



셀레늄 강화 시금치의 항산화 활성

송원영 · 전성식 · 최정화*

한국국제대학교 식품영양학과

Antioxidant Activities of Selenium-Treated *Spinacia oleracea* L.

Won-Yeong Song, Sung-Sik Chun, and Jeong-Hwa Choi*

Department of Food and Nutrition, International University of Korea, Jinju, Korea

(Received August 16, 2018/Revised September 1, 2018/Accepted September 12, 2018)

ABSTRACT - In the present study, we investigated the anti-oxidant activities of selenium-treated *Spinacia oleracea* L. by utilizing experiments in vitro assays. The selenium content of non-treated spinach in this study was noted at 61.19 µg/kg, whereby the selenium-treated spinach which was treated by a 2000 mg/kg selenium was 1000-fold diluted, and was reported to be about 4 times higher than that of non-treated spinach. In this case, the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity in the concentration of selenium-treated spinach, 0.1~1.0 mg/mL was measured as stronger than that of the identified non-treated spinach. By the same token, the DPPH radical activity of non-treated spinach and selenium-treated spinach was recorded as 46.05~52.75% and 49.52~59.09% respectively. It is emphasized that the 2,2'-azino-di-2-ethyl-benzthiazoline-sulphonate (ABTS) radical scavenging activity as revealed in the concentration of selenium-treated spinach, 0.1~1.0 mg/mL was noted as being stronger than that of non-treated spinach. The ABTS radical activity of non-treated spinach and selenium-treated spinach was 11.85~52.01% and 27.14~53.59% respectively. In this respect, the nitric oxide (NO) radical scavenging activity and reducing power activity in the concentration of selenium-treated spinach, 0.1~1.0 mg/mL was identified and noted as stronger than that of non-treated spinach. These results suggest that selenium-treated spinach could possibly be more useful as a potential antioxidant to improve human health outcomes, than the non-treated spinach.

Key words : Antioxidative, Free radical, Selenium, *Spinacia oleracea* L.

시금치는(*Spinacia oleracea* L.)는 명아주과에 속하는 일년생 저온성 작물로, 비타민 A의 전구체인 carotene과 ascorbic acid, 무기질, 엽산과 엽록소가 다량 함유되어 있어 위암, 대장암, 폐암 등의 항암효과와 함께 동맥경화를 예방하는 효과가 있다고 알려졌다^{1,2)}. 그 중 비타민 A는 채소 중에서 가장 많이 함유되어 있으며, 또한 강력한 항산화 작용이 알려져 있는 클로로필 성분이 다량 함유되어 있어 지속적으로 소비량이 증가되어지고 있다³⁾.

최근에는 서구화된 식습관과 더불어 미세먼지로 인한 활성산소의 증가로 체내 산화 및 노화진행의 촉진으로 천연식품 내 함유된 항산화성분에 대한 관심이 점차 증가되어지고 있다. 미네랄들은 미량의 농도일 때 적절한 대사와 건강에 필수적인 역할을 한다고 보고되었으며, 이에 관해

항산화 뿐만 아니라 다양한 생리활성에 관한 연구도 진행되어지고 있다^{4,5)}. 특히 생체 필수 미량원소인 셀레늄(Selenium, Se)은 식물체에 의해 토양으로부터 selenate나 selenite의 무기화합물 형태로 흡수되어 free radical로부터 세포를 보호하는 selenomethione 및 selenocysteine과 같은 유기화합물로 전환되면서 항산화작용을 가지는 것으로 보고되었다⁶⁾. Moriarty 등⁷⁾과 Flohe 등⁸⁾은 GSH-px와 같은 생체내 항산화효소에는 셀레늄을 함유하고 있고, 셀레늄이 부족한 상태에서는 GSH-px의 생산과 활성도를 감소시키므로 셀레늄의 섭취정도가 이 효소의 활성과 비례한다는 연구결과를 발표했다. 셀레늄은 또한 비타민 E 보다 항산화능이 2,000배에 달한다는 것이 밝혀졌다⁹⁾. 최근에는 이러한 셀레늄의 생리효과를 농업분야에 응용하여 셀레늄을 함유한 농작물을 재배하여 생산자는 기능성 농산물로 차별화하여 고소득을 올리고, 소비자는 셀레늄의 약리효과를 가장 안전한 식물성 유기셀레늄으로 식품을 통해 섭취하고자 하는 시도가 이루어지고 있다^{9,10)}. Mahn¹¹⁾은 셀

*Correspondence to: Jeong-Hwa Choi, Department of Food and Nutrition, International University of Korea, Jinju 52833, Korea
Tel: 82-55-751-8326, Fax: 82-55-751-8205
E-mail: jhappychoi@hanmail.net

레늄을 증가 처리하여 재배한 브로콜리에서 더 높은 항산화능을 나타내었다고 보고하였으며, Choi 등¹²⁾ 연구에서 또한 셀레늄이 함유된 양액으로 재배한 치커리에서 활성산소 소거능을 나타내어 식물 내 증가되어진 셀레늄이 항산화활성에 도움을 주었다. 이러한 연구들을 미루어 보면 식물체에 셀레늄을 강화하면 항산화활성이 증가되어진다고 기대되어지지만, 아직까지 셀레늄을 강화시킨 식물체들의 연구는 미비하며, 특히 여러 생리활성 기능을 가진 시금치 또한 활성산소 소거능에 관한 연구¹³⁾가 있음에도 불구하고, 셀레늄을 강화시킨 항산화효능의 상승효과에 대한 연구는 알려지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 시금치 내 증가된 셀레늄 함량을 셀레늄 강화처리를 한 후 시금치 내 증가된 셀레늄 함량을 측정하여 무처리 시금치와 비교하고, 처리된 셀레늄 강화 시금치의 항산화 활성을 농도별로 *in vitro* 실험을 통해 관찰하고자 하였다.

Materials and Methods

셀레늄 시금치 파우더 제조

본 실험에 사용된 시금치 중 남해 시금치(사계절 시금치, 겨울)는 남해군에서 재배한 생체를 직접 구입하여 각종 실험에 사용하였으며, 셀레늄 강화 남해 시금치는 시범포장에서(남해군 서면 서호리 571-2번지, 912 m²) 셀레늄 농도 2,000 mg/kg의 원비를 1,000배 희석하여 월 1~2회 엽면 시비하여 재배된 것을 채취하여 동결건조 하였다. 건조된 시금치 시료는 분쇄기(대성파워 믹서/분쇄기 DA-280G, Seoul, Korea)로 분쇄하여 제조된 60 mesh 분말을 시료로 사용하였다.

셀레늄 함량측정

셀레늄 함량은 채취된 시금치를 무작위 선별한 후 500 g 채취하여 증류수로 세척 건조 후 분석하였다. 시금치 잎의 셀레늄의 시료 0.2 g에 혼합산(70% 질산 5 mL + 98% 황산 5 mL)을 처리하여 160°C에서 6시간 가열하고 냉방 한 후 젤 상태가 될 때까지 증발시키고 증류수로 초기 부피만큼 채우고 난 후 유도 결합 플라즈마 질량 분광광도기(ICP-Mass spectrometer, ELAN6100, Perkin Elmer, Wellesley, MA, USA)로 분석하였다¹⁴⁾.

DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Blois 법¹⁵⁾을 변형하여 측정하였다. 각각의 농도 별 시료 1 mL에 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, MO, USA), 5 mg / 100 mL methanol, 2 mL를 혼합하여 실온에서 10분 반응시킨 후 ELISA reader (VERSA, Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 525 nm에서

측정하였다. 이를 3회 반복 실험을 통해 얻은 결과를 백분율(%)로 나타내었다. 식은 다음과 같다.

$$\text{전자공여능(\%)} =$$

$$(1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

ABTS radical 소거능 측정

Re 등¹⁶⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS[2,2-azinobis-(3-ethylbenzo-6-sulphonate)]용액(Sigma) 50 mL에 potassium persulfate (Sigma)를 2.4 mM이 되도록 용해시켜 암실에서 12-16시간 동안 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 희석시킨 ABTS 용액 3 mL에 시료 0.5 mL을 가한 후 ELISA reader (VERSA)를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였으며 이를 3회 반복 실험을 통해 얻은 결과를 백분율(%)로 나타내었다. 식은 다음과 같다.

$$\text{라디칼 소거능(\%)} =$$

$$(1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

환원력 측정

Oyaizu의 방법¹⁶⁾에 따라 시료액 1 mL에 200 mM 인산 완충액(pH 6.6) 및 1%의 potassium ferricyanide (Sigma) 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50°C의 수욕 상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA용액을 1 mL가하여 8,000 × g에서 10분간 원심 분리한 후 얻은 상층액 1 mL에 증류수 및 0.1%의 ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합시킨 후 ELISA reader (VERSA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도 값으로 나타내었다.

Nitric oxide (NO) 소거능 측정

Kato 등¹⁷⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 농도별 시료 0.5 mL에 10 mM sodium nitroprusside (Sigma)와 혼합하여 실온에서 180분간 방치한 후 이 반응 혼합액을 1% sulphanilamide (in 5% phosphoric acid)와 0.1% naphthylethylene diamide dihydrochloride를 넣어 실온에서 10분간 방치시킨 후 ELISA reader (VERSA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

본 연구의 실험 결과들은 3회 반복 측정하여 평균값 ± 표준편차로 나타내었으며, 모든 자료의 통계처리는 SPSS (Statistical Package for Science, version 18.0 SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 사용하여 처리하였다. 각 실험 농도별 표준차이를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며, 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test¹⁸⁾에 의해 농도 간의 유의성을 분석하였다.

Table 1. Contents of selenium of non-treated spinach and selenium-treated spinach

Groups	Non-treated spinach	Selenium-treated spinach ¹⁾
	(μg/kg)	
Selenium	61.19 ± 2.35	239.0 ± 3.73

¹⁾Selenium treated spinach is cultivated by foliar application with 2000 mg/kg selenium which is diluted in 1000-fold concentration. All values in table mean ± SD (n ≥ 3).

Results and Discussion

시금치의 셀레늄 함량

셀레늄은 식물체에 의해 토양으로부터 무기화합물 형태로 흡수된 후, 유기화합물로 전환되면서 항산화작용을 가지는 것으로 보고되었으며, 식물체내의 유기셀레늄은 무기셀레늄에 비해 흡수율이 높고, 독성이 적으며 체내 축적이 용이하다고 알려져 있다⁶⁾. 무처리 시금치와 셀레늄을 처리한 후 시금치의 셀레늄 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 무처리 시금치의 셀레늄 함량은 61.19 μg/kg였으며, 2,000 mg/kg 원비 셀레늄을 1,000배 희석하여 처리한 셀레늄 강화 처리 시금치의 셀레늄 함량은 239.0 μg/kg로 약 3.9배의 셀레늄 함량이 증가되어졌다. 셀레늄을 토마토에 엽면시비 처리하면 셀레늄의 흡수율이 증가된다는 연구¹⁹⁾와 더불어 본 실험에서 시금치에 셀레늄을 엽면시비 처리한 결과 증가된 셀레늄 함량은 항산화 작용에 더 강력히 작용가능하리라 사료되어진다.

DPPH radical 소거능

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제 방향족 아민류 등에 환원되어 색이 탈색되는 데 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질의 전자공여능을 측정하는 데 많이 이용되고 있다. 이러한 전자공여능은 활성라디칼에 전자를 공여하여 인체 내에서 활성라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 목적으로 이용된다. 이는 식물성 추출물의 항산화활성을 간단하게 측정할 뿐만 아니라 실제 항산화활성과도 연관성이 있다. 무처리 시금치 및 셀레늄 강화 시금치의 DPPH radical 소거능을 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 각각의 시료의 처리농도는 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL이다. 무처리 시금치의 경우에는 각각의 처리농도에서 46.05%, 48.51%, 51.94%, 54.15%, 52.75%의 소거 효과를 나타내었으며, 셀레늄 강화 시금치의 경우에는 각각의 처리농도에서 49.52%, 55.85%, 59.64%, 60.45%, 59.09%의 소거 효과를 보였다. 대조군인 무처리 시금치에 비해 셀레늄 강화 시금치가 모든 농도에서 약 11~12% 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. Na 등²⁰⁾의 보고에서 시금치에는 항산화력의 지표가

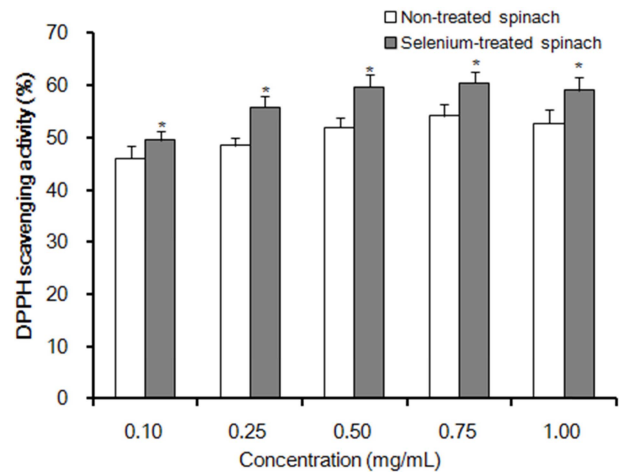


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of selenium-treated spinach. All values in figure are mean ± SD (n ≥ 3). *Statistical significance was determined by Tukey's test at $P < 0.05$. vs non-treated spinach.

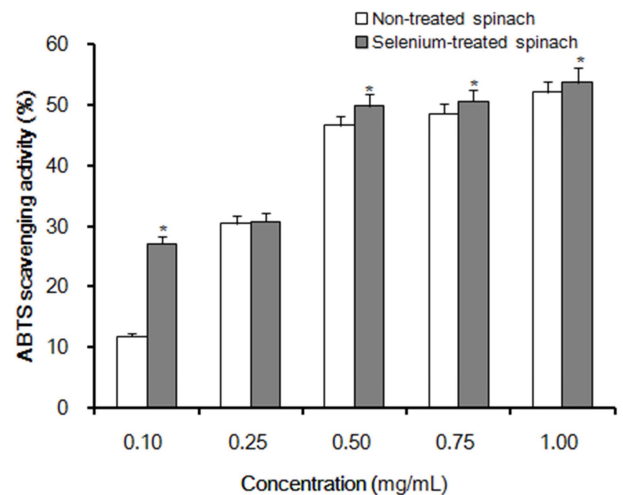


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of selenium-treated spinach. All values in figure are mean ± SD (n ≥ 3). *Statistical significance was determined by Tukey's test at $p < 0.05$. vs non-treated spinach.

되는 페놀성물질이 102.32~186.45 mg% 정도 함유 되어있다고 보고하였다. 모과 에탄올 추출물의 항산화능을 측정된 연구에서 페놀함량이 높은 용매분획물에서 전자공여능도 우수하였다는 보고²¹⁾에서와 같이 시금치에 함유된 페놀성물질은 DPPH radical 소거에 기여 하였으리라 생각된다. 또한 Molan 등²²⁾의 연구에 의하면 녹차에 셀레늄을 처리한 결과 셀레늄을 처리하지 않은 녹차에 비해 DPPH radical 소거능을 증가시켰다고 보고하였다, 이러한 결과를 미루어 볼 때 셀레늄 처리로 인해 시금치의 항산화활성이 더욱 증가한 것으로 기대되어진다.

ABTS radical 소거능

ABTS와 DPPH는 라디칼의 일종이나, DPPH는 자유 라디칼이며 ABTS는 양이온 라디칼이라는 점에서 차이가 나며 항산화 물질의 종류에 따라 각각의 라디칼에 대한 결합정도가 다르므로 항산화능에 차이를 보이게 된다. ABTS radical은 항산화능의 차이에 의해 청록색이 탈색되는데 이를 흡광도 수치로 나타내어 항산화 활성을 알 수 있다²³⁾. 무처리 시금치 및 셀레늄 강화 시금치의 ABTS 라디칼 소거능을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 각각의 시료의 처리 농도는 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL이다. 무처리 시금치의 경우에는 각각의 처리농도에서 11.85%, 30.44%, 46.58%, 48.51%, 52.01%의 소거효과를 나타내었으며, 셀레늄 강화 시금치의 경우 27.14%, 30.73%, 49.76%, 50.52%, 53.59%의 소거효과를 보였다. 특히 0.10 mg/mL의 낮은 농도에서는 22.9%의 높은 증가율을 나타냈으며, 셀레늄 강화 시금치의 경우 무처리 시금치에 비해 유의적으로 높은 소거능력을 보여주었다. Choi 등¹²⁾은 양액에 수경재배한 치커리에서 셀레늄 또는 3가 크롬을 첨가할 경우 폴리페놀은 약 4배, 플라보노이드 함량이 약 2.7~3.4배가 증가되어졌고, 특히 치커리에 셀레늄을 첨가할 시 우수한 ABTS 라디칼 소거능이 관찰되어졌다고 보고하였다. 이러한 결과를 미루어 ABTS 라디칼 소거능은 전자공여능과 상계 관계가 높은 데, 그 활성에는 시금치가 함유하는 폴리페놀, 플라보노이드와 비타민 C¹⁾ 외에도 산소 대사과정에서 생성된 free radicals로부터 세포를 지키는 항산화효소의 중요한 구성성분인 셀레늄이 항산화 생리활성에 기여한 것으로 사료된다.

환원력

항산화 활성의 여러 가지 기작 중에서 활성산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력을 환원력이라고 하며 물질의 환원력은 항산화능력과 관련이 있는 중요한 인자로서 항산화제와 같이 환원력을 가진 물질은 Fe³⁺-ferricyanide의 Fe³⁺복합체를 형태로 환원시켜 푸른색을 띄게 되고 이것을 700 nm에서 측정하는 데 흡광도 수치는 그 자체가 증가할 수 록 높은 환원력을 나타낸다. 무처리 시금치 및 셀레늄 강화 시금치의 환원력을 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. 각각의 시료의 처리 농도는 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL이다. 무처리 시금치의 경우에는 각각의 처리 농도에서 0.103, 0.130, 0.174, 0.224, 0.266의 환원력을 나타내었다. 셀레늄 강화 시금치의 경우 0.120, 0.150, 0.200, 0.250, 0.295로 더 높은 환원력을 보였다. Zekovic 등²⁴⁾의 연구에서 셀레늄 함량이 약 5배가 높은 뽕나무버섯이 말불버섯에 비해 더 높은 환원력을 나타내었다고 보고 한 것과, Choi 등¹²⁾의 양액만으로 재배한 치커리에 비해 양액에 셀레늄을 첨가한 치커리에서 환원력이 유의적으로 증가하는 경향을 나타낸 것과 유사한 결과를 나타내었다.

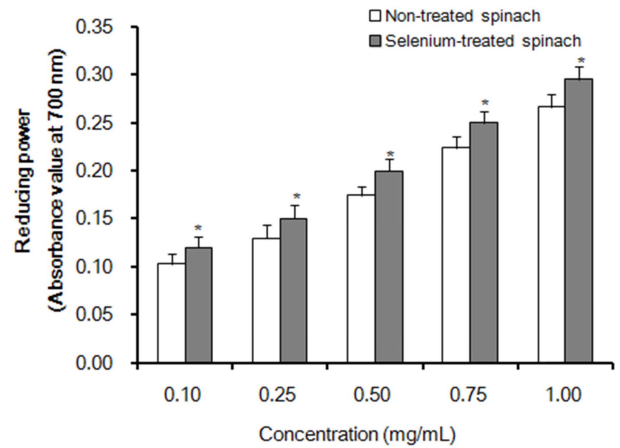


Fig. 3. Reducing power activity of selenium-treated spinach. All values in figure are mean ± SD (n ≥ 3). *Statistical significance was determined by Tukey's test at p < 0.05. vs non-treated spinach.

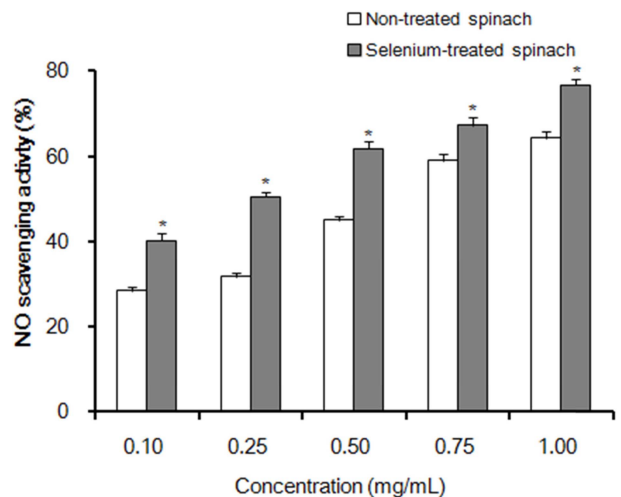


Fig. 4. Nitric oxide (NO) scavenging activity of selenium-treated spinach. All values in figure are mean ± SD (n ≥ 3). *Statistical significance was determined by Tukey's test at p < 0.05. vs non-treated spinach.

또한 Schwarz 등²⁵⁾의 연구에서 새싹을 재배용수에 셀레늄을 첨가하여 발아시킨 후 셀레늄 함량을 측정한 결과 재배한 새싹 내에 셀레늄 함량이 증가되었으며, 항산화 활성 또한 증가시켰다는 보고와 같이 본 연구에서도 셀레늄 강화 시금치 내 증가되어진 셀레늄은 여러 생리활성 성분들과 더불어 더 높은 환원력을 유도시킨 것이라 사료되어진다.

NO radical 소거능

Nitric oxide (NO)는 생체 내에서 기질인 L-arginine이 nitric oxide synthase (NOS)의 작용으로 citrulline과 함께 생성된다. 생체 내에서 다량으로 생성된 NO는 미토콘드

리아의 기능 억제 FeS 함유 효소기능저하 DNA 손상 유발 및 각종 효소의 작용을 억제하는 것으로 알려져 있다. 활성산소 중 하나이며 최근 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO 소거활성을 관찰 한 결과는 Fig. 4와 같다. 각각의 시료의 처리 농도는 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL이다. 무처리 시금치의 경우에는 각각의 처리 농도에서 28.45%, 31.74%, 45.00%, 59.02%, 64.20%의 소거 효과를 나타내었다. 셀레늄 강화 시금치의 경우 40.26%, 50.55%, 61.76%, 67.29%, 76.62%의 NO 소거 활성을 나타내었다. 같은 농도에서의 무처리 시금치 대조군과 비교 할 경우 셀레늄 강화 시금치가 NO 소거 활성이 유의적으로 높게 나타났다. Kim 등²⁶⁾의 연구에 의하면 유기농 야채의 일반 성분 함량이 일반야채보다 높았고, 유기농 케일에서는 carotene 및 수용성 비타민, 특히 무기질 함량도 일반 농사로 지은 케일보다 약 17.9% 더 높았다. Kim 등²⁷⁾의 연구에서는 유기농 및 일반농 케일로 NO 소거능을 측정하였는데, 그 결과 유기농 케일에서 농도 의존적인 NO 소거능을 관찰하였고, 특히 유기농 케일 착즙액은 NO 소거능이 100 µL/mL의 농도에서 78.3%로 일반농 케일 착즙액의 72.4%보다 높은활성을 나타내었다. Ha 등²⁸⁾의 연구에서 여러 생리활성성분이 있는 적양배추추출물을 0.125, 0.25, 0.5 및 1.0 mg/mL 농도로 처리한 경우, NO 소거활성이 유의적으로 감소하였는데, 이는 본 실험에서 사용된 시금치의 결과와도 유사한 결과를 나타내었다. 무기질과 같은 생리활성 성분은 지질과산화에도 관여하는 NO radical 소거능에 탁월하게 작용하였다고 사료되어지며, 셀레늄 강화 시금치에서 특히 우수한 NO radical 소거능을 보인 것은시금치 속의 비타민 A 전구체인 카로틴 및 클로로필 등과 같은 항산화 성분들이 셀레늄에 의해 NO 소거활성의 상승효과에 관여하였으리라 사료되어진다.

Acknowledgement

본 논문은 2018학년도 한국국제대학교 교내연구비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

국문요약

본 연구에서는 셀레늄 강화 시금치의 항산화 활성을 측정하여 무처리군과 비교하여 증가된 항산화 활성을 관찰하고자 하였다. 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL의 농도를 이용하여 무처리 시금치와 셀레늄 강화 시금치의 항산화 활성을 *in vitro* 실험을 통해 관찰하였다. 셀레늄 함량은 무처리 시금치의 경우 61.19 ± 2.35 mg/kg, 셀레늄 강화 시금치의 경우 239.0 ± 3.73 mg/kg으로 셀레늄 강화시금치에서 약 3.9배 증가되었다. DPPH radical 소거능은 무처리 시금치에 비해 셀레늄 강화 시금치가 모든 농도에서

약 11~12% 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. ABTS radical 소거능은 0.10 mg/mL의 낮은 농도에서 무처리 시금치에 비해 셀레늄 강화시금치에서 22.9%의 높은 증가율을 나타냈으며, 셀레늄 강화 시금치의 경우 무처리 시금치에 비해 유의적으로 높은 소거 능력이 나타났다. NO radical 소거능 또한 같은 농도에서 비교했을 때 셀레늄 강화 시금치의 경우 무처리 시금치에 비해 유의적으로 높은 소거 능력을 보여주었으며, 활성 산소 중 및 유리기에 전자를 공여하는 환원력에서도 무처리 시금치에 비해 셀레늄 강화 시금치에서 더 높은 활성이 나타났다. 이러한 결과는 시금치에 함유된 여러 항산화성분과 더불어 강화 처리로 인해 증가된 셀레늄이 효과적으로 여러 활성산소종의 소거에 관여하여 항산화능의 상승효과에 관여하였다고 사료되어진다.

References

1. Lim, S.J.: Retention of ascorbic acid in vegetable as influenced by various blanching methods. *Korean J. Soc. Food Sci.*, **8**, 411-419 (1992).
2. Maeda, N., Hada, T., Murakami-Nakai, C., Kuriyama, I., Ichikawa, H., Fukumory, Y., Hiratsuka, J., Yoshida, H., Sakaguchi, K., Mizushina, Y.: Effects of DNA polymerase inhibitory and antitumor activities of lipase-hydrolyzed glycolipid fractions from spinach. *J. Nutr. Biochem.*, **16**, 121-128 (2005).
3. Matsubara, K., Matsumoto, H., Mizushina, Y., Mori, M., Nakajima, N., Fuchigami, M., Yoshida, H., Hada, T.: Inhibitory effect of glycolipids from spinach on in vitamin and ex vivo angiogenesis. *Oncol. Rep.*, **14**, 157-161 (2005).
4. Combs, G.F.: Selenium I global food systems. *Brit. J. Nutr.*, **85**, 517-547 (2001).
5. Choi, Y.S., Hesketh, J.E. Nutritional biochemistry of selenium. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**, 661-670 (2006).
6. Ellis D.R., Salt, D.E.: Plants selenium and human health. *Cur. Opin.Plant Biol.*, **6**, 273-279 (2003).
7. Moriarty, P.M., Picciano, M.F., Beard, J.L., Reddy, C.C.: Classical selenium-dependent glutathione peroxidase expression is decreased secondary to iron deficiency in rats. *J. Nutr.*, **125**, 293-301 (1995).
8. Flohe, L., Günzler, W.A., Schock, H.H.: Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett.*, **32**, 132-134 (1973).
9. Kim, H.J., Kim, W.S., Choi, H.S.: Effect of selenium treatment the quality of wonwhang pear fruit. *Korean J. Food Preserv.*, **16**, 838-842 (2009).
10. Park, K.W., Yang, D.S.: Production of functional Korean ginseng by selenium supplement in hydroponic system. *Acta. Hortic.*, **629**, 307-331 (2004).
11. Mahn, A.: Modelling of the effect of selenium fertilization on the content of bioactive compounds in broccoli heads. *Food Chemistry.*, **233**, 492-499 (2017).
12. Choi, J.H., Park, Y.H., Lee, S.G., Lee, S.H., Yu, M.H., Lee, S.H., Park, S.H., Lee, I.S., Kim, H.J.: Antioxidant activities

- and α -Glucosidase inhibition effects of chicories grown in hydroponics added with Cr^{3+} or selenium. *J. Fd. Hyg. Safety*, **29**, 53-39 (2013).
13. Lee, S.Y., Jang, M.S., Kim, G.H.: Antioxidant activities and quality characteristics of organic and conventional Spinach (*Spinacia oleracea*). *J. Korean Soc. Food Cult.*, **30**, 813-817 (2015).
 14. Mercedes Díaz-Somoano, M., Antonia López-Antón M., Rosa Martínez-Tarazona.: Determination of selenium by ICP-MS and HG-ICP-MS in coal, fly ashes and sorbents used for flue gas cleaning. *Fuel*, **83**, 231-235 (2004).
 15. Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200 (1958).
 16. Re, R.N., Pellegrini, A., Proteggente, A., Pannala, M., Yang, M., Rice-Evans, C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 1231-1237 (1999).
 17. Oyaizu, M.: Studies on products of browning reactions antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.*, **44**, 307-315 (1986).
 18. Kato H., Lee, I.E., Chyuen, N.V., Kim, S.B., Hayase, F.: Inhibitory of nitrosamine formation by non-dialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1333-1338 (1987).
 19. Sreel, R.G.D., Torrie, J.H.: Principles and procedures of statistics. McGraw Hill, New York, NY, USA (1990).
 20. Lee, C.K., Cho, K.C., Lee, J.H., Cho, J.Y., Seo, B.S., Yang, W.M.: Effects of selenium supplying methods on the growth and Se uptake of hydroponically grown tomato plants. *J. Bio-Environment Control*, **4**, 284-288 (2005).
 21. Na, H.S., Kim, Y.J., Mun, H., Choi, G.C., Jeong, S.H., Cho, J.Y., Ma, S.J.: Physicochemical properties of shinan seomcho (*Spinacia oleracea* L.). *Korean J. Food Preserv.*, **5**, 652-658 (2010).
 22. Lee, Y.M., Shin, H.D., Lee, J.J., Lee, M.Y.: Antioxidative effect of chaenomelis fructus ethanol extract. *Korean J. Food Preserv.*, **14**, 177-182 (2007).
 23. Molan, A.L., Flanagan, J., Wei, W., Moughan, P.J.: Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea. *Food Chem.*, **114**, 829-835 (2009).
 24. Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V.: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Sci.*, **84**, 407-412 (1993).
 25. Zekovic, Z., Vidovic, S., Mujic, I.: Selenium and zinc content and radical scavenging capacity of edible mushrooms *Armillaria mellea* and *Lycoperdon saccatum*. *Croat. J. Food Sci. Technol.*, **2**, 16-21 (2010).
 26. Schwarz, K., Mertz, W.: Chromium (III) and the glucosetolerance factor. *Arch. Biochem. Biophys.*, **85**, 292-295 (1959).
 27. Kim, H. Y., Lee, K. B., Lim, H. Y.: Contents of minerals and vitamins in organic vegetables. *Korean J. Food Preserv.*, **11**, 424-429 (2004).
 28. Kim, J.D., Lee, O.H., Lee, J.S., Park, K.Y.: Antioxidative effects of common and organic kale juices. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**, 668-674 (2014).
 29. Ha, H.J., Lee, C.B.: Antioxidant and anti-inflammation activity of red cabbage extract. *Korean J. Culinary Res.*, **20**, 16-26 (2014).