

감잎 열수추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과

문숙희* · 박건영†

*경남전문대학 식품영양과
부산대학교 식품영양학과

Antimutagenic Effects of Boiled Water Extract and Tannin from Persimmon Leaves

Suk-Hee Moon* and Kun-Young Park†

*Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam Junior College, Pusan 616-701, Korea
Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract

Antimutagenic effects of boiled water extract and tannin from persimmon leaves were studied by using Ames test, spore rec assay and SOS chromotest. Strong antimutagenic activities toward aflatoxin B₁ (AFB₁), dimethyl-amino-biphenyl (DMAB), N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) and 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO) were observed when boiled water extract and tannin from the persimmon leaves were added in the *Salmonella typhimurium* TA100. In spore rec assay using *Bacillus subtilis* H17 (rec⁺) and M45 (rec⁻), boiled water extract and tannin from the persimmon leaves considerably inhibited the mutagenesis induced by MNNG. In SOS chromotest using *Escherichia coli* PQ37, these samples also exhibited strong antimutagenic activity toward 4-NQO. The tannin was more effective than boiled water extract of persimmon leaves in the antimutagenicity tests.

Key words : antimutagenicity, persimmon leaves, boiled water extract, tannin

서 론

감은 한국, 중국, 일본이 원산지로 국내에서 대량 생산되며 병충해의 피해가 적고 여러가지 생리효능이 있다고 알려져 전통적으로 애용되는 과일이다. 또한 과실은 감미가 강하여 우리나라 사람들이 좋아하고, 포도당, 과당 등의 당류가 풍부한 알칼리성 식품으로 장의 수축과 장 분비액의 분비를 촉진하고 기침을 멎게 하는 효능을 가진다고 알려져 곶감이나 홍시로 이용되는 등 우리나라에서는 비교적 기온이 따뜻한 경상도, 전라도 및 충북지방에서 많이 재배되고 있다. 감잎은 고혈압, 동맥경화, 심장병 등의 성인병과 위궤양, 십이지장궤양, 당뇨병 등의 만성질환에도 효과가 있다고 하며, 암 예방효과가 있다고 알려진 비타민 A, C, D 및 염록소를 풍부하게 함유하고 있으며, 그외 비타민 B₁, 판토텐산,

엽산의 함유량도 많아 감잎차의 경우 성인병 예방을 위한 좋은 식품으로 권장되고 있다(1). 또 감잎에 많이 들어있는 색소성분인 염록소는 3-amino-1-methyl-5H-pyridine (4,3b) indole (Trp-P-2)를 포함한 식품의 열분해 돌연변이 물질, 담배연기 응축물 및 benzo(a)pyrene (BP) 등의 돌연변이성을 억제한다고 보고된 바 있으며(2-4), Lawson 등(5)에 의하면 V79 포유류세포의 항돌연변이 실험에서 클로로펠이 N-methyl-N-nitrosourea (MNU)와 2-aminoanthracene (2-AA)의 돌연변이성을 억제하며, 클로로펠은 Trp-P-2와 복합체를 형성함으로써 클로로펠이 antigenotoxic effect를 나타낸다고 한다. 한편, 감과실 및 감잎의 맵은 맛 성분인 탄닌은 여러가지 생물학적 활성과 함께 뱀독소 및 박테리아 독소를 해독하는 작용(6), 면역기능 부활작용, 활성산소 유리기 소거작용(7) 등이 알려져 항암성이 기대되며, 감잎으로부터 분리한 플라보노이드가 종양세포의 증식을 억제한다고 알려져 있다(8).

^{*}To whom all correspondence should be addressed

본 연구에서는 감잎의 열수 추출물과 함께 감잎(차)로부터 탄닌을 추출하여 이들의 항돌연변이 효과를 Ames test, spore rec assay 및 SOS chromatotest 등을 이용하여 그 활성을 검토해 보았으며 감잎 탄닌과 녹차 탄닌의 항돌연변이 효과도 비교해 보았다.

재료 및 방법

시료의 조제

감잎은 경남 하동군 회개면 탑리에서 6~7월에 채집한 삼지 풍종의 감잎으로 감잎의 열수 추출물 시료는 전조 분쇄한 감잎에 소량의 증류수를 넣고 120°C에서 1시간 가열한 뒤 감압 농축하고 이를 cellulose membrane (Sigma Chemical Co., USA)으로 투석한 후 동결건조하여 조제하였고, 감잎(차) 및 녹차로 부터의 탄닌은 Okonogi 등 (6)의 방법에 의해 분리하였다. 즉, 전조 분쇄한 100g의 감잎에 소량의 증류수를 넣고 120°C에서 1시간 가열하여 150ml 아세톤으로 추출한 뒤 농축하였다. 농축액에 메탄올 100ml를 넣고 여과(여과지 Whatman No. 2)한 뒤, 이 여과액에 디에틸에테르 80ml를 넣고 염산을 이용하여 pH 4.0으로 맞춘 뒤 cellulose membrane으로 투석한 후 동결건조하여 분말상의 탄닌을 얻었으며 추출된 탄닌은 UV spectrum, IR, HPLC 등을 이용하여 탄닌인지를 검토하였다(9). 한편 감잎차는 진식품(주)으로 부터 구입하였고 녹차시료는 만수 설녹차(닦음차)로 태평양화학(주)으로 부터 구입하여 사용하였다.

항돌연변이 실험

Ames test

시험 균주는 *Salmonella typhimurium* TA100으로 histidine 요구성 돌연변이체이며 미국의 California 대학의 B. N. Ames 박사로 부터 제공받았다. 실험 전에 균들은 정기적으로 histidine 요구성, deep rough character, UV 감수성 및 R factor 존재 등의 genotypes를 확인한 후 시험균주로 사용하였다. 항돌연변이 실험을 위한 S9 mixture, 배지, 필요한 시약의 조제는 Maron과 Ames(10)의 방법에 따라 행하였으며 Matsushima 등(11)의 방법에 따라 실험을 행하였다. 즉, 각 cap tube를 ice bath에 보관하면서 S9 mix 0.5ml(또는 인산 완충액 0.5ml), 하루밤 배양된 균주($1\sim2\times10^6$ cells/ml) 0.1ml, mutagen 50μl와 시료 50μl씩을 시험판에 첨가한 후 가볍게 vortex하고 37°C에서 20분간 예비 배양하였다. 45°C에 보관중이던 top agar 2ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex한 후

minimal glucose agar plate에 도말한 다음 37°C에서 48시간 배양하고 revertant 숫자를 계수하였다. 한편 균주에 대해 시료의 독성 유무를 살펴보기 위해 독성 실험을 행하였으며 독성이 나타나지 않는 시료의 농도 범위 내에서 항돌연변이 실험을 행하였다.

Spore rec assay

Hirano 등(12) 및 Kada 등(13)의 방법에 따라 *B. subtilis* H17 (*rec⁺*)과 M45 (*rec⁻*) 포자를 조제하였다. Spore agar plate를 조제하기 위해 nutrient broth 8g, Bacto agar 15g을 각각 2개씩 증류수에 용해한 후 가압멸균(121°C, 20min)하여 45°C로 식힌 후 여기에 M45 및 H17 포자 혼탁액을 각 배지에 넣어 혼합하였다(포자 혼탁액 1ml/배지 10ml). 이것을 멸균된 petri dish에 분주하여 고화시킨 후 이 위에 paper disc (Toyo Co., Japan)를 고정시키고 미리 배양(37°C, 30min)하여 반응시킨 MNNG와 시료를 paper disc에 주입한 후 4°C에서 8시간 동안 냉온 배양하고 다시 37°C에서 24시간 배양시켜 각 paper disc 주위에 생성된 생육 저지대의 직경을 측정하여 항돌연변이성의 유무를 측정하였다(14).

SOS chromatotest

Quillardet의 방법을 변형시킨 백과 합(15)의 방법을 사용하였다. 냉동 보관된 균주 50μl를 5ml의 L medium에 접종하고 37°C에서 흡광도가 0.3~0.4에 이를 때 까지 2시간 동안 전탕배양시킨 후, 여기서 얻은 균주를 L medium에 1/10로 퀴석하였다. 각 농도별로 준비된 시료와 돌연변이 유발물질이 혼합된 것 20μl를 미리 분주해둔 96 well plate의 각 well에 위의 퀴석된 균주 100μl씩 분주하고 90분간 37°C에서 전탕 후 SOS 반응을 유도한 후 한쪽에는 β-galactosidase의 활성 측정을 위해 ONPG (*o*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside) 100μl, 다른쪽에는 alkaline phosphatase의 활성 측정을 위해 PNPP (*p*-nitrophenyl phosphate disodium) 100μl를 첨가하였다.

발색 시간은 10분으로 하였으며 β-galactosidase는 1.5M Na₂CO₃ 100μl, alkaline phosphatase는 1M HCl 50μl로 흐소에 의한 발색반응을 정지시키고 5분 후 alkaline phosphatase쪽에 50μl의 2M Tris buffer를 첨가하여 HCl을 중화하고 spectrophotometer로 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 O.D. 420nm 값은 Miller(16)의 공식에 의해 enzyme unit (Eu) 값을 구하였다.

$$Eu = \frac{(1000 \times A_{420})}{t(\text{min})}$$

통계분석

처리군 사이의 통계적 차이를 측정하기 위해 Student's t-test(17)를 이용하여 통계분석하였다.

결과 및 고찰

감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌의 Ames test에 의한 돌연변이 저해 효과를 살펴본 결과는 Fig. 1 및 2와 같다. 즉 AFB₁과 DMAB와 같은 간접 돌연변이원에 대해서는 감잎 열수 추출물의 농도에 비례하여 강한 항돌연변이 효과를 나타내어 열수 추출물 5% 첨가시 이들 간접 돌연변이원에 대한 돌연변이 유발 억제 효과가 85~95%인 반면에 MNNG, 4-NQO와 같은 직접 돌연변이원에 대한 돌연변이 저해효과는 50~80% 정도로 다소 낮았다. 감잎 탄닌의 경우도 감잎 열수 추출물과 마찬가지로 직접 돌연변이원(MNNG, 4-NQO) 보다는 간접 돌연변이원(AFB₁, DMAB)에 대한 돌연변이 저해효과가 훨씬 커으며 같은 농도에서 열수 추출물 보다는 항돌연변이 활성이 크게 나타났다. 또한 감잎 열수 추출물의 주활성물질은 탄닌성분으로 사료되지만 그외의 활성성분의 분획에 의한 확인동정이 필요하다고 생각된다.

Spore rec assay는 야생균주인 *Bacillus subtilis* strain H17 Rec⁺와 H17에 비해 여러가지 화학적인 돌연변이

원에 대해 50배나 민감하여 세포의 DNA에 큰 손상을 주게 되는 M45 Rec⁻를 사용하여 이들의 생육저지대의 차이를 조사함으로써 시료의 항돌연변이 효과를 검토하는 것이다(14). Rec assay를 이용하여 돌연변이원인 MNNG에 대한 감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과를 살펴 본 결과 대조군인 MNNG(0.015μg/disc)에 의한 생육저지대의 차이는 25mm인데 반해 열수 추출물 2.5%와 5.0%의 경우 각각 13mm 그리고 10mm로 농도에 의존해서 MNNG의 돌연변이성을 억제하였고, 감잎 탄닌의 경우 2.5%와 5.0% 첨가시 생육저지대의 차이가 각각 11mm, 6mm로 역시 농도에 의존해서 MNNG에 대해 강한 항돌연변이 활성을 나타내었다(Table 1).

감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과는 SOS chromotest로도 확인하였다. Table 2에서 보듯이 감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌은 모두 농도에 비례해서 4-NQO에 대하여 SOS response를 억제하여 감잎 열수 추출물의 경우 250μg/ml와 500μg/ml 농도로 첨가되었을 때 4-NQO의 돌연변이성이 각각 65%와 86% 억제되었으며, 감잎 탄닌의 경우 250μg/ml로 SOS system에 첨가했을 때 4-NQO에 대한 항돌연변이 효과가 92%에 달하였다. Ames test에서와 마찬가지로 SOS chromotest에서도 감잎의 열수 추출물 보다는 감잎 탄닌이 항돌연변이 효과가 더 크게 나타났다.

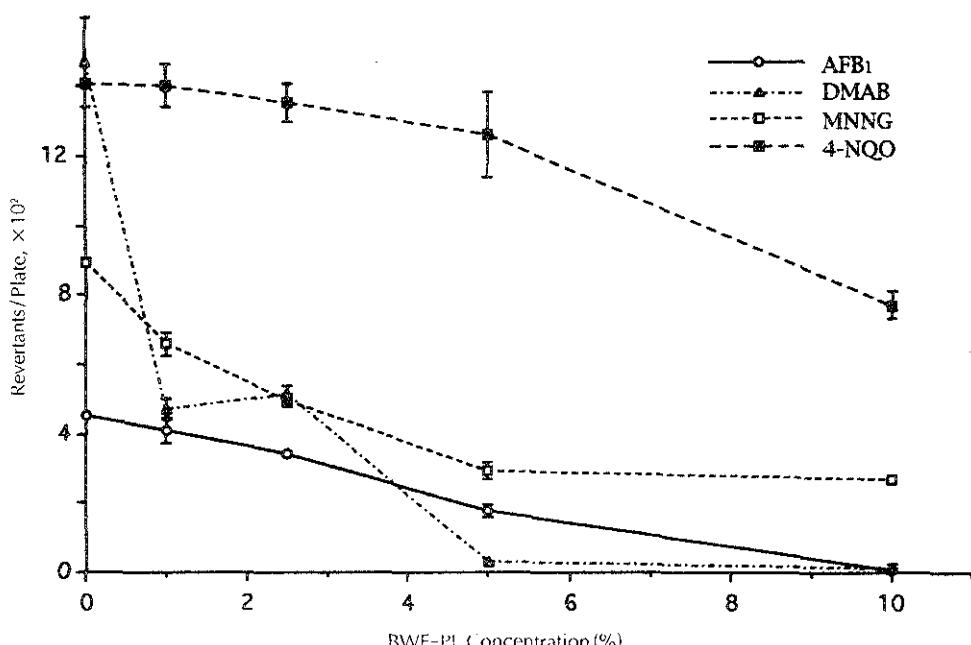


Fig. 1. Effect of boiled water-extract of persimmon leaves (BWE-PL) on the inhibition of aflatoxin B₁(AFB₁, 1μg / plate), 3,2'-dimethyl-4-amino-biphenyl (DMAB, 10μg / plate), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.5μg / plate) and 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO, 0.25μg / plate) mutagenicities in *Salmonella typhimurium* TA100.

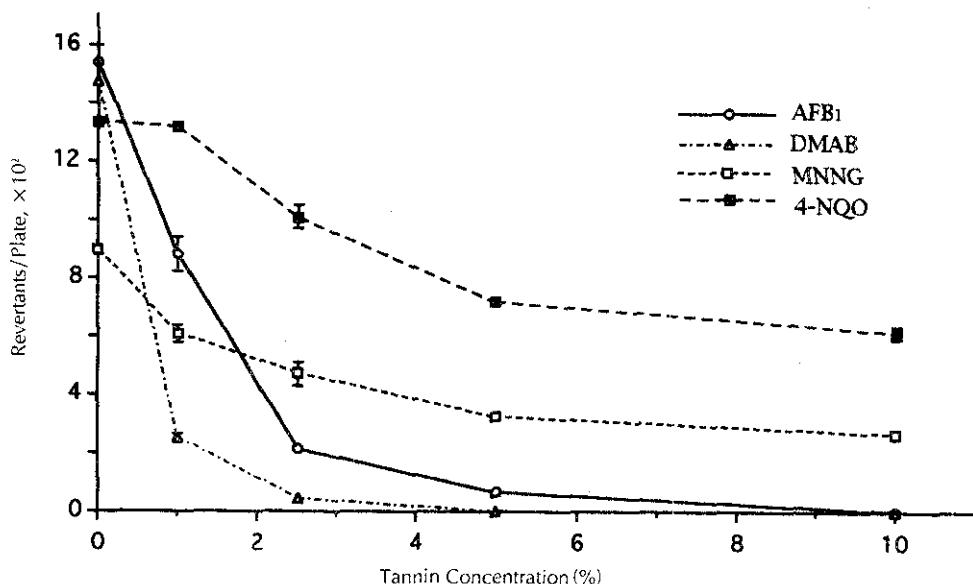


Fig. 2. Effects of tannin extracted from persimmon leaves on the inhibition of aflatoxin B₁ (AFB₁, 1 µg/plate), 3,2'-dimethyl-4-amino-biphenyl (DMAB, 10 µg/plate), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.5 µg/plate) and 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO, 0.25 µg/plate) mutagenicities in *Salmonella typhimurium* TA100.

Table 1. Inhibitory effects of boiled water extract (BWE-PL) and tannin extracted from the persimmon leaves on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.015 µg/disc) in the spore rec assay

Sample ^{a)}	Concentration	Inhibition zone (mm)		Difference	Conclusion
		M45 (Rec ⁻)	H17 (Rec ⁺)		
Control		25	0	25	-
BWE-PL	2.5	27	14	13	++
	5.0	27	17	10	++
Tannin	2.5	27	16	11	++
	5.0	26	20	6	+++

^{a)}Dose of the samples was 20 µl/disc.

- : No antimutagenicity or mutagenicity (Length of inhibition zone is more than 25 mm)

+ : Weak or no antimutagenicity (17~25)

++ : Moderate antimutagenicity (9~16)

+++ : Strong antimutagenicity (0~8)

감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과는 이와같이 여러 실험계에서 모두 나타났으며, 감잎 열수 추출물 보다 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과가 더 크게 나타났다. 이는 열수 추출물에 함유된 탄닌의 농도에 기인하리라 생각된다. Jain 등 (18)은 녹차의 추출물이 rat의 소화관에서 뿐만 아니라 *in vitro*에서도 MNNG의 돌연변이 활성을 억제한다고 하였으며, 이는 녹차 추출물의 주 구성성분인 카테킨 때문이라고 하였다 (19). 이러한 catechins의 작용은 발암의 개시단계와 촉진단계 모두에 관여한다는 것이 여러 연구자에게 의해서도 밝혀

진 바 있으며 (18, 20-25), 이외에도 차 추출물에는 뜨거운 물에 녹는 구성성분들이 많으므로 이들의 단독 또는 상승효과도 고려해야 할 것이다 (26).

Fig. 3은 AFB₁ 및 MNNG에 대한 감잎차 탄닌과 녹차 탄닌의 돌연변이 억제효과를 검토한 결과이다. 감잎차 탄닌 및 녹차 탄닌의 농도가 0.5, 1.0, 2.5, 5.0%로 증가함에 따라 AFB₁의 돌연변이성이 농도에 비례해서 현저히 억제되어, 감잎차 탄닌의 경우 65, 79, 85, 91%, 녹차 탄닌의 경우 50, 88, 97, 99%의 돌연변이 억제작용을 나타내었다. MNNG에 대한 감잎차 탄닌과 녹차 탄닌의

Table 2. SOS response of 4-nitroquinoline-1-oxide (4-NQO, 0.02 µg / assay) treated with boiled water extract (BWE-PL) and tannin extracted from persimmon leaves

Sample	Concentration (µg/ml)	$A_{420}^{(n)}$	Eu ⁽ⁿ⁾	Inhibition rate (%)
Control		0.304	60.8	0
Spontaneous		0.209	41.8	100
BWE-PL	10	0.276	55.2	29
	50	0.285	57.0	20
	100	0.244	48.8	63
	250	0.242	48.4	65
	500	0.222	44.4	86
Control		0.292	18.60	0
Spontaneous		0.205	10.25	100
Tannin	10	0.281	14.05	13
	50	0.263	13.15	33
	100	0.250	12.50	48
	250	0.212	10.60	92

⁽ⁿ⁾ A_{420} is the optical density at 420nm

⁽ⁿ⁾Eu means enzyme unit. Eu = (1,000 × A_{420}) / 20min

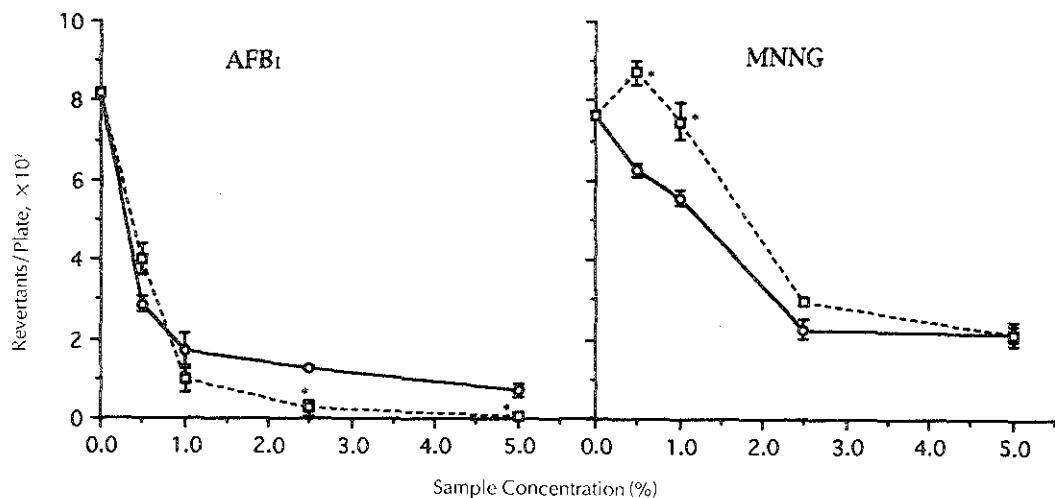


Fig. 3. Effects of tannins extracted from persimmon leaf tea (PLT) and green tea (GT) on the inhibition of aflatoxin B₁ (AFB₁, 1 µg/plate) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.5 µg/plate) mutagenicities in *Salmonella typhimurium* TA100.

—○— : PLT-Tannin ... □... : GT-Tannin

*Significantly different at the same concentration of the PLT-tannin and GT-tannin at the p<0.05 level.

돌연변이 억제효과도 감잎차 탄닌과 녹차 탄닌의 농도를 증가함에 따라 MNNG의 돌연변이성이 크게 억제되어 감잎차 탄닌과 녹차 탄닌 5.0% 첨가시 MNNG의 돌연변이성이 각각 71%, 72%로 억제되었다. 감잎차 탄닌 및 녹차 탄닌은 모두 AFB₁과 MNNG에 대해 항돌연변이 효과를 나타냈으나, AFB₁에 대해서는 녹차 탄닌이 그리고 MNNG에 대해서는 감잎차 탄닌이 항돌연변이 효과가 커졌다($p < 0.05$). 녹차 탄닌도 감잎 탄닌과 마찬가지로 MNNG 보다는 AFB₁에 대한 효과가 더 크게 나타났다. 한편, 동결건조된 감잎 분말 및 감잎차로 부터

얼어진 탄닌 생성량은 각각 770, 680mg%였다.

요 약

감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과를 Ames test, spore rec assay 및 SOS chromotest 방법을 이용하여 검토하였다. *Salmonella typhimurium* TA100에서 aflatoxin B₁ (AFB₁), dimethyl-amino-biphenyl (DMAB)와 같은 간접 돌연변이원에 대해서 뿐만아니라 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), 4-nitroquinoline-

1-oxide(4-NQO)와 같은 직접 돌연변이원에 대해서도 강력한 항돌연변이성을 관찰할 수 있었다. *Bacillus subtilis* H17(*rec⁺*)와 M45(*rec⁻*)를 사용한 spore rec assay에서도 감잎 열수 추출물 및 감잎 탄닌은 MNNG에 대한 강한 항돌연변이 효과를 나타내었고, *Escherichia coli* PQ37을 사용한 SOS chromotest에서도 4-NQO의 돌연변이성이 크게 저해되었다. 또한 감잎차로 부터 탄닌을 추출하여 이미 그 효과가 알려진 녹차 탄닌과 함께 항돌연변이 효과를 살펴본 결과 시료의 농도에 비례해서 녹차 탄닌과 비슷한 수준으로 현저한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 이들 항돌연변이 실험계에서 감잎 탄닌이 감잎 열수 추출물에 비해 활성이 크게 나타났다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단 연구비지원(과제번호 90-0500-03)에 의한 연구결과의 일부이며 이를 감사드린다.

문 현

- 江蘇新醫院編 : 中藥大辭典. 上海科學技術出版社, p. 15 (1978)
- Lai, C., Butler, M. A. and Matney, T. S. : Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutat. Res.*, **77**, 245 (1980)
- Terwel, L. and Van der Hoeven, J. C. M. : Antimutagenic activity of some naturally occurring compounds towards cigarette smoke condensate and benzo(a)pyrene in the *Salmonella*/microsome assay. *Mutat. Res.*, **152**, 1 (1985)
- Arimoto, S., Ohara, Y., Namba, T., Negishi, T. and Hayatsu, H. : Inhibition of the mutagenicity of amino acid pyrolysis products by hemin and other biological pyrrole pigments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **92**, 662 (1980)
- Lawson, T., Nunnally, J., Walker, B., Bresnick, E., Wheeler, D. and Wheeler, M. : Isolation of compounds with antimutagenic activity from Savoy Chieftain cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 1363 (1989)
- Okonogi, T., Hattori, Z., Ogiso, A. and Mitsui, S. : Detoxification by persimmon tannin of snake venoms and bacterial toxins. *Toxicon.*, **17**, 524 (1970)
- Uchida, S., Ohta, H., Niwa, M., Mori, A., Nonaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. : Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 1049 (1990)
- Nose, K. : Inhibition by flavonoids of RNA synthesis in permeable WI-38 cells and of transcription by RNA polymerase II. *Biochem. Pharm.*, **33**, 3823 (1984)
- 문숙희 : 감잎의 항돌연변이 및 항암효과. 박사학위논문, 부산대학교 대학원 (1993)
- Maron, D. M. and Ames, B. N. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173 (1983)
- Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A. and Sawamura, M. : Factors modulating mutagenicity in microbial test. In "Short-term test systems for detecting carcinogens" Norpeth, K. H. and Garner, R. C. (eds.), Springer, Berlin, p.273 (1980)
- Hirano, K., Hagiwara, T., Ohta, Y., Matsumoto, H. and Kada, T. : Rec-assay with spores of *Bacillus subtilis* with and without metabolic activation. *Mutat. Res.*, **97**, 339 (1982)
- Kada, T., Tutikawa, K. and Sadaie, Y. : *In vitro* and host-mediated "Rec-assay" procedures for screening chemical mutagens and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutat. Res.*, **16**, 165 (1972)
- Ham, S. S., Park, B. K., Lee, S. Y., Lee, J. H., Kang, C. K., Lee, D. S. and Omura, H. : Rec-assay and DNA-breaking action on the enzymatic browning reaction products. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **27**, 264 (1984)
- 백창원, 함승자 : SOS chromotest에 의한 사과의 효소 갈변반응 생성물의 항돌연변이 효과. 한국식품과학회지, **22**, 618 (1990)
- Miller, J. : Experiments in molecular genetics. Cold spring harbor laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y. (1972)
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : Principles and procedure of statistics. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd., Tokyo, p.172 (1980)
- Jain, A. K., Shimoi, K., Nakamura, Y., Kada, T., Hara, Y. and Tomita, I. : Crude tea extracts decrease the mutagenic activity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine *in vitro* and in intragastric tract of rats. *Mutat. Res.*, **210**, 1 (1989)
- Nakamura, Y., Harada, S., Kawase, I., Matsuda, M. and Tomita, I. : Inhibitory effects of tea ingredients on the *in vitro* tumor promotion of mouse epidermal JB6 cells. Proceedings of the international symposium on tea science, p.205 (1991)
- Nakamura, Y., Shimoi, K., Hara, Y. and Tomita, I. : Crude extract of tea may reduce carcinogenesis ; Catechins and L-ascorbic acid, as a major ingredients of tea leaves, exert desmutagenic/anti-mutagenic and anti-promotional effects. *Toxicol. Lett.*, **31**, 213 (1986)
- Nakamura, Y., Harada, S., Shimoi, K., Oguni, I. and Tomita, I. : Study on the antimutagenic and antipromotional effects of tea extracts. Int'l. on Tea-Quality-Human-Health Sympo. Tea Res. Inst. of Chinese Acad. Agric. Sci., Hangzhou, China, p.227 (1987)
- Wang, Z. Y., Cheng, S. J., Zhou, Z. C., Athar, M., Khan, W. A., Bickers, D. R. and Mukhtar, H. : Antimutagenic activity of green tea polyphenols. *Mutat. Res.*, **223**, 273 (1989)
- Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Fujiki, H., Yoshida, T., Okuda, T. and Sugimura, T. : Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of "tannin" in green tea. *Phytother. Res.*, **1**, 44 (1987)

24. Fujita, Y., Yamane, T., Tanaka, M., Kuwata, K., Okuzumi, J., Takahashi, T., Fujiki, H. and Okada, T. : Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse duodenum. *Jpn. J. Cancer Res.*, **80**, 503 (1989)
25. Cheng, S. J., Gao, Y. N., Ho, C. T. and Wang, Z. Y. : Studies on antimutagenicity and anticarcinogenicity of green tea antioxidant. Proc. Int'l. Seminar on Green Tea. Korean Soc. Food Sci. Technol., Seoul, Korea, p.45 (1986)
26. Lee, F. A. : Tea, Basic Food Chemistry. 2nd ed., AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut, p.419 (1975)

(1995년 10월 6일 접수)