

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)의 폴리페놀 화합물 함량과 항산화 활성

차재영 · 김현정 · 정정한 · 조영수[†]

동아대학교 생명자원과학부

Antioxidative Activities and Contents of Polyphenolic Compound of *Cudrania tricuspidata*

Jae-Young Cha, Hyun-Jeong Kim, Chung-Han Chung and Young-Su Cho[†]

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

Abstract

Polyphenolic compounds widely occurring in the traditional medicine plants have been reported to possess strong antioxidant activity. The antioxidative substances of water soluble extract from leaves, stem bark, root bark and fruit powder of *Cudrania tricuspidata* were tested in three different *in vitro* experimental models. In oxidation models using DPPH(α, α' -diphenyl- β -picrylhydrazyl) method, Fe^{2+} -induced linoleic acid peroxidation, and autooxidation of hepatic microsomal membranes, the antioxidative activities of water soluble extract from stem bark were strong than that from leaves and root bark. Fruits of *Cudrania tricuspidata* contained the highest amounts of polyphenolic compounds among the parts of this plant. The changes in polyphenolic compound contents of fruit powder caused by heat treatment (20°C, 40°C, and 60°C) were also monitored. After water blanching, contents of phenolic compounds was increased slightly in the following order; 20°C(1454mg), 40°C(1487mg), and 60°C(1511mg). These results supports that water soluble extracts from *Cudrania tricuspidata* contain antioxidative compounds.

Key words: *Cudrania tricuspidata*, polyphenolic compound, antioxidation, DPPH

서 론

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가진다(1). 페놀계 합성 항산화제인 butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole는 지금까지 강한 항산화성 효과와 경제성이 뛰어나기 때문에 식품에 널리 사용되어 왔으나, 이들의 인체에 대한 유해성이 보고(2,3)되고 나서부터는 사용이 점차로 줄어들고 있어 인체에 안전하고 항산화 효력이 높은 천연 항산화제를 찾아내는 것이 절실히 요구되고 있다. 또한, 이러한 이유로서는 천연항산화제가 식품의 산패를 방지하는 식품첨가물로서 뿐만 아니라 생체내에서의 노화 억제효과 및 생활습관병에 뛰어난 예방효과가 인정되고 있기 때문이다(4,5). 지금까지 이러한 천연 항산화 화합물로 토코페롤(4,6), 카로티노이드(7) 및 페놀성 화합물(5,8) 등이 알려져 있으며, 동시에 보다 효능이 우수한 천연항산화제

의 개발을 위해 많은 연구가 진행중에 있다.

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata* Bureau)는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 동아시아에 주로 분포하며, 10여종이 알려져 있는데 우리나라에서는 1종만이 전국 각지에서 자생하고 있다(9). 꾸지뽕나무 잎은 습진 유행성 이하선염, 폐결핵, 만성요통증, 타박상, 급성관절염 등의 한방치료에 사용되고 있으며, 또한 민간에서는 열매와 수피를 약창, 강장, 중풍, 이뇨, 진해 등의 치료약으로 이용되고 있다(10). 지금까지 이 식물에 대한 연구로서는 6,8-p-hydroxybenzyltaxifolin, 8-p-hydroxybenzyltaxifolin, 6-p-hydroxybenzyltaxifolin(11) 및 7-o- β -D-glucopyranoside(12) 등의 성분연구가 보고 되어져 있다. 최근, 꾸지뽕나무의 생리활성 작용으로서의 뽕잎의 항염증작용 및 항균작용(12,13), 마우스에서의 지질상승 및 산화억제작용(14) 등이 보고 되어 있을 뿐 생리활성에 대한 체계적인 연구는 미비한 실정이다. 한편, 일반 뽕잎에도 혈당강화 효과가 입증되어 당뇨병의 예방과 치료에 효과적인 것으로 보고되어 있으며(15), 실험적 고지혈증 흰쥐에서의 혈중 총콜레스테롤과 중성지질의 감소 및 인체 실험에

[†]To whom all correspondence should be addressed

서의 혈중 중성지방 감소도 보고된 바 있다(16). 특히 뽕잎에는 플라보노이드 계열의 화합물이 다량으로 함유되어 있어 생체내 지질의 과산화억제를 비롯한 생활습관병에 대한 예방효과가 있을 것으로 기대된다. 한편, 국내에서는 일반 뽕나무에 대해서는 생리활성 연구가 일부 되어 있지만, 꾸지뽕나무에 대한 이러한 작용에 대해서는 체계적인 연구가 거의 전무한 상태이다. 따라서, 본실험에서는 꾸지뽕나무에 존재하는 생리활성 물질의 소재개발을 위해서 잎, 줄기 껍질, 뿌리 껍질 및 열매로부터 수용성 추출물을 분리하여 이들의 총폴리페놀 화합물 함량 및 *in vitro* 실험계에서의 항산화 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

재료

실험재료의 꾸지뽕나무는 1999년 5월에 경남 김해시 생림면에서 야생으로 서식하는 나무로부터 잎, 줄기, 뿌리 및 열매를 직접 채취하였다. 잎, 줄기 껍질 및 뿌리 껍질은 음지에서 건조시킨 후 잘게 자른 후 중량비로 10배 양의 물로 수욕조상에서 3시간 추출을 2회 반복 실시하여 혼합한 용액을 농축하여 동결건조 시킨 것을 수용성 추출물로 하였다.

열침에 따른 폴리페놀 화합물의 측정

꾸지뽕나무 열매의 폴리페놀 화합물의 추출 수율을 높이기 위하여, 폴리페놀과 반응하여 갈변현상을 일으키는 polyphenol oxidase를 불활성화시켜 폴리페놀의 손실을 방지하기 위해 20°C, 40°C 및 60°C에서 각각 20분간 열침한 후 폴리페놀 화합물의 함량 변화를 측정하였다.

꾸지뽕나무의 총폴리페놀 화합물의 함량분석

총 폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdate와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Denis법(17)을 약간 변형시켜 측정하였다. 즉, 꾸지뽕나무의 잎, 줄기 껍질, 뿌리 껍질 및 열매의 물추출물을 1mg/ml에 녹인 다음 0.2ml를 시험관에 취하여 증류수를 가하여 2ml로 만든 후, 여기에 0.2ml Folin-cioalteau phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합하고 3분간 실온에서 방치하였다. 정확히 3분 반응시킨 후 Na_2CO_3 포화용액 0.4ml를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4ml로 만든 후, 실온에서 1시간 방치하여 상층액을 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준곡선은 tannic acid 1g을 50% 메탄올용액 1ml에 녹이고 최종농도가 0, 50, 100, 150, 200, 300 및 500µg/ml 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

수소공여능 측정

DPPH(a,a'-diphenyl-β-picrylhydrazyl) 용액은 100ml 에탄올에 DPPH 16mg을 녹인 후 증류수 100ml를 혼합하여 Whatman filter paper No. 2에 여과시켜 만들었다. 이 용액 5ml에 일정농도(0.05, 0.1, 0.5%)의 시료용액 1ml를 혼합한 후 경시적으로 528nm에서 흡광도의 감소를 측정하였다(18). 또한 꾸지뽕나무 열매로부터 상온과 60°C에서 각각 수용성 추출물을 얻어서 0.05% 농도로 반응액에 첨가하였으며, 이때 대조구인 BHT는 0.005% 농도로 첨가하여 위에서와 동일한 방법으로 흡광도 감소를 측정하였다.

간장 microsome획분의 조제 및 microsome 실험계의 항산화 활성 조사

성장기의 정상 마우스(ddY)를 디에틸에테르로 가볍게 마취시켜 개복하여 적출한 간장을 냉각된 생리식염수로 즉시 씻고 여과지로 물기를 흡수시킨 다음 일정량 취해 1.15% KCl-10mM phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 homogenizer로 균질화시켰다. 이 용액을 4°C로 설정된 냉각원심분리기(Kubota, KR-20000 T, Tokyo, Japan)로 12,000rpm에서 20분간 원심분리한 후 상정액을 4겹의 가아제로 여과하고, 여액을 4°C로 설정된 초원심분리기(Hitachi 55p-72, Tokyo, Japan)에서 45,000rpm으로 45분간 원심분리하여 침전된 획분에 1.15% KCl-10 mM phosphate buffer(pH 7.4)을 일정량 가하여 microsome 획분으로 하였다. 항산화 활성은 Wong 등의 방법(19)에 따라 50mM Tris-HCl buffer(pH 7.5) 1.5ml에 각 시료 용액 0.2 ml(6mg/ml), 간 microsome 분획(1ml중 1mg의 단백질 함유) 0.1ml, 0.1mM ascorbate 0.1ml 및 5mM FeSO_4 0.1ml를 차례로 가하여 반응액을 잘 혼합한 후 37°C의 shaking water bath에서 1시간 incubation시켜 과산화를 유도시켰다. 이때 대조구는 시료를 첨가시키지 않고 위에서와 동일한 방법으로 행하였다. 반응후 3M trichloroacetic acid와 2.5N HCl의 혼합용액 0.5ml를 가하고 3,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 상정액 1ml를 취하여 0.67% TBA 1ml를 가하여 혼합하고 끓는 물 속에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 냉각 후 533nm에서 흡광도를 측정하였으며, 지질과산화의 억제율은 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로 비교하였다.

Linoleic acid 실험계의 항산화 활성 조사

Osawa의 방법(20)에 따라 먼저 linoleic acid(25mg/ml in EtOH), ferrous chloride(2.45mg/ml in 3.5% hydrochloric acid), ammonium thiocyanate(0.3g/ml in H_2O), 0.2M phosphate buffer(pH 7.0)를 조제하여 이들을 stock solution으로 사용하였다. 혼합용액은 각 시료용액 0.2ml (6.0mg/ml 또는 0.6mg/ml), linoleic acid 0.2ml을 시험관

에 넣고 혼합한 후 phosphate buffer 0.4ml와 증류수 0.2 ml를 가하여 40°C에서 은박 포장한 후 incubation하면서 일정기간의 간격으로 측정하였다. 측정방법은 혼합용액에서 0.1ml를 취하여 test tube에 넣고 70% ethanol 3ml과 ammonium thiocyanate 용액 0.1ml, ferrous chloride 용액 0.1ml를 혼합한 후 정확히 3분 후에 500nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 합성 항산화제인 BHT를 시료첨가량의 1/10을 사용하여 BHT 첨가구로 하였다.

결과 및 고찰

총폴리페놀 화합물의 함량

꾸지뽕나무 잎, 줄기껍질, 뿌리껍질, 열매의 수용성 추출물 중의 총폴리페놀 화합물의 함량을 tannic acid를 표준 곡선으로 하여 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 총폴리페놀 화합물의 함량을 물추출물 100g 건조중량으로 살펴 보면 열매에서 가장 높은 함량을 보였다. 국내산 식물성 식품 중의 총폴리페놀 화합물 함량을 분석한 결과를 보면 호두(2.06g), 밤속껍질(5.76g), 칩뿌리(2.01g) 및 감잎(5.76g) 등에서 비교적 높은 농도로 조사되었으며(21), 애사과의 총폴리페놀 화합물의 함량은 후지사과에서 0.11g 및 아오리사과에서 0.12g으로 보고된 바 있다(22). 저자들도 감자의 품종별 총폴리페놀 화합물 함량을 측정하여 100g 습중량당 42~76mg을 함유한 것으로 보고하였다(23). 또한, 선인장의 경우에는 씨 1.47g, 줄기 1.86g, 열매 3.4~4.9g으로 상당히 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유하고 있었다(24). 이러한 결과로 볼 때 식물의 열매에 비교적 많은 양의 폴리페놀 화합물을 함유한 것으로 보여지며, 본 실험에서도 열매 부분에서 가장 높은 총폴리페놀 화합물 함량을 나타내어 이들 결과와 유사하였다.

열침에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변화

꾸지뽕나무 열매의 열침온도에 따른 폴리페놀 화합물의 함량 변화를 알아보기 위하여 20°C, 40°C 및 60°C에서 각각 20분간 열침을 실시한 결과는 Table 2와 같다. 열침 온도에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변화는 20°C 열수추출물에 비해 40°C 추출물에서 2.3%, 60°C 추출물에서 3.9% 증가하였다. 이러한 결과는 폴리페놀 화합물이 열

Table 1. Concentration of total polyphenolic compound in *Cudrania tricuspidata*

Sample	Total polyphenolic compounds (g/100g dry weight water extract) ¹⁾
Leaf	1.34
Stem bark	1.30
Root bark	1.31
Fruit powder	1.54

¹⁾Tannic acid equivalent by Folin-Denis method. Values are the average of four samples.

Table 2. Changes of total polyphenolic compound content in the fruit powder of *Cudrania tricuspidata*

Temp.(°C)	Total polyphenolic compounds (g/100g dry weight) ¹⁾
20	1.45
40	1.49
60	1.51

¹⁾Tannic acid equivalent by Folin-Denis method. Values are the average of four samples.

에 의해 쉽게 추출되어 추출수율이 증가한 것으로 생각되며, 또한 불용성 폴리페놀 화합물이 고분자 화합물로부터 유리되어 유리형 폴리페놀 화합물로 분해된 것으로 시사된다(25). 또한 애사과의 열침에 따른 폴리페놀 화합물의 함량변화는 60°C에서 20분간 처리에 의해 후지사과의 경우 3.53% 증가하였고, 이 중에서 chlorogenic acid가 2.38%로 증가하여 전체 증가비의 81%를 차지함으로써 전체 폴리페놀 화합물 증가의 주요 원인 물질로 보고된 바 있다(22). 이는 식물 중에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물과 그 산화 효소인 polyphenol oxidase의 반응에 의해 폴리페놀 화합물이 quinone 형태로 산화하여 중합되므로서 melanin이 형성되는데 이러한 갈변현상에서 사용되는 주요 기질로 chlorogenic acid가 알려져 있다(26). 따라서 60°C에서 20분간 열처리하므로써 폴리페놀 화합물과 반응하여 갈변현상을 일으키는 polyphenol oxidase를 불활성화시켜 폴리페놀 화합물 중의 chlorogenic acid의 손실을 방지하기 때문에 폴리페놀 화합물의 추출수율이 증가한 것으로 사료된다.

DPPH법에 의한 수소공여능

DPPH는 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의해 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로서 항산화 물질의 수소공여능을 측정할 때 DPPH법이 유용한 방법으로 알려져있다(27). 꾸지뽕나무 잎, 줄기 껍질 및 뿌리 껍질로부터 추출한 수용성 추출물 중의 항산화 작용으로 반응시간 증가에 따라 528nm에서 짙은 자색을 가지는 DPPH용액의 흡광도가 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 수소공여능의 수준은 0.05% 및 0.1% 농도 첨가구에서는 줄기 껍질>잎>뿌리 껍질 순이었으며, 0.5%의 농도에서는 뿌리 껍질>잎>줄기 껍질 순으로, 0.05~0.5% 농도에서 첨가농도가 증가할수록 항산화 효과도 증가하는 것으로 나타났다. 이 결과 0.5%의 높은 농도에서는 뿌리 껍질의 항산화 활성이 가장 높게 나타났다으나, 이러한 이유는 확실하지 않으나 뿌리 껍질 추출물의 일정농도 이상에서 강한 활성을 나타내는 것으로 추정된다. 꾸지뽕나무 열매로부터 상온과 60°C에서 각각 수용성 추출물을 얻어 동일실험계에서 항산화 활성을 측정 한 결과에서도 대조구의 BHT와 마찬가지로 경시적인 흡광도 감소가 나타났다(Fig. 2). 또한, 꾸지뽕나무의 열

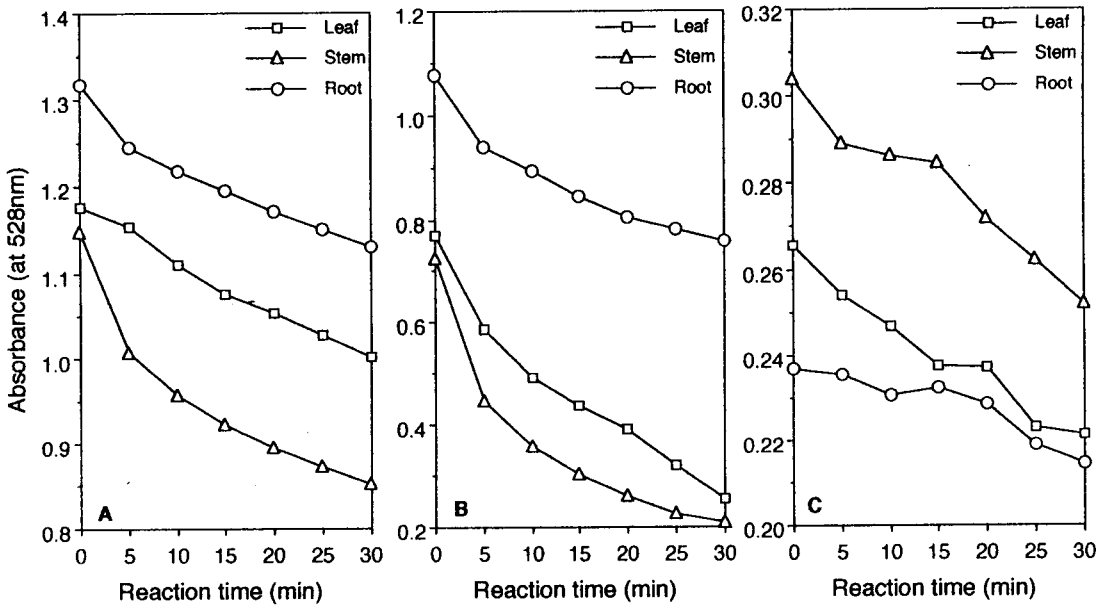


Fig. 1. Changes in the free radical level of DPPH by water extract of leaf, stem bark, and root bark from *Cudrania tricuspidata*. The free radical levels were determined by a,a'-diphenyl-b-picrylhydrazyl(DPPH) method. A: 0.05%, B: 0.1%, C: 0.5%.

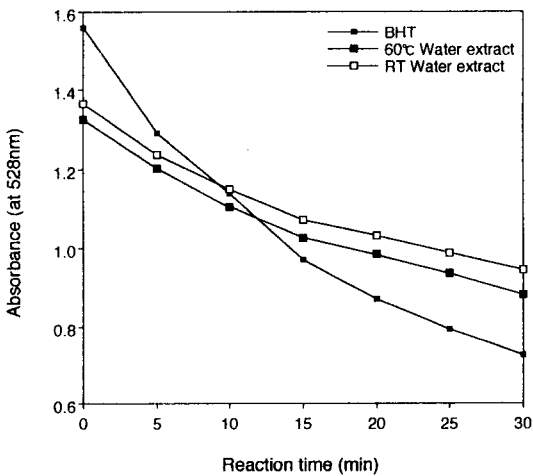


Fig. 2. Changes in the free radical level of DPPH by water soluble extract(0.05%) from fruit powder of *Cudrania tricuspidata*. The free radical levels were determined by a,a'-diphenyl-b-picrylhydrazyl(DPPH) method. BHT was added at the level of 0.005% as the standard sample.

매로부터 60°C에서 추출한 것이 상온에서 추출한 것보다 수소공여능이 약간 높은 것으로 나타나 추출시의 온도에 의해서도 영향을 받는 것으로 나타났다. 이전의 수소공여능 실험(28)에서 반응 30분 후 α-토코페롤 0.01% 첨가구의 528nm 흡광도에서 흡광계수가 0.4 정도를 나타낸 반면, 본 실험에서 꾸지뽕나무 잎, 줄기껍질 및 뿌리껍질

0.5% 첨가구 모두에서 흡광계수 0.21~0.25를 나타내어 비교적 높은 항산화활성을 가지고 있는 것으로 판단되었다.

Thiocyanate법에 의한 linoleic acid의 과산화

꾸지뽕나무 잎, 줄기 껍질 및 뿌리 껍질의 물추출물을 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 방법으로 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 이때 꾸지뽕나무 추출물의 첨가 농도는 반응액 1ml당 6mg을 첨가하였다. 그 결과, 항산화 활성은 줄기 껍질>잎>뿌리 껍질 순으로 나타났다. 줄기 껍질의 수용성 추출물은 반응 8일째까지 대조구에 비해 상당한 유도기간의 연장효과를 보였으며, 다음으로 뿌리 껍질과 잎 추출물에서 각각 4일과 2일째 까지 만 높은 활성을 보였다. 그러나, 잎 추출물은 대조구 수준까지 도달하는데 걸리는 시간은 오히려 뿌리껍질보다 더욱 연장되는 결과를 나타내었다. 또한, linoleic acid를 이용한 항산화 실험계에서 꾸지뽕나무 줄기껍질 추출물에서 높은 항산화 활성을 가지고 있었기 때문에 이 반응에서의 첨가 농도보다 낮은 0.6mg/ml을 첨가하여 경시적인 변화를 관찰하였다 (Fig. 4). 대조구의 산화수준까지 걸리는 시간은 약 3일로 나타나 항산화 물질로서 작용하기 위해서는 보다 높은 농도의 첨가가 요구된다.

Microsome막 지방산 산화계를 이용한 항산화실험

정상 마우스의 간장으로부터 microsome획분을 얻어 생체막지질의 과산화물 생성 지표로 알려져 있는 TBRAS를 측정하는 방법으로 항산화 활성을 나타낸 결과는 Fig.

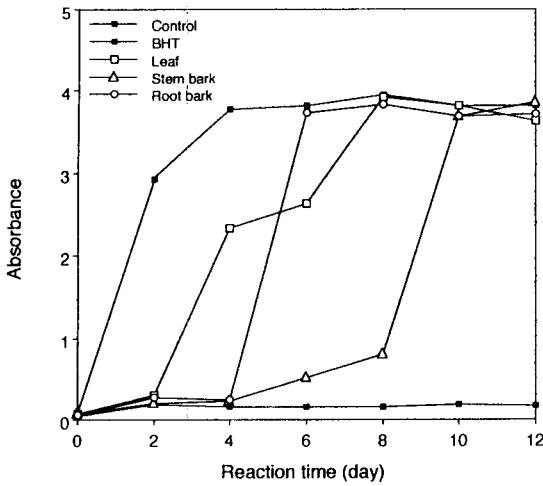


Fig. 3. Antioxidative activity of water soluble extract (6.0mg/ml) from leaf, stem bark, and root bark of *Cudrania tricuspidata* and BHT in the linoleic acid system as measured by the thiocyanate method. BHT was added at the level of 0.6mg/ml as the standard sample.

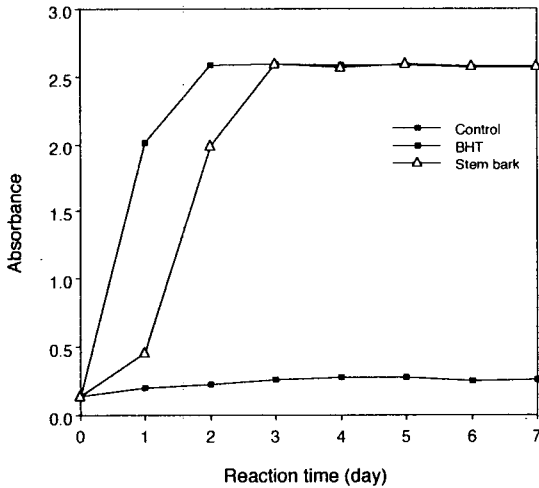


Fig. 4. Antioxidative activity of water soluble extract (0.6mg/ml) from stem bark of *Cudrania tricuspidata* and BHT in the linoleic acid system as measured by the thiocyanate method. BHT was added at the level of 0.6mg/ml as the standard sample.

5와 같다. Microsome 항산화 실험계를 이용한 실험에서도 줄기 껍질 추출물에서 강한 항산화 활성을 나타내었다. 한편, 꾸지뽕나무 잎, 열매, 줄기 및 뿌리로부터 추출한 유기용매 분획 및 플라보노이드 화합물에 의해서도 흰쥐 간장으로부터 조제한 microsome 항산화 실험계에서 지질과산화물을 억제시키는 것으로 보고된 바 있다(29). 꾸지뽕나무 잎과 과육에서 추출된 주요 생리활성 성분으로 kaempferol 및 naringenin 유도체로 밝혀졌는데, 이들 성분들이 항산화 물질로서 작용하는 것으로 추정된다(30).

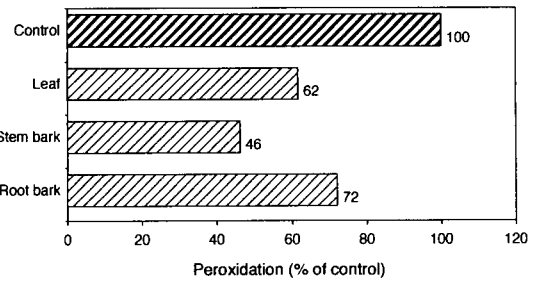


Fig. 5. Antioxidative activity of water soluble extract (6mg/ml) from leaf, stem bark, and root bark of *Cudrania tricuspidata* in hepatic microsomal system as measured by the TBARS method.

생체막 지질 과산화 반응은 여러 가지 독성화학물이나 약물 또는 당뇨병 등의 생체 이상에 의해 간세포에 중대한 손상을 입히는 것으로 알려져 있으며(31), 이러한 기전에 생체막 지질 과산화물의 증가도 일부 관여하는 것으로 시사된다. 따라서, 본 실험계를 이용한 실험으로 강력한 항산화 물질의 탐색은 생체내 항산화 방어력의 증가에 간접적이거나 활력을 미칠 것으로 생각된다. 천연 항산화제는 대부분 식물 기원의 항산화성 화합물로서 나무, 수피, 줄기, 잎, 과일, 뿌리, 꽃, 열매, 씨앗 등의 모든 부분에 존재하고 있으며, 이들은 주로 폴리페놀 화합물로서 지질의 자동산화 조건에 의해 생성된 유리라디칼의 생성을 지연시키거나 활성을 저해하여 항산화 물질로서의 역할을 한다(23,32). 따라서, 꾸지뽕나무 줄기껍질의 추출물 중에는 보다 강력한 항산화 활성을 나타낼 수 있는 생리활성 물질과 산화억제 물질의 탐색, 그리고 항산화 효과의 원인물질 동정 및 각 추출 용매에 따른 항산화 작용 등의 생리적 효과에 대하여서도 계속 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

지금까지의 연구 결과에서 꾸지뽕나무 각 부위의 수용성 추출물을 이용한 항산화 실험에서 줄기껍질 추출물에서 높은 항산화 효과를 가지고 있는 것으로 나타났다.

요 약

항방재료에 많이 함유되어 있는 폴리페놀 화합물은 강한 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. 한 방약에서 널리 이용되고 있는 식물성 성분의 생리활성 인자를 탐색할 목적으로 꾸지뽕나무의 각 부위별 수용성 추출물의 항산화 활성을 DPPH법, thiocyanate법 및 microsome 생체막 지질 과산화물 생성정도의 TBARS법으로 측정하였다. 꾸지뽕나무 줄기껍질로부터 추출한 수용성 물질이 다른 부위에서 추출한 수용성 물질에 비교해서 이들 항산화 실험계에서 높은 항산화 활성을 보였다. 이들 각 부위로부터 추출한 수용성 물질 중의 총폴리페놀 화합물의 함량은 열매(1.54g) > 잎(1.34g) > 뿌리 껍질(1.31g) > 줄기 껍질(1.30g)의 순이었다. 또한, 열매 분말의 폴리

페놀 화합물의 추출을 20°C, 40°C 및 60°C에서 각각 20분 간 열침을 실시한 결과에서 열침온도가 높을수록 추출수율이 미미하게 증가하였다. 이상의 결과에서 꾸지뽕나무 각 부위별 수용성 추출물 중에는 *in vitro* 항산화 실험계에서 항산화 활성을 나타내는 생리활성 성분을 지니고 있는 것으로 나타났다.

문 헌

1. Kuhnu, J.: The flavonoids; a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, **24**, 117-120(1976)
2. Maeura, Y., Weisburger, J. H. and Williams, G.: Dose-dependent reduction of N-2-fluorenylacetylamide-induced liver cancer and enhancement of bladder cancer in rats by butylated hydroxytoluene. *Cancer Res.*, **44**, 1604-1610(1984)
3. Branen, A. S.: Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylatedihydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1**, 59-63(1975)
4. Jialal, I. and Grundyl, S.: Effects of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. *J. Lipid Res.*, **33**, 899-906(1992)
5. Vinson, J. A. and Hontz, B. A.: Phenol antioxidative index: Comparative antioxidant effectiveness of red and white wines. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 401-403(1984)
6. Koskas, J. P., Cillard, J. and Cillard, P.: Autoxidation of linoleic acid and behavior of its hydroperoxides with and without tocopherols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1467-1472(1984)
7. Terao, J.: Autoxidation activity of β -carotene-related carotenoids in solution. *Lipids*, **24**, 657-661(1989)
8. Papadopoulou, G. and Boskou, D.: Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **68**, 669-675(1991)
9. Lee, C. B.: *Daehanshikmuldogam*. Hyangmoonsha, Seoul, p.285(1985)
10. Kangjoshineuilhakwon: *Jungyakdaesajon*(2nd). Sohak-kyan, p.2383(1985)
11. Fujimoto, T. and Nomura, T.: Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 3. Isolation and structure studies on the flavonoids. *Planta Medica.*, **51**, 190-196(1985)
12. Kim, S. H., Kim, N. J., Choi, J. S. and Park, J. C.: Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 68-72(1993)
13. Ottersen, T., Vance, B., Doorenbos, N. J., Chang, B. L. and El-Ferally, F. S.: The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methyl-2-butenyl)-I, a new antimicrobial agent from *Cudrania cochinchinensis*. *Acta Chem. Scand [B]*, **31**, 434-436(1977)
14. Chang, C. H., Lin, C. C., Hattori, M. and Namba, T.: Effects of anti-lipid peroxidation of *Cudrania cochinchinensis* var. gerontogea. *J. Ethnopharmacol.*, **44**, 179-185(1994)
15. Chen, F., Nakashima, N., Kimura, I. and Kimura, M.: Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves(folium mori) and cortex mori radices in streptozotocin-induced diabetic mice. *Akugaku Zasshi*, **115**, 476-482(1995)
16. Kim, S. Y., Lee, W. C., Kim, H. B., Kim, A. J. and Kim,

- S. K.: Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia in rats. *Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 1217-1222(1998)
17. Swain, T., Hillis, W. E. and Oritega, M.: Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 83-88(1959)
18. Mitsuda, H., Yasumoto, K. and Iwami, K.: Antioxidative action of indol compounds during the antioxidation of linoleic acid. *Eiyo to Shokuro*, **19**, 210-214(1966)
19. Wong, S. F., Holliwell, B., Richimond, R. and Skowroneck, W. R.: The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic Biochem.*, **14**, 127-134(1981)
20. Osawa, T.: A novel type of antioxidant isolated from leaf was of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 735-739(1981)
21. Lee, J. H. and Lee, S. R.: Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 310-316(1994)
22. Lee, J. J., Kim, C. S., Kim, S. H., Huh, C. S. and Baek, Y. J.: Changes of polyphenol contents in unripe apples according to heat treatments. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 147-152(1999)
23. Cha, J. Y. and Cho, Y. S.: Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1131-1136(1999)
24. Lee, Y. C., Hwang, K. H., Han, D. H. and Kim, S. D.: Compositions of *Opuntia ficus-india* (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 847-853(1997)
25. Hong, M. J., Lee, G. D., Kim, H. K. and Kwon, J. H.: Changes in functional and sensory properties of chicory roots induced by roasting processes (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 413-418(1998)
26. Lee, S. S. and Kim, K. R.: Studies on the internal browning of apple fruits caused by excessive boron application III. Correlation between internal browning of fruits and polyphenol content (in Korean). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.*, **32**, 314-323(1991)
27. Blois, M. S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **26**, 1199-1204(1958)
28. Lee, J. S. and Cheigh, H. S.: Antioxidative characteristics of isolated crude phenolics from soybean fermented foods(*doenjang*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 376-382(1997)
29. Park, J. C., Choi, J. S. and Choi, J. W.: Effects of the fractions from the leaves, fruits, stems and roots of *Cudrania tricuspidata* and flavonoids on lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.*, **26**, 377-384(1995)
30. Park, J. C., Han, S. Y. and Choi, J. S.: Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea. *Yakhak Hoeji*, **36**, 40-45(1992)
31. Plaa, G. L. and Witschi, H.: Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **16**, 125-131(1976)
32. Lee, J. O., Kim, M. C., Kim, M. H., Park, J. S., Kim, J. W., Song, K. H., Shin, D. W., Mok, J. M. and Shin, H. K.: Studies on the phenolic compounds and the anti oxidant properties of various plants used as commercial teas (I) (in Korean). *The Annual Report of KFDA*, **1**, 21-32(1996)