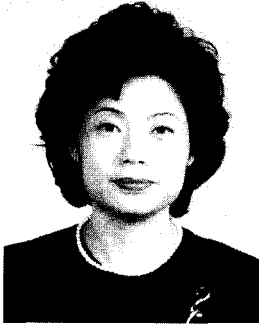


한국산 적포도주의 과산화 음이온 라디칼 소거능력에 관한 연구

I. 서 론



고 경 희

〈가톨릭대학교 식품영양학과 부교수〉

이 준 희

〈가톨릭대학교 식품영양학과 석사〉

산소는 인간의 생존에 결정적인 작용을 하는 것으로 공기 중에서는 안정한 삼중항 산소 (O_2)로 존재하는데, 호흡을 통해 체내로 들어온 산소는 ATP형태에서 에너지를 생산해 내는 전자전달체계에서 궁극적인 전자 수용체이다. 그러나 이 과정을 거치면서 어떤 경우에는 전자 흐름이 짝을 짓지 않게되고 자유 라디칼의 형성을 유도한다.⁽¹⁾ 즉, 과산화 음이온 라디칼(superoxide anion radical, $O_2^{\cdot-}$), 수산화라디칼(hydroxyl radical, $\cdot OH$), 과산화수소(hydrogen peroxides, H_2O_2), 일중항 산소(singlet oxygen O_2) 등과 같은 반응성이 매우 큰 산소반응물질(reactive oxygen species, ROS)들을 형성하게 된다. (Fig. 1)⁽²⁻⁵⁾ 이들은 건강한 조직에서는 백혈구 등이 이를 이용하여 외부에서 침입한 각종 물질들을 비특이적으로 제거하는 필수적인 물질이기도 하지만 주로 불포화 지방산이 풍부한 생체막에서 자유라디칼 반응에 관여함으로써 지질 과산화를 일으키는 것으로 알려져있다.⁽⁶⁻⁸⁾ 또한 지질 외에 단백질, 아미노산, 효소⁽⁹⁾, DNA⁽¹⁰⁾ 등과도 반응하여 기질 자체에 유해한 영향을 끼칠 뿐 아니라 그로 인해 세포 기능을 손상시키고 염증, 암, 동맥경화증, 노화 등의 만성적인 퇴행성 질환의 원인이 된다.⁽¹¹⁻¹⁴⁾ 건강한 사람에게 있어서는 산소반응물질(ROS)의 발생과 체내 항산화 기구가 균

■ 목 차 ■

- I. 서 론
- II. 실험재료 및 방법
- III. 결과 및 고찰
- IV. 참고문헌

형을 이루고 있다. 이 방어기구의 종류로서는 시토크롬 산화효소(cytochrome oxidase)⁽¹⁵⁾나 수퍼옥사이드 디스뮤티아제(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase), 과산화효소(Peroxidase) 등과 같은 효소의 작용^(16, 17), 항산화제에 의한 작용 등을 들 수 있다.⁽¹⁸⁻²⁰⁾ 세포 내에 일정 농도로 유지되는 이러한 방어기구들이 산화반응물질(ROS)과 균형이 깨어질 경우 신체에 해가 나타나는 것이다.⁽²¹⁾ 이중 SOD(Superoxide oxidoreductase; EC 1.15.1.1)는 산소독성의 중추적 역할을 하는 과산화 음이온 라디칼(O_2^-)의 소거를 자발적 반응 보다 약 10⁸배 이상 빨리 촉매하는 금속효소로 알려져 있다.⁽²²⁾ 최근에는 산소반응물질에 의한 생체의 산화적 장애를 억제하려는 의도로 SOD 유사활성을 지닌 천연물 소재 개발의 연구가 상당히 이루어지고 있다.⁽²³⁻²⁷⁾ 지금까지는 주로 과채류내의 β -carotene과 vitamin C에 대해서 연구가 이루어져 왔지만, 최근 각종 과채류에 다량으로 존재하는 천연물질인 플라보노이드류(flavonoide)에 관심이 모아지고 있다. 플라보노이드류는 폴리페놀 화합물로서 안토시아닌류(anthocyanins), 플라보놀류(flavonols), 플라본류(flavones), 카테킨(catechins) 및 플라바논류(flavanoes) 등으로 구성된다.^(28, 29) 이들은 과일, 채소, 견과, 씨, 꽃 등에 존재하고 인간은 이를 식사를 통해 섭취하게 된다.⁽³⁰⁻³³⁾ 또한 이들은

항균성 및 항바이러스성⁽³⁴⁾, 항염성^(11, 35) 항알러지성^(31, 34, 36), 혈관이완작용⁽³⁷⁾ 등과 같은 다양한 생리활성 기능을 갖는 것으로 보고되어지고 있다. 이외에도 지질 과산화(Lipid peroxidation: LPO)^(32, 38), 혈소판 응집⁽³⁹⁻⁴¹⁾, 혈관의 투과성^(42, 43), 사이클로 산소첨가효소(cyclo-oxygenase)와 리폭시게나아제(lipoxygenase)를 포함한 효소체계 활성화^(31, 36, 44, 47)을 저해하는 작용이 알려져있다. 이러한 작용은 플라보노이드류가 항산화제나 자유 라디칼 소거제^(34, 48-50), 양이온의 킬레이터⁽⁵¹⁾로 작용함을 증명한다. 즉, 플라보노이드류는 신체 내에서 산소반응물질(ROS)과 체내 항산화 기구간의 깨어진 균형을 보완하여 LDL의 산화를 억제^(52, 53)하며 동맥경화증, 관상동맥성 심장질환(coronary heart disease: CHD), 암 등의 발병 위험률을 낮추는 것^(54, 55)으로 예상되고 있다. 1993년의 Zutphen Elderly 연구⁽⁵⁶⁾에 의하면, 조사 대상자들은 평균 26 mg/day의 플라보노이드류를 섭취하며 대부분이 차(61%), 양파(13%), 사과(10%)에서 비롯된다고 한다. 또한 플라보노이드류의 섭취와 차의 섭취는 모두 CHD로 인한 사망률을 낮추는데 유의적이었고, 가장 상관관계가 좋은 식이내 화학적 성분은 플라보놀류의 하나인 케르세틴(querceetin)이었다고 보고한다⁽⁵⁶⁾. 차나 사과 외에도 포도나 포도주스 또는 포도주도 훌륭한 페놀계 물질의 급원이 될 수 있다. 이들에는 플라보노이드

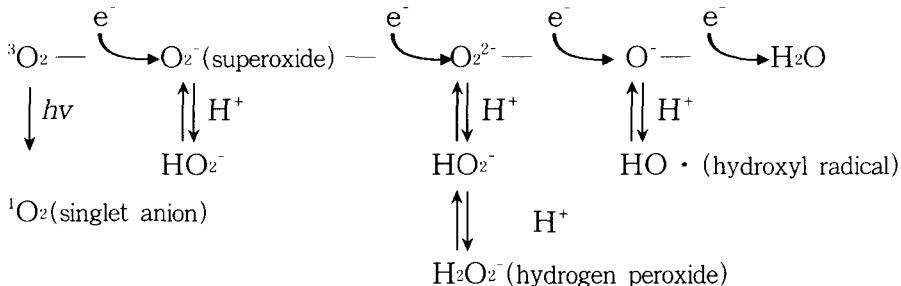


Fig. 1. Scheme to show the formation of reactive oxygen species from the stable triplet oxygen(3O_2)

류가 주를 이루는 페놀계물질이 높은 농도로 존재한다⁽⁵⁷⁻⁶⁰⁾. 따라서 이들 포도, 포도주 등이 체내에서 항산화 기전을 가질 것으로 예상하고 최근 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. Kanner 등⁽⁵⁷⁾, Frankel 등^(61,62), Sato 등⁽⁶⁰⁾, Ricardo da Silva 등⁽⁶³⁾의 보고에서 포도 또는 포도주의 페놀계물질이 *in vitro*상에서 항산화 효과가 있음을 밝혔고, Kondo 등⁽⁶⁴⁾은 실제 10명의 지원자가 28일의 실험 기간동안 일정한 포도주를 섭취함으로써 혈액의 산화 유도기간이 연장됨을 확인한 바 있다. 이외에도 다양한 생태 역학적 조사가 적포도주의 체내 유용성을 뒷받침하고 있다. St. Leger 등⁽⁶⁵⁾에 의해 포도주 소비증가와 심장병으로 인한 사망률 감소에 관계가 있음이 밝혀졌고, 최근 Renaud 등⁽⁶⁶⁾은 식이성 포화지방의 섭취가 비슷한 국가들 사이에서 CHD로 인한 사망률에 큰 차이를 보이는 것은 지중해성 식사(mediterranean type diet)가 원인이며, 이중 포도주의 섭취와는 매우 강한 상관관계가 있음을 분석하였고, 이를 French Paradox라 하였다. 이는 Criqui 등⁽⁶⁷⁾의 연구에 의해서도 확인되며, 이들은 CHD로 인한 사망률 감소에 총 알코올 소비($r=-0.39$)보다 포도주 소비($r=-0.66$)가 더 유의적임을 밝혔다. 즉, 지속적인 적당량의 포도주 섭취가 체내에서 이로운 작용을 하는 것은 적

당한 알코올 섭취로 인한 효과^(68,69)라기보다는 포도주의 다른 성분, 즉 폴리페놀물질에 의한 작용으로 말할 수 있다. 포도주의 폴리페놀물질의 대부분은 플라보노이드류이고, 이중에서도 안토시아닌류가 주를 이룬다.

본 실험에서는 시판되고 있는 10종류의 적포도주 및 백포도주의 총페놀 함량과 과산화음이온 라디칼 소거 능력을 측정하고, 이들의 상관관계를 분석하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 재 료

실험에 사용한 모든 종류의 포도주는 1996년 한해 동안 시판되고 있는 포도주를 사용하였다. 4종류의 한국산 적포도주와 2종류의 외국산 적포도주가 사용되었고, 2종류의 한국산 백포도주와 1종의 외국산 백포도주, 또한 1종류의 rosé wine도 사용되었다(Table 1). 이들은 실험기간 동안 $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 저장되었다.

2. 시 약

총페놀 함량 측정에는 Folin & Ciocalteu's phenol reagent(Junsei, Japan), sodium carbonate

Table 1. Characteristics of different wine samples

wine	Color	Alcohol(%)	Vintage	Winery	Grapes
Calenzano, Italy	Red	12	1992	Monticello	-
Bordeaux, France	Red	12	1988	Albert Bichot	-
Korea, I	Red	12	1993	Sooseok	Muscat Bailey A
Korea, II	Red	12	1990	Jinro(France)	-
Korea, III	Red	11	1994	Doosan	Muscat Bailey A Carbernet Sauvignon
Korea, IV	Red	12	1994	Doosan(France)	-
Korea, V	Rosé	-	-	Haitai	-
California, USA	White	13.8	1993	Benziger	Chardonnay
Korea, VI	White	9.5	-	Doosan(Germany)	-
Korea, VII	White	12	-	Haitai	Seibel

(Korea)가 사용되었다. ESR측정을 위해서 사용된 hypoxanthine (HPX), xanthin oxidase (XOD), diethylene triamine pentaacetic acid (DETAPAC), 5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide(DMPO)는 Sigma(USA)사의 제품을 사용하였다.

3. 총 페놀 함량 측정

Folin-Dennis법⁽⁷⁰⁾을 사용하여 시료의 총페놀 함량을 측정하였다. 10배 희석한 시료 1ml에 증류수 60ml를 가하고, Folin-Ciocalteu's reagent 5ml를 첨가해 30초간 반응시켰다. 15ml의 포화 탄산나트륨 용액을 혼합하여 실온에서 2시간 방치한 뒤, 765nm에서 흡광도(spectronic 21, USA)를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 mg/L GAE로 환산하였다.

4. SO₂ 함량 측정

포도주내의 유리 및 총 SO₂의 함량을 Ripper

방법⁽⁷¹⁾에 의해 측정하였다. 적포도주의 경우에는 종말점을 명확하게 찾기 위해서 활성탄으로 색소를 모두 제거한 뒤에 측정하였다. 유리 SO₂의 측정을 위해 정확하게 취한 시료 25ml에 5ml의 전분 지시약, 매우 소량의 중탄산염을 혼합하였다. 이에 5ml의 1:3 H₂SO₄를 첨가하여 신속하게 0.01N 표준 요오드 용액으로 적정하였다. 총 SO₂ 함량은 유리 SO₂ 측정과 동일하나 전분 지시약을 넣기전에 25ml 1N NaOH로 10분간 가수분해를 일으킨 뒤 측정하였다.

5. 과산화 음이온 라디칼 소거작용의 측정

Sato⁽¹⁰⁾등과 Mitsuta⁽⁷²⁾ 등의 방법을 수정, 보완하여 hypoxanthin-xanthin oxidase(HPX-XOD) 체계에서 인위적으로 발생하는 과산화 음이온 라디칼을 electron spin resonance (ESR) spectrometer (Bruker ER200D, USA)로 측정하였다. 필요한 시약들은 인산 완충용액(0.1M, pH 7.8)을 용매로하여 조제하였다. 인산 완충용액(0.1M, pH 7.8) 40μl, hypoxanthin(2.0mM) 50μl, DETAPAC(5.5mM, diethylene triamine

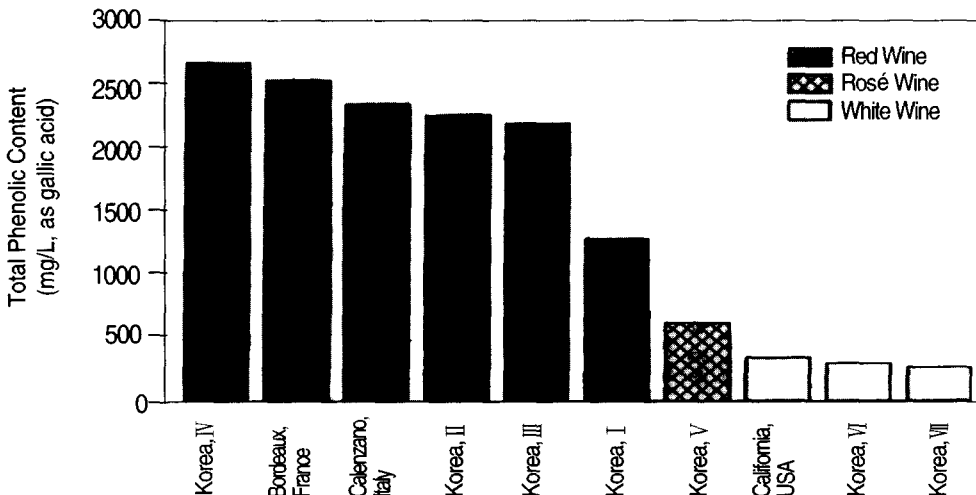


Fig.2. Content of total phenolic compounds in different wine samples

pentaacetic acid) 30 μ l, DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide) 30 μ l, sample 40 μ l, xanthin oxidase 10 μ l를 잘 혼합하여 1분안에 ESR측정을 하였다. 대조군의 과산화 음이온 라디칼 피크의 높이와 시료의 높이를 비교하여 강도(intensity)로 표현하였다. 즉, 강도가 클수록 라디칼 소거작용이 작음을 알 수 있다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 포도주의 총페놀 함량

시중에서 판매되고 있는 한국산 적포도주 4종을 비롯하여, 2종의 외국산 적포도주(Bordeaux, France/Calenzano, Italy)와 1종의 한국산 rosé wine, 2종의 한국산 백포도주, 1종의 외국산 백포도주(California, U.S.A)에 대하여 조사하였다. Table 2는 포도주의 SO₂ 함량과 색깔의 정도를 나타내었다. Table 3은 총페놀 함량으로 적포도주의 경우 총페놀함량이 1330.7~2741.4 mg/L GAE의 범위(평균=2282.86 mg/L GAE)를 보였고 백포도주의 경우는 298.7~362.5 mg/L GAE의 범위(평균=324.91 mg/L GAE)를 보였다. 그 중 Korea, IV가 2741.4 mg/L GAE로 10개의 포도주 중 총페놀 함량이

가장 높았으며, 백포도주인 Korea, VII이 298.7 mg/L GAE로 가장 낮은 함량을 보였다. Rosé wine(Korea, V)은 적포도주 양조용 포도로 백포도주와 같은 발효과정을 거쳐 만들어지는 포도주로서⁽⁷³⁾ 색에 있어서도 중간적인 분홍색을 띄며 총페놀 함량도 적포도주와 백포도주의 중간정도(650 \pm 28.4 mg/L GAE)를 나타냄을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이처럼 포도주의 종류별로 총페놀 함량에 차이가 생기는 것은 포도주의 총페놀 함량이 여러 가지 요인에 의해서 영향을 받기 때문이다. 즉, 발효과정 중 껍질과 씨의 침지시간(maceration time), 에탄올 함량, 발효온도, 압착의 정도, 포도의 종류 등이 최후 포도주의 총페놀 함량을 결정한다⁽⁷⁴⁾. 적포도주는 백포도주와는 달리 껍질과 씨의 침지시간이 길기 때문에 껍질과 씨에 풍부한 페놀계 물질이 충분히 침출된다. 이로써 적포도주와 백포도주의 페놀계 물질 분포가 서로 다르게 결정된다⁽⁷⁵⁾.

2. 포도주의 과산화 음이온 라디칼 소거작용

포도주는 페놀계 물질이 풍부한 식품으로 잘 알려져 있고, 여러 다양한 연구^(49,50,61,62,68)

Table 2. Content of SO₂ and absorbance values of wine samples

wine	Color	Absorbance 420nm	Absorbance 520nm	Intensity (420+520nm)	Hue (420/520nm)	Free So ₂ (mg/l)	Total So ₂ (mg/l)
Calenzano, Italy	Red	1.97 \pm 0.04	2.18 \pm 0.04	4.15 \pm 0.08	0.90 \pm 0.01	2.48 \pm 1.24	25.24 \pm 1.43
Bordeaux, France	Red	2.81 \pm 0.02	2.59 \pm 0.08	5.41 \pm 0.09	1.08 \pm 0.00	3.35 \pm 0.67	33.54 \pm 1.68
Korea, I	Red	1.18 \pm 0.01	0.99 \pm 0.23	2.17 \pm 0.24	1.19 \pm 0.01	2.96 \pm 0.73	189.66 \pm 7.74
Korea, II	Red	2.21 \pm 0.06	2.25 \pm 0.13	4.46 \pm 0.19	0.98 \pm 0.05	2.20 \pm 1.62	36.27 \pm 8.47
Korea, III	Red	2.47 \pm 0.05	2.59 \pm 0.29	5.06 \pm 0.34	0.95 \pm 0.02	2.75 \pm 1.02	62.56 \pm 4.76
Korea, IV	Red	2.10 \pm 0.08	2.31 \pm 0.07	4.41 \pm 0.15	0.91 \pm 0.02	4.22 \pm 0.73	89.01 \pm 17.71
Korea, V	Rosé	0.56 \pm 0.01	0.35 \pm 0.01	0.91 \pm 0.01	1.61 \pm 0.01	2.51 \pm 0.87	169.52 \pm 6.22
California, USA	White	0.14 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.15 \pm 0.02	4.67 \pm 0.95	41.40 \pm 0.73	120.81 \pm 1.94
Korea, VI	White	0.10 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	0.12 \pm 0.01	3.33 \pm 0.67	32.16 \pm 4.06	165.78 \pm 24.20
Korea, VII	White	0.08 \pm 0.01	0.02 \pm 0.00	0.09 \pm 0.01	3.50 \pm 0.29	8.30 \pm 0.71	166.96 \pm 7.60

Data are means \pm sd

^{75, 76-78)}들이 포도주의 생화학적 효과가 폐놀계 물질들에서 비롯됨을 뒷받침하고 있다. Xanthine oxidase는 xanthine이나 hypoxanthine과 같은 기질과 반응하여 라디칼을 형성하는 것으로 알려져 있으므로⁽⁶⁾, hypoxanthine-xanthine oxidase (HPX-XOD) 체계에서 과산화음이온 라디칼(O_2^-)을 인위적으로 발생시켜 포도주 참가에 의해 이 과산화 음이온 라디칼이 소거되는 것을 ESR로 측정함으로써 포도주에 의한 라디칼 소거작용을 확인하였다. Mitsuta⁽⁷²⁾ 등은 ESR spin-trapping 방법으로 SOD유사활성을 갖는 생리적 물질들을 판정한 바 있으며, Sato⁽¹⁰⁾ 등도 포도주가 갖는 라디칼 소거능력을 DMPO(5,5-dimethyl-1-pyrrolin N-oxide)를 spin-trapping물질로 이용해 확인한 바 있다.

Fig. 3은 HPX-XOD 체계내에서 발생한 과산화 음이온 라디칼이 DMPO와의 결합으로 형성된 DMPO-OOH(*)의 ESR 스펙트럼이다. 이는 짝 짓지 않은 전자가 강한 자기장에 놓이면서 마이크로파의 복사선을 흡수한 것을 나타낸 것이다⁽⁷³⁻⁸²⁾. 증류수로 측정된 대조군의 DMPO-OOH(*) 크기에 대한 실험군의 크기

를 비교하여 과산화 음이온 라디칼 강도(superoxide radical intensity)로 정하였다. 실험군의 과산화 음이온 라디칼 강도의 범위는 0.13~1.36으로 적포도주가 백포도주에 비해 낮은 강도를 나타내었다(Table 3, Fig 4). Korea,IV가 가장 낮은 과산화 음이온 라디칼 강도(0.13)를 보이며, Fig 3에서 비교해 보면 다른 실험군에 비해 Korea,IV의 스펙트럼이 매우 작은 것을 확인할 수 있다. Korea,IV가 첨가되는 경우 생성된 라디칼이 가장 많이 소거되는 것으로 판단할 수 있다. Kanner 등⁽⁶⁷⁾은 myoglobin, cytochrome c, iron-ascorbate, copper ion 등의 다양한 촉매로 인한 지질 과산화의 억제력을 포도와 포도주에 대해서 확인하고, 이들이 폐놀계 물질임을 증명하였다. Frankel 등⁽⁶¹⁾도 포도주의 폐놀계 물질들이 in vitro상에서 Cu^{2+} 촉매에 의한 LDL(low-density lipoprotein)의 산화를 a-tocopherol보다도 더 효과적으로 억제함을 확인한 바 있고, 이는 LDL 산화를 유도하는 여러 라디칼의 작용을 억제함에 의해서라도 밝히고 있다. 본 실험에서는 폐놀계 물질과 라디칼 소거작용의 관계를 단순회귀분

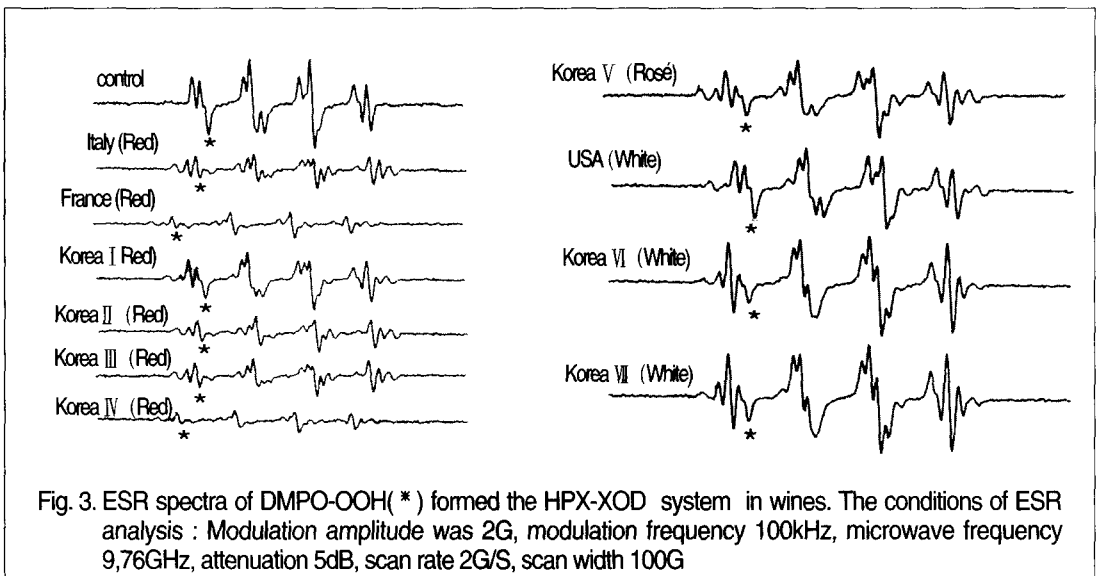


Table 3. Contents of total phenolics and superoxide radical intensity of wines

wine	Color	Phenolic content (mg/L GAE)*	Superoxide radical intensity*
Calenzano, Italy	Red	2417.14 ± 87.48 ^b	0.23 ± 0.05 ^d
Bordeaux, France	Red	2609.29 ± 20.58 ^c	0.20 ± 0.01 ^d
Korea, I	Red	1330.71 ± 61.55 ^c	0.85 ± 0.08 ^c
Korea, II	Red	2335.71 ± 106.56 ^b	0.18 ± 0.01 ^d
Korea, III	Red	2262.86 ± 122.29 ^c	0.18 ± 0.03 ^d
Korea, IV	Red	2741.43 ± 26.72 ^c	0.13 ± 0.03 ^d
Korea, V	Rosé	650.43 ± 28.40 ^c	0.78 ± 0.02 ^c
California, USA	White	362.48 ± 11.54 ^d	0.86 ± 0.10 ^c
Korea, VI	White	313.57 ± 17.71 ^d	1.13 ± 0.15 ^b
Korea, VII	White	298.67 ± 20.72 ^d	1.36 ± 0.08 ^a

Data are means ± sd

* : Values within the same column with different superscripts were significantly different at $p < 0.01$ by Duncan's multiple range test

색을 통해 확인하였다. Fig 5는 과산화 음이온 라디칼 강도와 총페놀 함량은 매우 깊은 음의 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 한편, SO_2 는 포도주의 산화를 억제하는 항산화제로서의 역할, 미생물의 생육을 억제하는 역할, 결합 SO_2 (bounded sulfite)에 의한 이취 감소의 역할 등으로 포도주 양조에 있어서는 매우 중요한 첨가제가 된다. 그러나 이는 적포도주에 있어서 과량 첨가시 포도주의 색을 퇴색시키는 작용이 있고, 체내 유해성의 대두로 그 첨가량이

백포도주에 비해 적고, 제한적이다(Table 2)^(72, 73, 81, 86). 첨가된 SO_2 는 아세트알데히드류 등의 물질들과 결합하여 복합상태로 존재하거나, 유리 SO_2 상태로 존재하게 되는데, 이 유리 SO_2 의 상태로써 항산화제 또는 항미생물제의 작용을 갖는다⁽⁷⁹⁾. 이 유리 SO_2 는 환원성 항산화제이므로 라디칼에 대해 수소공여능⁽⁸⁰⁾을 갖을 수 있으나, 본 실험의 과산화 음이온 라디칼 강도와는 무관한 것으로 판단되었다($r=0.51$). 즉, ESR로 측정된 과산화 음이온 라디칼 강도

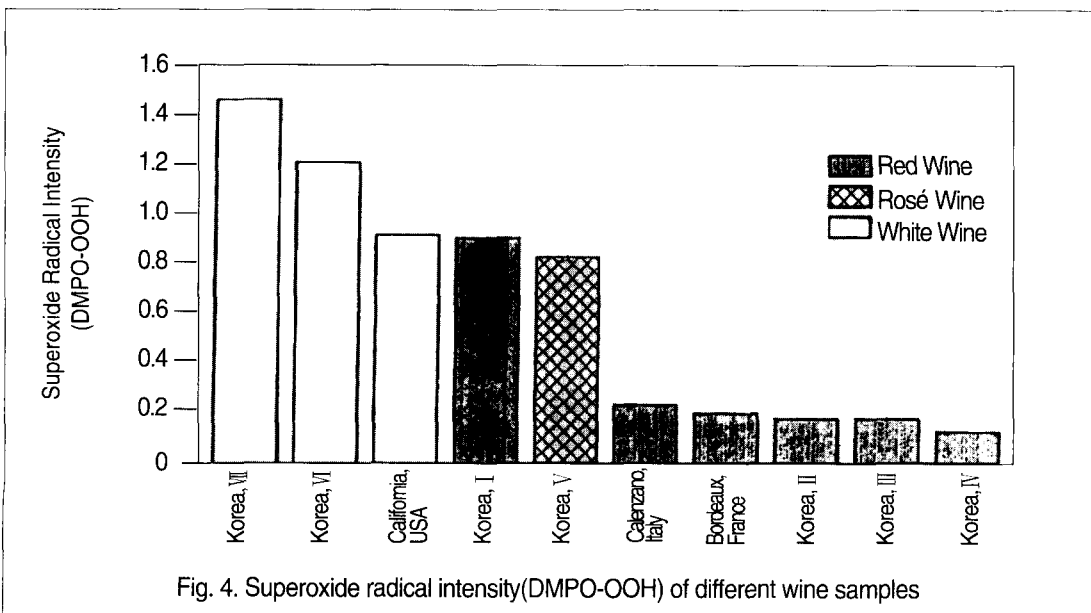
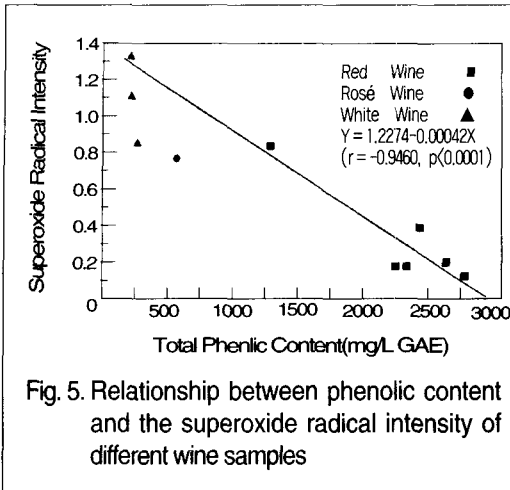


Fig. 4. Superoxide radical intensity(DMPO-OOH) of different wine samples



는 환원성 항산화제인 SO_2 의 작용이 배제된 폐놀계 물질의 작용에 의한 것이라고 추정할 수 있다. 이로써 한국산 포도주내 폐놀계 물질이 체내에서 세포막 지질과산화를 효과적으로 억제한다^(14, 51-53, 57, 61, 68, 77, 87, 88)는 가설에 대한 근거를 제시할 수 있으리라고 기대된다.

IV. 참고 문헌

1. Papas, A.M : Determinants of antioxidant status in humans. *Lipids*, 31, S-77(1996)
2. 한대석, 광재혁, 김상희, 김석중 : Superoxide dismutase 유사활성을 지닌 식물체가 oxidative stress를 받고 있는 초파리의 수명에 미치는 영향. *한국식품과학지*, 28, 865 (1996)
3. Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C. : Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, *Biochem. J.*, 219, 1 (1984)
4. Brawn, K. and Fridovich, I.: Superoxide radical and superoxide dismutase : Threat and defence. In *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Simic, M.G. and Karel, M.(Ed), Plenum Press, NY & London, p.429(1980)
5. 大柳善彦 : 活性酸素と 病氣, 化學同人發行, 京都, p101 (1991)

6. 홍정일, 권미향, 나경수, 성하진, 양한철 : 냉이(*Capsella bursa-pastoris*) 에탄올 추출물의 유리라디칼 소거 및 Xanthin Oxidase 저해활성. *한국농화학학회지*, 38, 590 (1995)

7. Lynch, R.E. and Fridovich, I.: Effects of superoxide on the erythrocyte membrane. *J. Biochem. chim*, 23, 1838 (1978)

8. Fridovich, I. : The Biology of oxygen Radicals, *Science*, 201, 875(1978)

9. Ishida, R. and Takahashi, T. : Increased DNA chain breakage by combined action of bleomycin and superoxide radical. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 66, 1432 (1975)

10. Sato, M., Ramarathnam, N., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Ochi, H. : Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem*, 44, 80 (1995)

11. McCord J.M : Free radicals and inflammation : Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science*, 185, 529 (1974)

12. Petrone, W.F., English, D.K Wong, K., and McCord, J.M. : Free radicals and inflammation : Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc. Natl. Acaa. Sci. USA.*, 77, 1159 (1980)

13. Draper, H.H., and Bird, R.P. : Antioxidants and cancer. *J. Agric. Food Chem*, 32, 433 (1984)

14. Wiseman, H. : Dietary influences on membrane function : Importance in protection against oxidative damage and disease. *J. Nutr. Biochem*, 7, 2 (1996)

15. Fridovich, I. : Superoxide dismutase an adaption to paramagnetic gas. *J. Biol. Chem.*, 264, 7761 (1989)

16. Strake, P.E. and Farber, J.L. : Endogenous defense against the cytotoxicity of hydrogen

peroxide in cultured rat hepatocytes *J. Biol. Chem.*, 260 86 (1985)

17. Arias, I.M. and Jakoby, W.B. : Glutathion peroxidase: Metabolism and function. Raven press, N.Y. (1976)

18. Gamache, D.A., Fawzy, A.A. and Franson, R.C. : Preferential hydrolysis of peroxidized phospholipid by lysosomal phospholipase C. *Biochem Biophys. Acta.*, 958, 116 (1988)

19. Levin, R.L., Oliver, C.N., Fulks, R.M. and Stadtman, E.R. : Turnover of bacterial glutamine synthetase : Oxidative inactivation precedes proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 78, 2120 (1981)

20. Rivett, A.J. : Preferential degradation of the oxidatively modified form of glutamate synthetase by intracellular mammalian protease. *J. Biol. Chem.*, 260, 300 (1985)

21. 박은경 : Staphylococcus sciuri로부터 superoxide Dismutase의 정제 및 생산조건의 확립, 고려대학교 대학원 석사논문. (1994)

22. Fridovich, I. : Superoxide dismutase. *Adv. in Enzymol.*, 41, 36(1974)

23. 강윤한, 박용곤, 이기동 : 폐놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자공여작용. *한국식품과학회지*, 28, 232 (1996)

24. Akaile, T., Ijiri, S., Sato, K., Katsuki, T., and Maeda, H. : Determination of peroxy radical-scavenging activity in food by using bacterial action of alkyl peroxy radical. *J. Agr. Food Chem.*, 43, 1864 (1995)

25. Warner, H.R. : Overview : Mechanisms of antioxidant action on life span. *Toxicol. Ind. Health.*, 9, 151 (1993)

26. Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., and Aruoma, O.I. : Free radicals and antioxidants

in food and in vivo : What they do and how they work. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 7 (1995)

27. Thomas, M.J. : The role of free radicals and antioxidants : How do we know that they are working?. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, 35, 21 (1995)

28. 은종방, 정영민, 우건조 : 감귤과육 및 과피의 식이섬유와 플라보노이드 검색 및 정량. *한국식품과학회지*, 28, 371 (1996)

29. Middleton, E.Jr. and Kandaswami, C. : Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol.*, 48, 115 (1994)

30. Cook, N.C., Samman, S. : Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr. Biochem.*, 7, 66 (1996)

31. Middleton, E.Jr. and Kandaswami, C. : The impact of plant flavonoids on mammalian biology : Implications for immunity, inflammation and cancer. In *The flavonoids : Advances in Research Since 1986*. (J.B. Harborne, ed), p.619, Chapman and Hall, London, UK

32. Ratty, A.K., and Das, N.P. : Effects of flavonoids on nonenzymic lipid peroxidation : Structure activity relationship. *Biochem Med. Metabol. Biol.*, 39, 69 (1988)

33. Hackett, A.M. : The metabolism of flavonoid compounds in mammals. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine : Biochemical, Pharmacological, and Structural-Activity Relationships*, p.177-194, Alan R. Liss, New York, NY USA (1986)

34. Hanasaki, Y., Ogawa, S., and Fukui, S. : The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.*, 16, 845 (1994)

35. Redpath, J.L. : Free radical reactions with simple biochemical systems. *J. Chem. Edu.*, 58, 131 (1981)
36. Hope, W.C., Welton, A.F., Fielder-Nagy, C., Batula-Bernado, C., and Coffey, J.W. : In vitro inhibition of the biosynthesis of slow reacting substances of anaphylaxis(SRS-A) and lipoxygenase activity of quercetin. *Biochem. Pharmacol.*, 32, 367 (1983)
37. Duarte, J., Vizcaino, F.P. Utrilla, P., Tamargo, J., and Zarzuelo, A. : Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure activity relationships. *Biochem. Pharmacol.*, 24, 857 (1993)
38. Salvayer, R., Negre, A., Affany, A., Lenoble, M., and Douste-Blazy, L. : Protective effect of plant flavonoids, analogs and vitamin E against lipid peroxidation of membranes. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, p.313, Alan R. Liss, New York, NY, USA
39. Gryglewski, R.J., Korbut, R., Robak, J., and Swies, J. : On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochem Pharmacol.*, 36, 317 (1987)
40. Bourdillat, B., Delautier, D., Labat, J., Benveniste, J., Potier, P., and Brink, C. : Mechanism of action of hispidulin, a natural flavone, on human platelets. In *Plant flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, p.211, Alan R. Liss, New York, NY, USA
41. Beretz, A., and Cazenave, J. : The effect of flavonoids on blood-vessel wall interactions. In *Plant flavonoids in Biology and medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, p.187, Alan R. Liss, New York, NY, USA
42. Beretz, A., Anton, R., and Cazenave, J. : The effect of flavonoids on cyclic nucleotide phosphodiesterase. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine : Biochemical, Pharmacological, and Structural-Activity Relationships*, p.281-296, Alan R. Liss, New York, NY, USA (1986)
43. Tzeng, S.H., Ko, W.C., Ko, F.N. and Teng, C.M. : Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids *Thromb. Res.*, 64, 91 (1991)
44. Robak, J., Korbut, R., Shridi, F., Swies, J., and Rzadzowska-Bodal-ska, H. : On the mechanism of antiaggregatory effect of myrecetin. *Pol. J. Pharmacol, Pharm.*, 40, 337 (1988)
45. Torel, J., Cillard, J., and Cillard, P. : Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*, 25, 383 (1986)
46. Budavari, S., O'Neil, M.J. Smith, A., and Heckelman, P.E (eds.). *The Merck Index : An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*, 11th ed., Merck & Co., Inc., USA
47. Hodnick, W.F., Milosaviejevic, E.B., Nelson, J.H., and Pardini, R.S. : Electrochemistry of flavonoids : Relationships between redox potentials, inhibition of mitochondrial respiration and production of oxygen radicals by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 37, 2607 (1988)
48. Pignol, B., Etienne, A., Crastes de Paulet, A., Deby, C., Menicia-Huerta, J.M., and Barquet., P. : Role of flavonoids in the oxygen-free radical modulation of the immune response. In *plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, p. 173. Alan R. Liss, New

York, NY, USA

49. Fraga, C.G., Martino, V.S., Ferraro, G.E., Coussio, J.D., and Boveries, A.: flavonoids as antioxidants evaluated by in vitro and in situ liver chemiluminescence. *Biochem. Pharmacol.*, 36, 717 (1987)

50. Callini, L., Bindoli, L., and Siliprandi, N. : Coparative evaluation of antiperoxidative action of silymarin and other flavonoids. *pharmacol. Res. Commun*, 10, 133 (1978)

51. Afanas'ev, I.B., Dorozhko, A.I., Brodskii, A.V., Kostyuk, V.A and Potapovitch, A.I. : Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem. Pharm.*, 38, 1763 (1989)

52. Takahama, U. : Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin : mechanism of antioxidative function. *Phytochemistry*, 24, 1443 (1985)

53. Mangiapane, H., Thomson, J., Salter, A., Brown, S., Duncan Bell, G., and White, D.A. : The inhibition of the oxidation of low density lipoprotein by (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. *Biochemistry Pharmacology*, 43, 445 (1992)

54. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Betty van de Putte. : Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J. Agric, Food Cham.*, 41, 1242 (1993)

55. Steinberg, D., Parathasarathy, S, Carew, T.E., Khoo, J.C., and Witztum, J.L. : Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.*, 320, 915 (1989)

56. Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M.,

Hollman, P.C.H., Katan, M.B., Kromhout, D. : Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease : the Zutphen Eldery Study. *Lancet*, 342, 1007 (1993)

57. Kanner, J., Frankel, E.N., Granit, R., German, B., Kinsella, J.E. : Natural antioxidants in grapes and wines. *J. Agric., Food Chem.*, 42, 64 (1994)

58. Sighleton, V.L. : Grapes and wine phenolics : background and prospects. In *Proceedings University California, Davis, Wine Grape Centennial Symposium*: Webb, A.D., Ed. : Department of Viticulture and Enology, University of California : Davis (1982)

59. Brasseur, T., Angenot, L., Pinemail, I., and Deby, C. : Antiradical antilipid peroxidation and antioxidant properties properties of flavonoids. *Bull Liaison Grape Polyphenols*, 13, 507 (1986)

60. Macheix, J.J., Fleurient, and A., Billot, J. : *Fruit phenolics*. CRC Press, Boca Raton, FL. (1990)

61. Frankel, E.N., Kanner, J., German, B., Parks, E., Kinsella, J.E. : Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, 341, 454 (1993)

62. Sato, M., Suzuki, Y., Ohkubo, T., Ramarathnam, N., Takeuchi, M., Ochi, H. : Correlation between phenolic contents in wines and superoxide radical scavenging activities : Distribution of the activities in wine fractions. *ASEV Jpn. Rep.*, 6, 233 (1995)

63. Ricardo da Silva, J.M., Darmon N., Fernandez, Y., Mitjavila, S. : Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *J.*

Agric. Food Chem, 39, 1549 (1991)

64. Kondo, K., Matsumoto, A., Kurata, H., Tanahashi, H., Koda, H., Amachi, T., Itakura, H. : Inhibition of oxidation of low-density lipoprotein with red wine. *Lancet*, 344, 1152 (1994)

65. St. Leger, A.S., Cochrane, A.L., Moore, F. : Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *Lancet*, (May 12), 1017 (1979)

66. Renaud, S., De Lorgeril, M. : Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet*, 339, 1523 (1992)

67. Criqui, M.H., and Ringel, B.L. : Does diet or alcohol explain the French paradox? *Lancet*, 344, 1719 (1994)

68. Kinsella, J.E., Frankel, E., German, B., Kanner, J. : Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technol.*, 147, 85 (1993)

69. Bisson, L.F., Butzke, C.E., Ebeler, S.E. : The role of moderate ethanol consumption in health and human nutrition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46, (1995)

70. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., and Nury, F.S. : In *Production wine analysis*, p.157 Van Nostrand Reinhold, New York. (1990)

71. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., and Nury, F.S. : In *Production wine analysis*, p.196 Van Nostrand Reinhold, New York. (1990)

72. Mitsuta, K., Mitsuta, Y., Kohno, M., Hiramatsu, M., Mori, A. : The application of ESR spin-trapping technique to the evaluation

of SOD-like activity of biological substances. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 63, 187 (1990)

73. Peynaud, E. : *Knowing and making wine*. John Wiley & Sons, New York. (1984)

74. Ough, C.S. and Amerine, M.A. : *Methods for analysis of musts and wines*. John Wiley & Sons, New York. (1988)

75. Waterhouse, A.L. : Wine and heart disease *Chemistry & Industry*, 5, 338 (1995)

76. Sefrani, M., Ghiselli, A., Ferro-Luzzi, A. : Red wine, tea, and antioxidants. *Lancet*, 344, 621 (1994)

77. Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M. : Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, 549 (1995)

78. Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Kinsella, J.E. : Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet*, 341, 1103 (1993)

79. Atkins, D.W. : 물리화학 p.565 일신사

80. Dougals, A.S. : 기기분석의 원리(3판) p.402 탐구당

81. Symons, M.C.R. : *Chemical and biochemical spectra of electron-spin resonance spectroscopy*. Wiley, N.Y. (1978)

82. Bard, A.J. : *Electrochemical methods*. Wiley, N.Y. (1980)

83. Zoecklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., and Nury, F.S. : In *Production wine analysis*. Van Nostrand Reinhold, New York. (1990)

84. Stevenson, D.D., and Simon, R.A. : Sensitivity to ingested metabisulfites in asthmatic subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 68, 26 (1981)

85. Eschenbruch R. : Sulfite and sulfide

formation during wine making. Am. J. Enol. Vitic., 25, 157 (1974)

86. FASEB (Federation of American Society for Experimental Biology) : The re-examination of the GRAS status of sulfiting agents, Bethesda, MD, p.96. (1985)

87. Manach, C., Texier, O., Régéat, F., Agullo, G., Demigné, C., and Révész, C. :

Dietary quercetin is recovered in rat plasma as conjugated derivatives of isorhamnetin and quercetin. J. Nutr. Biochem, 7, 375 (1996)

88. De Whalley, C.V., Rankin, S.M., Hout, J.R.S., Jessup, W., and Leakes, D.S. : Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. Biochemistry Pharmacology, 39, 1743 (1990)

Intellect is invisible to the man who has none.

지성이란 그것을 갖고 있지 않는 사람에게는 보이지 않는다.

- Arthur Schopenhauer -