

## 대추잎 추출물의 생리활성 작용

김 청 · 박정룡<sup>†</sup> · 김종배\* · 차명화

영남대학교 식품영양학과

\*대구보건환경연구원

## Physiological Activity of *Zizyphus jujuba* Leaf Extracts

Qing Jin, Jyung-Rewng Park<sup>†</sup>, Jong-Bae Kim\* and Myung-Hwa Cha

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

\*Dept. of Food Analysis, Institute of Health and Environment, Taegu 706-042, Korea

### Abstract

This study was designed to investigate the possible utilization of *Zizyphus jujuba* leaves as a source of functional ingredients. The physiological activity of different solvent fractions prepared from ethanol extract of *Zizyphus jujuba* leaves were analyzed. Xanthine oxidase inhibitory effect was very high in all fractions except chloroform fraction. The very high electron donating ability was observed in the ethylacetate fraction and the effect was similar to 0.1% tocopherol. Nitrite scavenging effect of all fractions was more than 40% even at low concentration of 1mg/ml and was increased with increasing concentration. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity was appeared in ethyl acetate and chloroform fractions only at high concentraton.

**Key words:** *Zizyphus jujuba* leaf, xanthine oxidase inhibitory activity, electron donating ability, nitrite scavenging effect, ACE inhibitory activity

### 서 론

최근 식생활수준의 향상과 식생활의 다양한 변화와 더불어 사람이 음식섭취에 대한 욕구는 영양과 에너지 측면 뿐만 아니라 기호성 향상과 생체의 항상성 유지 및 생리기능 조절작용에 까지 이르렀다. 특히 인간의 노화와 함께 만성적 질병을 일으키는 원인을 억제하거나 치유하기 위해 식품으로부터 유래하는 생리활성을 나타내는 기능성 성분들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이들 항성인병 효과를 갖는 새로운 기능성 식품의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다(1).

여러 가지 생리활성에 작용하는 인자로 밝혀진 영양소 및 비영양소 물질로는 phenolic compound, ascorbic acid, tocopherol, carotenoid, flavonoid, maillard reaction product, amino acid, peptide 그리고 단백질 등이 있으며 이런 성분들은 대부분 과일이나 야채, 식물잎과 같은 식물성 원료에 다양으로 함유되어 있는 것으로 확인되었다(2-8). 여러 생약재 및 식용식물 추출물의 항산

화와 항돌연변이, 항암, 항균, 항노화 효과가 이미 보고되고 있으며 천연식물에서부터 분리한 천연항산화제는 식품, 의약품, 화장품 등에 널리 이용되어지고 있다(9-11). 그리고 차잎(12), 감잎(13-15), 두충나무잎(16, 17) 그리고 대나무잎(18) 등의 생리활성에 관한 연구 결과, 이들이 xanthine oxidase 및 angiotensin-I converting enzyme에 대한 저해효과(19,20), 전자공여작용, 아질산염 소거작용(21) 및 항균작용을 갖는 것으로 보고되었다. 이와 같이 식물성 유래의 원료는 식습관과 밀접한 관련을 가지는 성인병 예방이 가능한 다양한 활성물질을 포함하고 있으므로 새로운 식물자원을 검색하는 것은 질병의 예방차원에서 뿐만 아니고 이들을 이용한 다양한 기능성 식품의 개발에도 중요한 의미가 있다고 하겠다.

따라서 본 실험에서는 경북지역에서 널리 재배되고 있는 대추(*Zizyphus jujuba*)의 유용식물자원으로서의 이용가능성을 알아보기 위하여 기본적으로 대추잎 추출물로 조제한 각 용매 분획들이 갖는 기능적 특성 중

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

에서 xanthine oxidase 저해 활성, electron donating 작용, nitrate scavenging 작용 그리고 angiotensin-I converting enzyme 저해 활성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에서 사용한 대추잎은 경북 압량지역에서 재배되고 있는 대추에서 7월에 채취하여 이물질을 제거하고 흐르는 물에 깨끗이 씻어 음지에서 물기를 제거시킨 후 줄기와 열매를 제거하고 -10°C로 냉동저장하였다.

### 대추잎 에탄올 추출물의 분획별 시료조제

대추잎을 일정량 취하여 70% 에탄올을 사용하여 15,000rpm에서 homogenizer(NISSEI AM-I, Nihonseiki Kaisha Ltd., Japan)로 5분간 균질화시키고 6,000rpm에서 30분간 원심분리(SUPRA-21K, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Korea)한 다음 여과하였다. 여액은 진공 농축기(Buchi R-124, Buchi Co., Switzerland)를 사용하여 40°C에서 감압 농축하여 ethanol을 제거하고 동결 건조하였다. 이 동결건조 분말 20g에 chloroform 50ml를 넣고 50°C에서 5분간 때때로 혼들면서 용해시킨 다음 여과하여 여액은 미리 항량을 구한 공전플라스크에 취하여 40°C에서 농축시키고 N<sub>2</sub> 가스를 사용하여 완전 건조시켰다. 잔류물이 들어 있는 플라스크의 중량을 측정하여 chloroform 분획의 수율을 계산하였으며 이를 chloroform 분획으로 하였다. Chloroform으로 추출하고 남은 잔유물에 위와 동일한 방법으로 ethyl acetate, n-butanol, methanol을 사용하여 각각의 ethyl acetate, butanol, methanol 분획으로 조제하였고, 마지막 잔류물은 물 분획으로 하였다. Chloroform, ethyl acetate, butanol, methanol 분획은 methanol을, 그리고 물분획은 methanol과 증류수(1:1)를 사용하여 일정 농도로 조제하여 시료로 사용하였다.

### Xanthine oxidase 저해율 측정

Xanthine oxidase(EC.1.1.3.22) 저해활성은 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid를 Resines 등(22)의 방법에 준하여 HPLC로 측정하였다. 즉 0.1M 인산완충 용액(pH 7.5) 0.5ml에 일정한 농도의 추출물 분획별 시료액 0.5ml와 0.2mM xanthine 1ml, 40mU xanthine oxidase 0.1ml를 가해 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1ml를 넣어 반응을 정지시켰다. 대조구는 시료액 대신 메탄올 0.5ml를 넣고 blank는 효소를 첨가하기 전

에 먼저 1N HCl을 가해 반응을 미리 정지시켰다. 생성된 uric acid는 HPLC(Waters 600, Waters Co., USA)로 분석하였고 칼럼은 Licrosphere 100 RP-18(250×4.0mm, 5μm), 이동상은 acetonitrile: 0.1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(3:97), 유속은 1.0ml/min이며 검출기는 Waters TM 486로 하였다. 저해율은 시험구가 대조구에 대한 peak 면적의 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시험구의 uric acid peak area

B: 대조구의 uric acid peak area

### 전자공여능 측정

전자공여작용(electron donating ability, EDA)은 추출물 분획별 시료액이 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여효과로 시료의 환원력을 측정하였다(24). 즉 일정한 농도의 추출물 분획별 시료 0.2 ml에 4×10<sup>-4</sup>M DPPH용액 2ml를 넣어 vortex로 10초간 진탕한 후 분광광도계(Hitachi U-2000, Hitachi Ltd., Japan)를 사용하여 525nm에서 10분 동안의 흡광도 변화를 측정하였다. 전자공여효과는 시료첨가구와 시료무첨가구의 흡광도의 감소율로 나타내었다.

$$\text{EDA}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A : 시료첨가시의 흡광도

B : 시료무첨가시의 흡광도

### 아질산염 소거능 측정

아질산염 소거작용은 Gray와 Dugan(24)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉 1mM NaNO<sub>2</sub>용액 1ml에 일정농도의 추출물 분획별 시료액 1ml를 가하고 0.1N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정한 다음 총량을 10ml로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액을 1ml씩 취하여 2% 초산용액 5ml, Griess 시약 0.4ml를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 520nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였고 아질산염 소거율은 시료첨가시와 시료무첨가시의 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

$$\text{소거율}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시료첨가시의 흡광도

B: 시료무첨가시의 흡광도

### Angiotensin-I converting enzyme 저해능 측정

Angiotensin-I converting enzyme(EC. 3.4.15.1) 저해작용은 Cushman과 Cheung(25)의 방법과 Horiuchi 등(26)의 HPLC 분석조건에 준하여 측정하였다. 즉 추출물 분획별 시료액 0.05ml에 기질인 0.5mM hippuryl-histidyl-leucine용액 0.1ml를 가하고 37°C에서 5분간 진탕배양기(KMC-1205 SW, Vision Co., Korea)에서 preincubation하였다. 여기에 5mU ACE 효소액 0.1ml를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 0.1ml를 가해 반응을 정지시켰다. 대조구는 추출물 대신에 메탄올 0.05ml를 가하였고 공시험은 효소를 넣기 전에 먼저 1N HCl 0.1ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 생성된 hippuric acid는 HPLC(Waters 600, Water Co., USA)를 이용하여 칼럼은 HP. MOS Hypersil(200×4.6mm, 5μm)를 사용하였고 이동상은 methanol : 0.01M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (50 : 50), 유속은 1.0ml/min로 하였으며 검출기는 Waters TM 486 UV 228nm에서 측정하였다. 저해율은 시험구와 대조구의 생성된 hippuric acid의 peak 면적의 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 시험구의 hippuric acid peak area

B: 대조구의 hippuric acid peak area

### 결과 및 고찰

#### 대추잎의 용매별 각 분획의 수율

대추잎 에탄올 추출물의 순차용매 분획별 수율은 Table 1과 같았다.

70% 에탄올 추출물은 5.32%의 수율을 얻었으며 70% 에탄올 추출물로부터 얻어진 각 용매별 분획의 수율은 극성이 높은 수용성 분획과 메탄올 분획이 2.92%와 1.45%로 가장 높았고 부탄올, 에틸아세테이트, 클로로포름 순으로 극성이 낮을수록 수율이 낮게 나타났다.

#### Xanthine oxidase(EC. 1.1.3.22) 활성 저해작용

Xanthine oxidase는 생체내 퓨린대사에 관여하는 효소로서 xanthine 혹은 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하여 혈장내 uric acid가 증가되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍을 일으킨다(27). 이러한 통증을 치료하는 약물은 대부분 uric acid 생성의 마지막 단계에 작용하는 xanthine oxidase의 효소활성을 저해하는 저해제로서 특히 식물에 널리 분포되어 있는 flavonoid를 포함한 폐놀성 화합물들의 높은 효소저해

Table 1. Yields of each fraction extracted from fresh *Zizyphus jujuba* leaf

Fractions	Yield (%), w/w
70% EtOH extract	5.32
Chloroform	0.08
Ethylacetate	0.08
n-Butanol	0.24
Methanol	1.45
Water	2.92

효과에 대해 많은 연구가 진행되고 있다(28). Table 2는 대추잎 추출물 각 분획의 xanthine oxidase 저해작용을 나타낸 것으로 클로로포름을 제외한 기타의 4개 분획에서 모두 높은 xanthine oxidase 저해활성을 나타내었고 농도가 증가하면서 저해율도 크게 증가하였다. 특히 메탄올 분획에서 저해효과가 가장 높아 1.0mg/ml의 낮은 농도에서도 64.1%의 저해율을 나타내었고 3.0mg/ml과 5.0mg/ml의 농도에서는 각각 81.3%와 87.2%의 저해효과를 가졌다. 따라서 xanthine oxidase 활성을 저해하는 화합물에 대한 추가적인 연구로 xanthine oxidase의 활성을 저해하는 물질을 더욱 분리하여 순수하게 정제한다면 보다 효과적인 통풍치료약이 개발될 수 있을 것으로 생각한다. 녹차의 아세톤 추출물에서의 xanthine oxidase 저해활성은 2.0mg/ml에서도 89.7%의 높은 활성을 나타낸다고 보고된 바 있다(19). An 등(29)은 우롱차에서 두 종류의 flavan-3-ol 화합물을 분리하여 xanthine oxidase 저해효과를 조사한 결과 50μM에서 60.6%의 저해율을 나타내어 경쟁적 저해작용을 확인하였고, Choi(30)는 감잎으로부터 순수분리한 polyphenol 류인 gallate가 결합한 화합물이 100μM의 농도에서 66%와 63%의 강한 저해효과를 나타내어 현재 통풍 예방약으로 판매되고 있는 allopurinol 성분보다 효과가 강하다고 보고하였다.

#### 전자공여작용

Free radical은 epinephrine의 산화, 미토콘드리아,

Table 2. Inhibitory effect of different solvent fractions from ethanol extracts of *Zizyphus jujuba* leaf on xanthine oxidase activity (%)

Fractions	Concentration(mg/ml)		
	1.0	3.0	5.0
Chloroform	13.1	15.2	25.4
Ethylacetate	44.3	79.1	85.4
n-Butanol	37.8	53.6	84.8
Methanol	64.1	81.3	87.2
Water	47.3	62.1	75.0

All values are mean of triplicate.

식세포 또는 세포질중 xanthine oxidase나 glutathione reductase 등의 flavoenzyme에 의한 정상적인 대사과정과 같은 여러 가지 생물학적 반응에 의해 형성되며, 자외선이나 염증, 약물중독, 조직의 저산소증 및 고산소증 등 병적상태에서는 그 생성이 증가한다. 이들은 건강한 조직에서는 배혈구 등이 이를 이용하여 외부에서 침입한 물질들을 비특이적으로 제거하는 필수적인 물질이기는 하지만 불포화지방산이 풍부한 생체내의 free radical 반응에 관여함으로써 지질파산화를 일으키고 각종 질병과 노화를 일으키는 원인물질로 작용한다. 전자공여작용은 이런 산화성 활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 척도가 된다. 활성산소와 쉽게 반응하는 물질로는 tocopherol, ascorbic acid, riboflavin, uric acid 등의 항산화성 화합물과 flavone 및 flavonol 같은 폐놀성화합물을 들 수 있고, catechin이 대표적인 물질이라 할 수 있다.

대추잎 추출물 각 분획의 전자공여능 실험결과는 Table 3과 같다. 각 추출물 분획시료는 5.0mg/ml 이하의 농도에서는 전자공여 효과가 매우 낮게 나타났으나 5.0 mg/ml 농도에서는 거의 모든 분획에서 전자공여 효과를 나타냈다. 각 추출물 분획을 5.0mg/ml의 농도에서 10분간 반응시킨 결과 에틸아세테이트, 메탄올, 물, 클로로포름, 부탄올순으로 전자공여작용이 높게 나타났다. 특히 에틸아세테이트 분획은 반응 시작 5분 이내에 최대치에 가까운 전자공여 효과를 나타내어 10분간 반응시킨 결과 85%에 이르렀고, 0.1% tocopherol과 비교하였을 때 거의 비슷한 것으로 나타났다. 이것은 에틸아세테이트 층에 용해되어 있는 flavonoid 등과 같은 폐놀성화합물에 의한 것으로 추측되며(23), 이들의 전자공여는 비교적 단시간 내에 이루어지는 것으로 사료된다. 솔잎 추출물의 경우 열수와 acetone 추출물에서 각각 80.9%와 82.6%의 높은 전자공여효과를 나타내어 대추잎보다 높은 반면, 쑥잎에서는 47.1%와 45.8%로 더 낮게 나타났다(21).

Table 3. Electron donating ability of different solvent fractions from ethanol extracts of *Zizyphus jujuba* leaf (%)

Fractions	1 min	3 min	5 min	10 min
0.5% Chloroform	23.2	28.9	30.7	32.6
0.5% Ethyl acetate	42.1	62.4	79.2	85.0
0.5% n-Butanol	11.2	15.3	16.1	16.8
0.5% Methanol	29.7	37.2	39.8	48.3
0.5% Water	27.8	36.7	40.4	42.1
0.1% Tocopherol	81.2	92.1	93.7	94.1

All values are mean of triplicate.

### 아질산염 소거작용

식품의 가공 및 저장 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성억제와 발색, 산폐방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 혜모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하며 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다. 또한 단백성 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급, 3급 아민과의 nitroso화 반응은 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나며 발암물질인 nitrosamine을 생성할 수 있으므로 아질산염과 아민을 동시에 섭취했을 때 위에서 nitrosamine의 생성을 억제할 수 있는 많은 연구가 진행되고 있다. 본 실험에서는 위의 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 각 추출물 분획의 아질산염 소거작용을 측정하였고 결과는 Table 4와 같다.

대추잎에서 추출한 모든 분획에서 아질산염 분해능을 나타내었는데 농도가 증가할수록 분해능도 높아졌다. 특히 에틸아세테이트 분획에서 아질산염 분해능이 제일 높아 5mg/ml의 농도에서는 89.4%로 3mg/ml의 vitamin C보다 높게 나타났다. 분해능은 부탄올, 메탄올, 클로로포름, 물 순으로 효과가 좋았다. pH 1.2에서 녹차 추출물의 수용성 획분은 90%, 메탄올 가용성 획분은 거의 100%에 가까운 아질산염 분해작용을 나타내었고(31) 대나무잎 추출물은 각 유기용매분획에서 40% 내외의 분해효과가 있었다(19). 대추잎의 아질산염 분해효과는 녹차보다는 낮지만 대나무잎에 비해 높았고 1mg/ml의 농도에서도 모든 분획이 40% 이상의 분해능을 보여 아질산염소거에 효과적임을 보여주었다.

### Angiotensin-I converting enzyme(EC.3.4.15.1) 저해작용

Angiotensin-I converting enzyme(Kininase II peptidyldipeptide hydrolase, ACE)은 불활성인 angiotensin-

Table 4. Nitrite scavenging effect of different solvent fractions from ethanol extracts of *Zizyphus jujuba* leaf (%)

Fractions	Concentration(mg/ml)		
	1.0	3.0	5.0
Chloroform	42.1	53.3	64.5
Ethylacetate	56.0	79.1	89.4
n-Butanol	47.7	63.5	73.2
Methanol	45.0	58.2	71.1
Water	39.7	48.7	61.2
Vitamin C	58.2	85.7	96.0

The effect was determined at pH 1.2.  
All values are mean of triplicate.

Table 5. Inhibitory effect of different solvent fractions from ethanol extracts of *Ziziphus jujuba* leaf on angiotensin-I converting enzyme activity (%)

Fractions	Concentration(mg/ml)		
	3.0	5.0	10.0
Chloroform	-	-	33.8
Ethylacetate	38.1	64.3	71.4
n-Butanol	-	-	-
Methanol	-	-	-
Water	-	-	-

All values are mean of triplicate.

I의 C말단 dipeptide(His-Leu)를 절단하여 혈관벽 평활근 수축 등의 작용에 의하여 강한 혈압상승작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하는 한편, 혈압강하작용을 가지는 bradykinin을 분해하여 불활성화시킴으로써 고혈압의 원인이 되고 있다. ACE 저해인자로 인식되어지는 성분으로써 peptide와 그 유도체들, 그리고 차에 존재하는 catechin, 메밀의 rutin과 같은 polyphenol 성분들이라는 보고가 있다(32,33).

Table 5에서 나타낸 바와 같이 대추잎의 ACE활성 저해작용은 클로로포름과 에틸아세테이트 분획을 제외한 기타 분획에서 효과가 없었고 에틸아세테이트에서는 농도가 높아짐에 따라 활성 저해율도 증가하여 10mg/ml에서는 71.4%의 높은 저해율을 보였다. 클로로포름 분획은 비교적 높은 농도인 10mg/ml에서만 33.1%의 낮은 활성 저해율을 나타내었다. 이런 결과는 에틸아세테이트 분획에 phenolic acid류와 flavonoid aglycone류가 주성분으로 작용하는 것으로 추정된다(23). An(20)은 한국산 녹차로부터 ACE활성 저해작용을 가진 두 종류의 축합형 탄닌을 분리하였고 50μM에서 약 84%의 저해효과를 나타내어 산업화의 가능성을 확인시켜 주었다. 솔잎과 쑥잎의 열수추출물과 아세톤 추출물은 모두 50% 이상의 ACE활성 저해효과를 나타내었다(21). 대추잎 추출물의 ACE활성 저해효과는 솔잎과 쑥 및 한국산 녹차 등에 비해 현저히 낮았고 저해능을 높이기 위한 정제가 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

대추잎 에탄올 추출물로부터 조제한 각 분획의 xanthine oxidase 저해활성은 클로로포름을 제외한 기타 분획에서 높게 나타났고 농도가 증가하면서 저해율도 크게 증가하였으며 메탄올, 에틸아세테이트, 부탄올, 물, 클로로포름 순으로 저해효과가 높았다. 추출물의 모든 분획의 농도 0.5%에서 전자공여작용은 DPPH에 의한 흡광도의 감소현상이 반응시간 5분이내에서 강하게 나타났고 에틸아세테이트, 메탄올, 물, 클로로포름, 부탄올순

으로 높게 나타났다. 아질산염 소거작용은 1mg/ml의 낮은 농도에서도 모든 분획이 40%이상의 분해능을 나타내었고 농도가 증가하면서 분해능도 높게 나타났다. 에틸아세테이트, 부탄올, 메탄올, 클로로포름, 물 분획 순으로 분해효과가 좋았다. ACE활성 저해작용은 에틸아세테이트 분획에서는 농도가 높아짐에 따라 저해율도 증가하여 10mg/ml에서는 71.4%의 높은 저해율을 보였고 클로로포름 분획은 비교적 높은 농도인 10mg/ml에서만 33.1%의 낮은 저해율을 나타내었다.

## 문 헌

1. Miquel, J., Quintanilha, A. T. and Weber, H. : *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*. CRC Press, Vol. I, p.223(1989)
2. Brieskorn, C. H., Fuch, A., Bredenberg, J. B., McChesney, J. D. and Wenkert, E. : The structure of carnosol. *J. Org. Chem.*, **29**, 2293-2297(1964)
3. Bauernfeind, J. C. and Pinkert, D. M. : Food processing with added ascorbic acid. *Adv. in Food Res.*, **18**, 219-222(1970)
4. Tappel, A. L. : Vitamin E and free radical peroxidation of lipids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **203**, 12-15(1972)
5. Foote, C. S. and Denny, R. W. : Chemistry of singlet oxygen quenching by β-carotene. *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6233-6237(1968)
6. Lea, C. H. and Swoboda, P. A. T. : Antioxidant activity of the flavonols gossypetin and quercetagetin. *Chem. Ind.*, **8**, 1426-1430(1956)
7. Marouse, R. : The effect of some amino acids on the oxidation of linoleic acid and its methylester. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **39**, 97-102(1962)
8. Prrott, D. E., Dipietro, C., Porter, W. L. and Gilfee, J. W. : Phenolic antioxidants of soy protein hydrolyzation. *J. Food Sci.*, **47**, 24-28(1981)
9. Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C. and Lee, B. Y. : Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **27**, 80-85(1995)
10. Choi, U., Shin, D. H., Chang, Y. S. and Shin, J. I. : Screening of natural antioxidant from plants and their antioxidative effect. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **24**, 142-148(1992)
11. Lee, G. D., Chang, H. G. and Kim, H. K. : Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **29**, 432-436(1997)
12. Rhi, J. W. and Shin, H. S. : Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **25**, 759-763(1993)
13. Chung, S. H., Moon, K. D., Kim, J. K., Seong, J. H. and Sohn, T. H. : Change of chemical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **26**, 141-146(1994)
14. Park, Y. J., Kang, M. H., Kim, J. I., Park, O. J., Lee, M. S. and Jang, H. D. : Changes of vitamin C and su-

- peroxide dismutase(SOD) like activity of persimmon leaf tea by processing method and extraction condition. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **27**, 281-285 (1995)
15. Choi, S. H. : The aroma components of duchung tea and persimmon leaf tea. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **22**, 405-410(1990)
  16. Park, J. C. and Kim, S. H. : Flavonoid analysis from the leaves of *Eucommia ulmoides*. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **24**, 901-905(1995)
  17. Han, S. Y., Pack, J. C., Park, H. J., Lee, J. H. and Pack, J. C. : Phenolic compounds of the leaves of *Eucommia ulmoides*. *Arch. Pharm. Res.*, **14**, 114-118(1991)
  18. Kim, M. J., Byun, M. W. and Jang, M. S. : Physiological and antibacterial activity of bamboo leaves. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **25**, 135-142(1996)
  19. Cho, Y. J., Chun, S. S. and Choi, C. : Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **22**, 418-422(1993)
  20. An, B. J. : Chemical structure and isolated of angiotensin converting enzyme inhibitor from the Korean green tea. *Life Resources and Industry*, **2**, 67-80(1998)
  21. Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. : Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **27**, 978-984(1995)
  22. Resines, J. A., Arin, M. J. and Diez, M. T. : Determination of creatinine and purine derivatives in ruminants' urine by reversed phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **607**, 199-202(1992)
  23. Kim, J. B. : Changes of major components during growth and physiological functionality of *Eucommia ulmoides* leaves. *Yeungnam University, Ph.D. Thesis*(1999)
  24. Gray, J. I. and Dugan, Jr. L. R. : Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J. Food Sci.*, **40**, 981-985(1975)
  25. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. : Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, **20**, 1637-1648(1971)
  26. Horiuchi, M., Fujimura, K., Teashima, T. and Iso, T. : Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **23**, 123-130(1982)
  27. Storch, J. and Ferber, E. : Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.*, **169**, 262-267(1988)
  28. Hayashi, T., Sawa, K. and Morita, N. : Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J. Natural Products*, **51**, 345-348(1988)
  29. An, B. J., Bae, M. J. and Choi, C. : Inhibitory effect of flavan-3-ols isolated from oolong tea on xanthine oxidase. *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **28**, 1084-1088 (1996)
  30. Choi, H. J. : Changes of components according to persimmon leaves growth and the effects of enzyme inhibition in physiologically active compounds. *Yeungnam University, M.S. Thesis*(1997)
  31. Yoo, S. G., Yeum, D. M., Lee, D. H., Ahn, C. W., Kim, S. B. and Park, Y. H. : The Nitrite-scavenging effects by component of green tea extracts. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **23**, 287-292(1994)
  32. Maruyama, S., Miyoshi, S. and Tanaka, H. : Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from *Ficus carica*. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2763-2767(1989)
  33. Hara, Y., Matsuzaki, T. and Suzuki, T. : Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Nogeikaku Kaishi*, **61**, 803-807(1987)

(1999년 2월 18일 접수)