특성으로 인해 항산화 활성과 관련성이 높다.<sup>17)</sup> 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획에 존재하는 총 polyphenol 함량을 측정한 결과를 Table I에 제시하였다. Ethyl acetate 분획에 존재하는 총 polyphenol 함량이 395.86 mg/g으로 다른 분획 시료에 비해 월등히 높은 수준을 나타냈다. 항산화 활성을 확인하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능 측정 결과를 바탕으로 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 시료의 농도(SC<sub>50</sub>)를 산출하여 Table II에 나타내었다. 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획 중에서 총 polyphenol 함량이 가장 높게 나타났었던 ethyl acetate 분획에서 DPPH radical 소거능이 가장 높게 나타남에 따라 항산화 활성과 polyphenol 함량 간의 상관 관계를 다시 한번 확인해 볼 수 있었다. Positive control로 사용된 ascorbic acid의 0.068 mg/ml를 기준으로 환산한 비교활성(relative activity; positive control의 활성을 100%로 설정)에서 ethyl acetate 분획이 17.30% 수준을 나타내는 것으로 확인할 수 있었으며, 총 polyphenol 함량이 다른 분획에 비해 현저히 낮게 나타났었던 *n*-butanol 분획이 일정 수준의 DPPH radical 소거능을

**Table I.** Total polyphenol contents of fractions from water extract of *Inonotus obliquus*

	Total phenolic compound (mg/g)
Ethyl acetate fraction	395.86 ± 29.80 <sup>1)</sup>
<i>n</i> -Butanol fraction	0.60 ± 1.45
Aqueous fraction	35.39 ± 1.01

<sup>1)</sup>Values are mean ± SD (n=3).

**Table II.** DPPH radical scavenging abilities of fractions from water extract of *Inonotus obliquus*

	SC <sub>50</sub> (mg/ml) <sup>1)</sup>	Relative activity (%) <sup>2)</sup>
Ethyl acetate fraction	0.393 ± 0.009 <sup>3)</sup>	17.30
<i>n</i> -Butanol fraction	0.826 ± 0.008	8.23
Aqueous fraction	5.157 ± 0.191	1.32
Ascorbic acid <sup>4)</sup>	0.068 ± 0.001	100.00

<sup>1)</sup>SC<sub>50</sub>: concentration of each samples for scavenging 50% of DPPH radical. <sup>2)</sup>Relative activity: a ratio of SC<sub>50</sub> value compared to positive control. <sup>3)</sup>Values are mean ± SD (n=3) without relative activity. <sup>4)</sup>Positive control.

가지는 것으로 나타남에 따라 polyphenol 이외의 항산화 성분이 해당 분획에 존재함을 추정케 하였다.

**Tyrosinase 저해 활성** – Melanin 형성에 있어서 아미노산인 tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanin(DOPA)으로 hydroxylation시키는 과정과 DOPA-quinone, DOPA-chrome의 생성 과정에 관여하는 tyrosinase의 저해 활성을 측정하는 방법은 피부 미백 효과를 연구하는 분야에서 빈번히 활용되는 방법 중에 하나이다.<sup>15)</sup> 기존의 연구보고에서 차가버섯의 메탄올 추출물을 대상으로 미백활성을 확인한 바는 있었으

**Table III.** Tyrosinase inhibitory activities of fractions from water extract of *Inonotus obliquus*

	IC <sub>50</sub> (mg/ml) <sup>1)</sup>	Relative activity <sup>2)</sup>
Ethyl acetate fraction	4.29 ± 0.41 <sup>3)</sup>	4.90
<i>n</i> -Butanol fraction	>10	-
Aqueous fraction	2.37 ± 0.39	8.86
Arbutin <sup>4)</sup>	0.21 ± 0.08	100.00

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub>: concentration of each samples for inhibiting 50% of tyrosinase. <sup>2)</sup>Relative activity: a ratio of IC<sub>50</sub> value compared to positive control. <sup>3)</sup>Values are mean ± SD (n=3) without relative activity. <sup>4)</sup>Positive control.

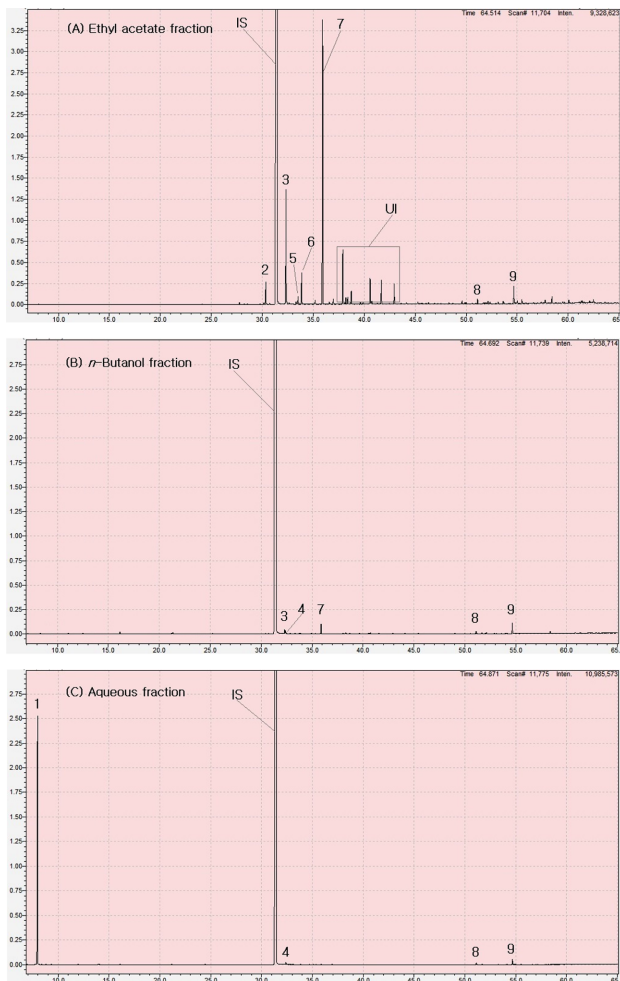
나, 차가버섯을 주로 활용하는 열수 추출물의 형태가 아니었으며, 용매별 분획 역시 실시하지 않은 것이었다.<sup>8)</sup> 본 연구에서 측정된 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획의 tyrosinase 저해 활성을 Table III에 나타내었다. 50%의 tyrosinase를 저해할 때 필요한 시료의 농도인 IC<sub>50</sub>에서 aqueous 분획과 ethyl acetate 분획이 각각 2.37 mg/ml, 4.29 mg/ml를 나타냄으로써 positive control로 사용된 arbutin의 0.21 mg/ml를 기준으로 환산한 비교활성(relative activity)에서 각각 8.86%와 4.90% 수준의 활성임을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 DPPH radical 소거능과 같은 항산화 활성과는 다른 경향이었는데, polyphenol과 같은 성분에 의한 항산화 활성을 기반으로 한 tyrosinase 저해 활성보다는 aqueous 분획에 존재하는 다른 종류의 성분에 기인한 활성이라고 판단할 수 있었다.

**GC-MS를 활용한 성분 분석** – Tyrosinase 저해 활성에서 ethyl acetate 분획에 비해 낮은 polyphenol 함량이나 DPPH radical 소거능에도 불구하고 상대적으로 높게 나타난 aqueous 분획의 tyrosinase 저해 활성에 대한 결과 해석을 위해서 차

**Table IV.** Identification compounds of fractions from water extract of *Inonotus obliquus* by GC-MS

Peaks	Retention time (min)	Identification	Contents (mg/g)		
			EF	BF	AF
1	7.9	Oxalic acid	-	-	37.06
2	30.3	3,4-Dihydroxybenzyl alcohol	4.41	-	-
IS	31.5	Ribitol			
3	32.3	Vanillic acid	24.20	0.25	-
4	32.4	Ribonic acid	-	0.18	0.24
5	33.5	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	1.73	-	-
6	33.8	Protocatechuic acid	6.65	-	-
7	35.9	Syringic acid	63.42	0.61	-
8	51.1	Hexadecanoic acid	1.01	0.15	0.20
9	54.6	Octadecanoic acid	3.91	0.64	0.70

EF: ethyl acetate fraction of water extract, BF: *n*-butanol fraction of water extract, AF: aqueous fraction of water extract, IS: internal standard.



**Fig. 1.** GC-MS chromatograms of fractions from water extract of *Inonotus obliquus*. 1; oxalic acid, 2; 3,4-Dihydroxybenzyl alcohol, 3; Vanillic acid, 4; Ribonic acid, 5; 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid, 6; Protocatechuic acid, 7; Syringic acid, 8; Hexadecanoic acid, 9; Octadecanoic acid, IS; internal standard, UI; unidentified peaks.

가버섯 열수 추출물의 용매별 분획에 존재하는 성분  
에 대한 추적이 필요하다고 판단되었다. 본 연구에서는 생리 활성 물질 탐색을 위해 trimethylsilyl 유도체화 과정을 거친 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획에 대해 GC-MS 분석을 실시하였다. GC-MS를 활용한 분석은 전 세계적으로 통용되는 성분별 library를 활용할 수 있기 때문에 미지의 성분에 대한 정성 분석에 있어서 큰 이점을 제공하게 된다. Table IV에 제시된 분석의 결과에서 ethyl acetate 분획에서는 기존의 연구보고에서는 밝히지 않았었던 syringic acid, vanillic acid, protocatechuic acid 등의 성분들이 상당량 존재함을 확인할 수 있었다. Syringic acid나 vanillic acid는 다양한 연구보고에서 항산화 및 간기능 개선 등의 활성을 나타내는 것으로 알려진 성분들이며, 특히 항산화 활성이 높은 것으

로 보고되고 있다.<sup>18,19)</sup> Aqueous 분획에서는 유기산의 일종인 oxalic acid가 주요 성분으로서 확인되어 기존의 다당류 외에 유기산의 존재가 확인되었으며, 일부 지방산이 소량씩 존재하는 것으로 확인되었다. 특히 aqueous 분획에서 비교적 높은 함량을 가지는 것으로 나타난 oxalic acid의 경우 효소적 갈변 색소 형성을 억제하는 것으로 보고된 바가 있어서 본 연구에서 확인된 aqueous 분획의 tyrosinase 저해 활성에 기여하는 수준이나 과정 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단되었다.<sup>20,21)</sup>

## 결론

본 연구에서는 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획을 대상으로 항산화 활성과 tyrosinase 저해 활성을 확인하였다. 높은 수준의 polyphenol 함량을 바탕으로 ethyl acetate 분획에서 상대적으로 강한 항산화 활성을 가지는 것으로 확인되었으며, tyrosinase 저해 활성에서는 aqueous 분획이 비교적 높은 활성을 나타내었다. 이와 같은 활성들 간의 차이를 설명하기 위한 수단으로서 trimethylsilyl 유도체화 과정을 거친 차가버섯 열수 추출물의 용매별 분획에 대해 GC-MS 분석을 실시하였다. Ethyl acetate 분획에서는 기존의 연구보고에서는 밝히지 않았었던 다양한 연구보고에서 항산화 및 간기능 개선 등의 활성을 나타내는 것으로 알려진 syringic acid, vanillic acid 등을 포함하는 다양한 성분들이 상당량 존재함을 확인할 수 있었다. Aqueous 분획에서는 유기산의 일종인 oxalic acid가 주요 성분으로서 확인되었는데 oxalic acid는 기존의 연구보고에서 효소적 갈변 색소 형성을 억제하는 것으로 보고된 바가 있어서 본 연구에서 aqueous 분획이 보여준 tyrosinase 저해 활성에 기여하는 성분으로 판단해 볼 수 있었다.

## 인용문헌

- Kim, J. C., Yi, H. C., Lee, K. U., Hwang, K. T. and Yoo, G. C. (2015) Optimization of the extraction of bioactive compounds from chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) by the response surface methodology. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **47**: 233-239.
- Baek, G. H., Jeong, H. S., Kim, H., Yoon, T. J., Suh, H. J. and Yu, K. W. (2012) Pharmacological activity of chaga mushroom on extraction conditions and immunostimulating polysaccharide. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 1378-1387.
- Song, H. Y., Lee, D. J. and Lee, B. E. (2011) Studies on the anti-pulmonary tuberculosis of *Inonotus obliquus*. *J. Mushroom Sci. Prod.* **9**: 190-193.
- Kim, P. R., Ko, S. K. and Pyo, M. Y. (2010) Effects of hot water extract of chaga mushroom on the proliferation and cytokines production of mouse splenocytes *in vitro*. *Yakhak*

- Hoeji*. **54**: 187-191.
5. Qi, Y., Zhao, X., Lim, Y. I. and Park, K. Y. (2013) Antioxidant and anticancer effects of edible and medicinal mushrooms. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**: 655-662.
  6. An, C. S., Jin, H. L., Jeon, Y. H., Bak, J. P., Kim, J. D., Yoon, J. H. and Lim, B. O. (2010) Immunoregulatory effects of water extracts of *Inonotus obliquus* in carbon tetrachloride-induced liver damage animal model. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **18**: 1-8.
  7. Kim, B. B., Kim, M. S. and Hyun, C. K. (2016) Suppression of adiposity and improvement of fat metabolism in high-fat diet-induced obese mice treated with an *Inonotus obliquus* extract. *Kor. J. Pharmacogn.* **47**: 172-178.
  8. Guk, M. H., Kim, D. H., Lee, C., Jeong, E. S., Choi, E. J., Lee, J. S. and Lee, T. S. (2013) Antioxidant and skin whitening effects of *Inonotus obliquus* methanol extract. *J. Mushroom Sci. Prod.* **11**: 99-106.
  9. Lee, S. H., Park, S. H., Lee, K. H., Park, S. J. and Kim, Y. H. (2011) Effect of *Inonotus obliquus* extract on the expression MMPs and HAS-2. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* **37**: 237-245.
  10. Youn, M. J., O, K. J. and Park, K. I. (2011) Anti-oxidant effects of the water extracts from the *Inonotus obliquus* against cisplatin-induced damage in HEI-OC1 cells. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* **25**: 451-458.
  11. Ko, S. K. and Pyo, M. Y. (2011) Anti-inflammatory effect of *Inonotus obliquus* extracts in lipopolysaccharide-induced mouse peritoneal macrophage. *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 253-259.
  12. Zheng, W. F., Zhao, Y. X., Zhang, M. M., Yin, Z. J., Chen, C. F. and Wei, Z. W. (2008) Phenolic compounds from *Inonotus obliquus* and their immune-stimulation effects. *Mycosystema* **27**: 574-581.
  13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
  14. Otto, F. and Denis, W. (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biological Chemistry.* **12**: 239-243.
  15. Jung, S. W., Lee, N. K., Kim, S. J. and Han, D. S. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**: 891-896.
  16. Park, S. E., Yoo, S. A., Seo, S. H., Lee, K. I., Na, C. S. and Son, H. S. (2016) GC-MS based metabolomics approach of Kimchi for the understanding of *Lactobacillus plantarum* fermentation characteristics. *LWT-Food Sci. Technol.* **68**: 313-321.
  17. Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. and Remesy, C. (2005) Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**: 230S-242S.
  18. Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Watari, A., Kobayashi, M., Tamesada, M. and Yagi, K. (2010) Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury. *Biol. Pharm. Bull.* **33**: 983-987.
  19. Tai, A., Sawano, T. and Ito, H. (2012) Antioxidative properties of vanillic acid esters in multiple antioxidant assays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**: 314-318.
  20. Son, S. M., Moon, K. D. and Lee, C. Y. (2000) Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 2071-2074.
  21. Son, S. M., Moon, K. D. and Lee, C. Y. (2001) Inhibition effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chem.* **73**: 23-30.
- (2016. 11. 20 접수; 2016. 12. 16 심사; 2017. 2. 6 게재확정)