

한국산 배의 Polyphenol 화합물군이 쥐의 면역기능에 미치는 영향

최희진 · 한호석 · 박정혜 · 배중호* · 우희섭** · 안봉진*** · 배만중*** · 김현구**** · 최 청
영남대학교 생물산업공학부, 대구 미래대학 제과제과제과제과*, 동주대학 식품과학계열**,
경산대학교 생명자원공학부***, 한국식품개발연구원****
(2003년 4월 8일 접수)

Effect of Polyphenol Compounds from Korean Pear on Immunofunctional Activity

Hee-Jin Choi, Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Jong-Ho Bae*, Hee-Seob Woo**, Bong-Jeun An***,
Man-Jong Bae****, Hyun-Gu Kim****, and Cheong Choi

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University

Department of Confectionary Decoration, Daegu Mirae College*

School of Food science, Dongju College**

Faculty of Life Resources and Engineering, Kyungsan University***

Korea Food Research Institute****

(Received April 8, 2003)

Abstract

This study was conducted to investigate immunofunctional activity of the polyphenol fractions isolated from Korean pear. In the experimental of Rosette forming cell, the results showed that all the polyphenol fractions enhance the cell count compared with the control group. Especially polyphenol fraction II and III showed highly significant effect on Rosette forming cell, and allergy inhibition. After antigen challenge, histamine content of blood of the polyphenol groups was lowered to near the normal group.

Key Words : Korean pear, immunofunction, plague forming cell, Rosette forming cell, histamine

I. 서론

배는 우리 나라와 일본이 원산지인 남방형 동양 배(일본배, *Pyrus pyrifolia* N.)와 중국이 원산지인 북방형 동양배(중국배, *Pyrus ussuriensis* M.) 그리고 유럽 및 서부아시아가 원산지인 서양배(*Pyrus communis* L.) 등 세 가지로 구분된다. 우리나라의 배는 1906년에 일본에서 개량된 품종들이 도입되어 전국적으로 재배되고 있는 주요 과실중의 하나로서

기호도가 좋아 대부분 생과로 소비되고 있다.

배는 먹을 수 있는 가식율이 80-82%, 수분함량이 85-88%이며 열량은 51칼로리이다. 배의 주성분은 탄수화물이며 당분이 10-13%로 품종에 따라 차이가 많고 단백질 함량은 0.3% 내외로서 다른 과실과 큰 차이가 없으며 지방질은 0.2%, 섬유소는 0.5%로 다른 과실에 비해 다소 적은 편이다. 그러나 배는 나트륨, 칼슘, 마그네슘, 인등이 많아 강한 알칼리식품으로 건강 지향적인 식품으로 잘 알려져 있다¹⁾.

예로부터 배 잎과 껍질, 과실을 민간요법으로 사용하여 왔는데 껍질은 부스럼이나 피부질환에, 과일은 가래, 기침, 숙취, 해열, 변비, 연육 등에 쓰여져 왔다²⁾. 배의 세포벽은 다당류인 20-30%의 셀룰로오스, 25%의 헤미셀룰로오스, 35%의 펙틴과 5-10%의 당단백질, 그리고 미량의 페놀계 물질로 구성되어 있으며, 이들이 서로 복잡하게 연결되어 있다³⁾. 배에 관한 연구 중 가공에 대한 연구로는 배 주스의 리올로지 특성⁴⁾, 배 과즙의 수율 향상 방법^{5,6)}, 착즙 전처리가 배 과즙의 품질에 미치는 영향⁷⁾, 신고배의 저장 중 이화학적 품질변화^{8,9)}, 가공방법이 배 주스의 품질에 미치는 영향¹⁰⁾, 갈변억제¹¹⁾ 및 polyphenol oxidase¹²⁾에 대한 보고 등이 있다. Polyphenol 화합물이란 한 분자내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가진 방향족 화합물들을 가리킨다. 천연 polyphenol 화합물로는 flavonoid, lignans, lignins 그리고 탄닌들이 있다. 탄닌으로 분류되는 polyphenol은 식물계에 다량 존재하며 친수적이고 분자량이 500-4,000 dalton정도이다¹³⁾. 탄닌은 단백질과 결합하는 특징을 가진 polyphenol을 총칭하는 것으로 분자량은 약 500 dalton 이상이며 축합형 탄닌과 가수분해형 탄닌으로 분류한다¹⁴⁾. 배의 축합형 탄닌은 flavan-3-ol을 기본 구성단위로 하는 물질이 발견된 이래 식물체에서 분리한 polyphenol 화합물이 각종 세균, 효모의 생육 억제활성 및 효소저해활성이 있음이 보고되었다¹⁴⁾.

Haslam^{15,16)}은 탄닌은 가수분해형 탄닌과 축합형 탄닌으로 분류하였고 이 분류에 포함하지 않는 탄닌을 신행탄닌으로 분류하고 있다. 가수분해형 탄닌은 몇몇 쌍자엽식물에만 볼 수 있는 것으로 산과 알칼리 tannase에 의해 다갈알콜과 phenol carbonic acid로 분해되는 탄닌류로서 gallotannin과 ellagitannin으로 다시 구분된다. 산가수 분해 시 gallotannin은 polyol과 gallic acid를 생성하고 ellagitannin은 hexahydroxydiphenic acid와 D-glucose를 생성한다¹⁷⁾. 최근 새로운 기술의 발달로 인하여 축합형 탄닌¹⁷⁾ 뿐만 아니라 가수분해형 탄닌^{18,19)}도 화학적 구조가 밝혀지고 있으며 이들 물질들의 생리활성에 관한 연구도 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 한국산 배에서 분리한 polyphenol 화합물군이 Rosette 형성, 항체생산능 및 histamine 억제효과에 미치는 면역기능의 영향을 검증하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

본 실험에 사용한 배는 나주에서 11월에 수확한 신고(*Pyrus pyritolia* Nakai cultra nakai var.)를 2000년 11월 10일에서 2001년 5월 10일까지 6개월 동안 배 60개를 4 지온실에서 polyethylene 필름으로 포장하여 저장 1개월의 것을 채취하여 배의 과피와 과속의 폐기부분을 분리하여 공시시료로 하였다.

2. 생리활성물질의 분리

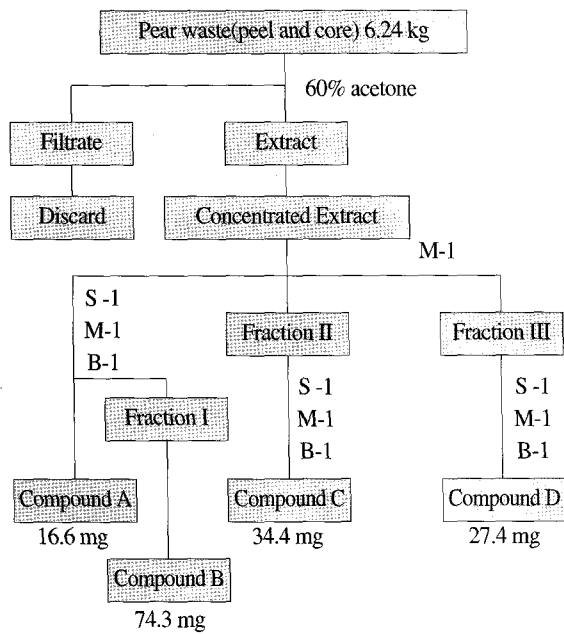
배 6.24 kg으로부터 생리활성물질의 분리는 <Fig. 1>에서 보는 바와 같이 80% ethanol 5 L로 실온에서 3일간 추출하여 8,000 g에서 30분간 원심분리하였다. 원심분리한 상정액을 rotary evaporator로 농축하고 이를 동결건조하여 Sephadex LH-20으로 ethanol과 증류수로 구배 용출시켜 생리활성물질 분리, 회수하여 냉동 건조한 Zhang 등⁸⁾의 방법에 따라 분획한 분획물 I, II 및 III을 공시재료로 하였다.

3. 동물실험

실험 동물은 국립보건원에서 생후 4주령 된 BALB/c 웅성 마우스를 분양 받아 사용하였으며, complement를 조절하기 위해 Guinea pig(300±5 g)를 (주)대한 실험동물센터에서 구입하여 이용하였다. Guinea pig로부터 혈청을 채취하여, -70°C에 보관하면서 사용하였고, 일반사료(삼양사(주))로 2주 이상 사육실에서 사육하면서 적응시켰다. 사육실 온도는 22±2°C로 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로, 물은 자유롭게 섭취시켰다. 실험에 사용된 군으로는 대조군 및 시료 50 mg/mL을 투여한 군으로 한 군당 7마리씩 나누어 사용하였으며, 시료투여는 복강으로 10일간 투여하였으며, 대조군은 생리식염수를 투여하였다.

4. 시료투여 및 면역유발과정

세포 세정액으로는 인산완충용액(phosphate buffer saline: PBS, pH 7.2)을 조절하여 0.45 μm



<Fig. 1> The procedure for isolation of polyphenols from pear (peel and core).

S-1: Sephadex LH-20 column chromatography [methanol: water (0→1)]

M-1: MCI gel CHP-20 column chromatography [methanol: water (0→1)]

B-1: Bondapak C18 column chromatography [methanol: water (0→1)]

filter (Coming Co., USA)로 여과 멸균시켜 사용하였으며, 세포배양액은 RPMI 1640 배지를 초순수 증류수에 용해하고, NaHCO_3 (2g/L), penicillin (100 U/mL) 및 streptomycin (100 g/mL)을 첨가하여 pH 7.2로 조정 후, 0.45 μm filter로 여과 멸균하여 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다. 시료투여 및 면역유발과정은 배로부터 분리된 각각의 배의 분획물 및 생리식염수 용액의 복강내 투여는 10일간 행하고, 배의 분획물 투여 6일째에 항원으로써 Sheep erythrocytes를 Kolmer saline으로 3회 세척한 후 1×10^9 cells/mL이 되게 조정하여 마우스의 복강에 0.2 mL를 주사하여 항원을 투여하였다. 항원투여 후 4일이 경과한 다음 마우스의 정맥으로부터 채혈하여 혈청을 분리한 후 실험에 사용하기까지 -70°C 에서 보관하였다.

5. 복강내 침출세포 (Peritoneal exudative cells, PEC) 조제

마우스의 복부를 절개하여 비장을 적출한 후, 분절하여 세포부유액으로 만들어 500 g에서 10분간 원심분리 하였다. 원심분리 후 상정액을 제거하고 적혈구를 용해하기 위하여 0.83% ammonium chloride tris (ACT) buffer (pH 7.2)로 처리한 다음에 RPMI 1640으로 3회 세척하고, 500 g에서 10분간 원심분리하여 세포수를 조정하였다. 세포수 조정은 PEC와 spleen cells을 trypan blue로 염색한 후, 혈구 계산반 (Hemocytometer)을 사용하여 현미경 상에서 생세포수를 측정하여 사용 하였다²⁰⁾.

6. 용혈반 형성 세포 (Plaque forming cell, PFC) 측정

항체 생산세포의 검색은 Cunningham 방법²¹⁾에 의하며, 배의 분획물 투여는 10일간 행하고 6일째에 SRBC를 1×10^9 cells/mL이 되도록 조정하여 마우스의 복강에 0.2 mL 주사하였다. 4일 후 비장을 적출하여 세포부유액으로 만들어 3회 세척 후, 1×10^6 cell/mL이 되도록 조정한 spleen cells 200 μL 와 10% SRBC 36 μL , complement 21 μL 그리고 5% FCS-HBSS액 143 μL 를 혼합하여, 제작한 Cunningham chamber에 넣어 37°C 항온기에서 1시간 배양하면 항체생산세포 주위에 적혈구가 용해된 투명한 용혈반 (plaque)이 생성된다. 이때의 용혈반수를 세어 항체생산 세포수를 산정 하였다.

7. 비장세포의 Rosette forming cell (RFC) 측정

비장세포의 Rosette형성세포의 검사는 Garvey의 방법에 따라²²⁾ 행하였다. 즉, 비장세포 부유액 (2×10^7 cell/mL) 200 μL 와 1% SRBC 부유액 200 μL 를 시험관에 넣고 혼합하여 1700 rpm에서 원심분리한 후, 이것을 다시 부유시켜 혈구계산반에 주입하여 RFC를 검경 관찰한다. 현미경상에서 비장세포에 SRBC가 3개 이상 부착한 세포를 RFC로 판정하여 다음 공식에 준하여 계산하였다.

$$\text{RFC per mL in rosette mixture} / \text{Viability} \times 10 = \text{RFC}/10^6 \text{ viable nucleated cells}$$

8. 알레르기 항원 조제

Egg albumin을 알레르기 항원으로 사용하였다. 즉, 2 mg/mL 농도의 항원용액과 동량의 complete Fraund's adjuvant를 혼합해서 유허용 주사기를 사용하여 유허한 것을 마우스 좌우 대퇴부에 100μL씩 피하 주사한다. 최초 면역 후 2주 간격으로 총 3회 면역하고, 1주, 3주 및 5주째에 3일 동안 각각의 배의 분획물을 투여한 다음 채혈해서 PCA 실험과 혈중 histamine을 측정하였다²³⁾.

9. 혈중 histamine 측정

혈청 histamine 측정은 헤파린이 처리된 시험관에 채혈한 혈액 0.5 mL를 혼합해서 미리 준비한 1N HCl 1.0 mL를 넣고 혼합 원심 분리하였다. 상정액은 butanol-chloroform 용매로 추출한 다음 0.2% O-phthal aldehyde(OPT) 발광제로 발광한 것을 fluorometric Spectrophotometer(Act. 360 nm, Fluo. 440 nm) 에서 측정하였다²⁴⁾.

III. 결과 및 고찰

1. 배 추출물의 용혈반 형성에 미치는 영향

용혈반 형성은 면양의 적혈구로 면역시킨 마우스의 비장세포를 Cunningham chamber에 면양적혈구와 보체를 혼합하여 배양하게 되면, 항체생산 세포는 면역 글로부린을 방출하게 되며, 방출된 면역글로부린은 주위의 적혈구에 결합하게된다. 여기에 보체가 결합하면 항체가 붙은 적혈구는 용해되고, 적혈구가 없어진 용혈반이 각 항체생산세포를 감싸고 있게 된다. 이러한 원리를 이용하여, 면양적혈구로 면역시킨 마우스에 배로부터 추출, 분리된 polyphenol 화합물을 마우스 복강에 10일간 투여한 후, 마우스 복강 상재성 마크로파지와 비장을 적출하여 이들이 항체 생성에 미치는 영향을 실험한 결과는 <Table 1>에서 보는 것과 같이, 대조군에 비하여 농도가 높은 열수 추출물의 투여군과 메탄올추출물 및 아세톤추출물 투여군이 다소 높은 항체생산능력을 나타내었으며, 생성된 항체에 의해서 항원

<Table 1> Effect of polyphenol fraction I, II and III from pear on plaque forming cells(PFC).

Group	PFC of numbers
	Spleen
CON	39±5.0
I	41±6.5
II	70±8.2**
III	89±7.3**

BALB/c mice was intraperitoneally injected with saline or polyphenol fraction

I, II and III extracted from pear for 10 days

The BALB/c mice was immunized with 0.2 mL SRBC(1×10^9 cells/mL) before assay values are mean ± S. D. of 7 mice

P-values was determined by t-test

** : p<0.01

CON : Control

I : Polyphenol fraction I from pear

II : Polyphenol fraction II from pear

III : Polyphenol fraction III from pear

인 SRBC를 파괴하여 많은 용혈반을 형성하는 것으로 나타났다.

비장세포와 복강 마크로파지로 부터 세포 부유액을 조제하여 항체생산능을 실험한 결과 배로부터 분리, 정제된 polyphenol 화합물 I, II 및 III을 투여한 실험군에서 대조군에 비하여 항체생산이 증가된 것은 Okonogi 등²⁵⁾이 보고한 감 탄닌이 면역기능을 부활시키는 작용을 한다는 보고와 유사한 경향을 나타내고 있다.

2. 배의 추출물의 Rosette 형성에 미치는 영향

마우스에 면양적혈구로 면역시킨 뒤, 10일간 시료를 투여한 후, 비장과 복강 마크로파지를 분리하여 세포 부유액을 조제하며 면양적혈구를 혼합시켜 재부유 한 후 Rosette 형성을 관찰한 결과는 <Table 2>와 같다. 대조군은 비장세포 10^6 당 43 ± 5.4 개의 Rosette를 형성하였으며, 실험군인 I은 48 ± 6.7 , II는 67 ± 3.1 로 대조군에 비해 유의성은 나타내지 않았으나, polyphenol 화합물 III은 73 ± 4.5 로 유의성(p<0.05)을 나타내었다.

Wybran 등²⁶⁾과 Minowata 등²⁷⁾은 말초 혈액의 림프구 중 면양의 적혈구와 작용 하여 rosette를 형성할 수 있는 능력이 있는 림프구가 T 림프구라고

<Table 2> Effect of polyphenol fraction I, II and III from pear on Rosette forming cells(RFC).

Group	RFC/10 ⁶ spleen cell	
	Spleen	
CON	43±5.4	
I	48±6.7	
II	67±3.1*	
III	73±4.5**	

BALB/c mice was intraperitoneally injected with saline or polyphenol fraction

I, II and III extracted from pear for 10 days

The BALB/c mice was immunized with 0.2 mL SRBC(1×10⁹ cells/mL) before assay values are mean±S. D. of 7 mice

P-values was determined by t-test

*: p<0.05, **: p<0.01

CON, I, II and III are the same as described in <Table 1>

추출하였고, 말초혈액에서 림프구를 분리하여 면양 적혈구에 작용시켜 Rosette를 형성하는 림프구를 계측함으로써 혈액 중의 T림프구의 수적 변동을 측정할 수 있다고 보고하였다. 이러한 보고에서 볼 때 대조군에 비해 배의 polyphenol 화합물들을 투여한 비장과 복강 마크로파지에서 Rosette 형성 세포가 증가된 것은 이들 시료들이 T 세포 생성능이 높은 것으로 사료된다.

3. 배의 추출물의 세포증식에 미치는 영향

배의 각 분획물이 면역기능을 갖는 장기 중의 하나인 비장세포에서의 *in vitro* 세포 증식능을 확인하기 위하여, 비장세포 부유액에 배에서 분리한 polyphenol 화합물 I, II 및 III을 농도별로 첨가하였다. 각각의 시료를 첨가한 후 배양 시간별에 따른 세포증식능을 실험한 결과는 <Table 3>와 같다.

비장세포 부유액 2×10⁵ cells/mL에 polyphenol 화합물을 농도별(10 mg/mL, 1 mg/mL, 0.1 mg/mL과 0.01 mg/mL)로 첨가하여 배양한 결과, 실험군 모두에서 농도 의존적으로 세포가 증식되는 것으로 관찰되었으며, 대조군에 비하여 유의성을 나타내었다. 비장세포와 각각의 시료를 혼합하여 24, 48 및 72시간을 배양한 결과, 대조군에 비해 실험군은 배양시간이 경과할 수록 비장세포의 증식이 높은 것으로 관찰되었다. An 등²⁸⁾은 감잎으로부터 분리된

<Table 3> Activity of spleen cells in a culture medium containing polyphenol fraction I, II and III from pear

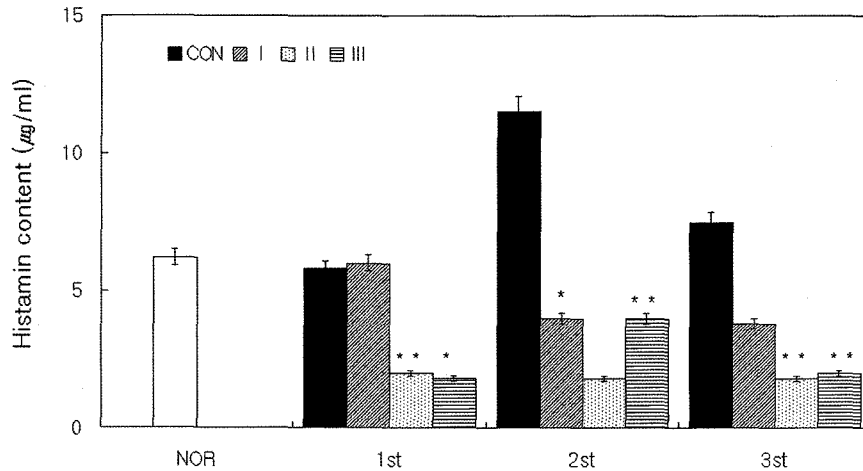
Dose(mg/mL)	Harvest of culture supernatant	
	24 hr	48 hr
CON	0.19	0.12
Fraction I		
0.1	0.16	0.12
1	0.29	0.16
5	0.53	0.41
10	0.72	0.67
Fraction II		
0.1	0.14	0.19
1	0.34	0.17
5	0.90	0.34
10	2.11	0.70
Fraction III		
0.1	0.12	0.25
1	0.28	0.16
5	0.41	0.35
10	0.91	0.45

Spleen cells from BALB/c mice were cultured at 5×10⁶ cells/mL in 0.2 mL microcultures. The extracts were added to the well at 0.1 mg/mL, 1 mg/mL, 5 mg/mL, 10 mg/mL and incubated for 24 hrs, 48 hrs.

epicatechin 3-O-gallate에 대하여 세포증식을 실험한 결과 시료의 농도가 증가함에 따라 세포수가 유의성 있게 증가하였다고 보고하고 있어, 배에서 분리, 정제된 polyphenol 화합물 I, II 및 III 모두가 비장세포에 대하여 세포증식이 유도된 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

4. 배의 추출물의 histamine 억제 효과

Egg albumin으로 1차, 2차 및 3차 면역시킨 후 각각의 면역 후 배의 polyphenol 분획물을 감작된 마우스의 복강에 3일간 연속 투여한 후 말초정맥으로부터 혈액을 채취하여 혈중 histamine 함량을 실험한 결과는 <Fig. 2>와 같다. 혈중 histamine 함량 중 시료와 항원으로 감작시키지 않은 정상군에서의 histamine 함량은 5.50±2.34 µg/mL이었으며, 1차 면역 후의 대조군은 5.30±1.32 µg/mL로 정상군과 비슷한 경향을 나타내었으나, 배의 polyphenol 화합물 II는 2.00±1.70 µg/mL와 III은 1.50±0.80 µg/mL으로



<Fig. 2> Inhibition effect of polyphenol fraction I, II and III from pear on histamine release in blood.

Sample was intraperitoneally injected to the BALB/c mice for 3 days, 3 hr before the challenging injection of antigen

Immunization was induced 3 times, 1 week, 3 weeks and 5 weeks

Histamine levels were expressed with value of 7 mice per group

Values are means ± S.D. of 7 mice

P-value was determined by t-test

* : p<0.05, ** : p<0.01

CON was intraperitoneally injected with physiological saline to BALB/c mice I, II and III were the same as described in <Table 1>

정상군 보다 혈중 histamine 유리가 억제된 것으로 나타났으나, fraction I은 $5.30 \pm 0.30 \mu\text{g/mL}$ 으로 대조군과 차이를 보이지 않았다. 2차 면역 후의 대조군에서의 histamine 함량은 $11.6 \pm 2.62 \mu\text{g/mL}$ 로 시료를 투여한 모든 군에서는 fraction I은 $4.21 \pm 0.53 \mu\text{g/mL}$, II는 $1.86 \pm 1.20 \mu\text{g/mL}$, III은 $3.80 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$ 으로 나타나 높은 유의성(p<0.01) 있는 억제 효과가 관찰되었으며, 3차 면역 후도 유사한 경향을 보였다. 즉 대조군은 $7.36 \pm 2.40 \mu\text{g/mL}$ 인 반면 fraction I은 $3.76 \pm 1.20 \mu\text{g/mL}$, II는 $1.80 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$ 및 III은 $1.43 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났으며, 배의 polyphenol 분획물의 투여군 중 fraction III이 가장 낮은 함량을 보였으며, 실험 전반에 걸쳐 배의 polyphenol 화합물을 투여한 모든 군에서 혈중으로 유리되는 histamine 함량이 적은 것으로 나타났다.

Histamine은 혈관확장 작용과 평활근 수축작용을 가지고 있는 혈관작용성 아민으로, 여러 조직에 널리 분포되어 있으며, 비만세포에 고농도로 포함되어 있어서, 즉시형 과민증의 전형적인 혈관병변을 발생시켜 두드러기나 발적반응을 유발시키는 물질로 알려져 있다. Maeda 등²⁹⁾은 차 추출액의 비만세포

histamine 유리억제 활성화에 관한 보고에서 compound 48/80으로 유도된 비만세포로부터의 histamine 유리에서 모든 차 추출물이 histamine 유리억제 효과를 나타내었으며, 추출물의 억제능이 phenolic 화합물에 의한 것이라고 보고하고 있어, 대조군에 비하여 모든 실험군에서 혈중으로 유리되는 histamine이 유의성 있게 감소되는 경향을 보인 본 실험결과와 유사한 경향을 나타내었다.

IV. 요약

한국산 배로부터 polyphenol 화합물을 분리하여, 기능성 식품으로서의 근거를 제시하고자, 면역기능의 활성화에 관하여 동물실험을 하였다. 배의 polyphenol 화합물이 면역기능에 미치는 영향에 관한 실험에서는 배로부터 분리된 polyphenol 화합물 I, II 및 III에 대하여 Rosette 형성은 배의 polyphenol 화합물 II와 III을 투여한 군에서 분리된 비강과 복강 상재성 마크로파지에서 Rosette 형성능이 높은 것으로 나타났다. 항원 투여 후 혈중의 히스타민을 측정

한 결과는 거의 정상군에 가깝게 혈중 histamine 함량을 낮추는 역할을 하였다.

감사의 글

이 연구는 1999년도 농림부 첨단기술 개발 사업 과제(NO.104320)에 의하여 연구비를 지원받아 수행하였으므로 이에 감사드립니다.

■ 참고문헌

- 1) Lee DS, Woo SK, Yang CB. Studies on the chemical composition of major fruits in Korea. Korean J Food Sci Technol 4: 123-139, 1975.
- 2) Yu TJ. Sikpunbogam. Munundang, p.166, 1989.
- 3) Fisher RB, Bennett AB. Role of cell wall hydrolase in fruit ripening. Ann Rev Plant Mol Bio 42: 675-703, 1991
- 4) Choi HD, Kim KT, Hong H.D, Lee BY, Kim SS. Rheological properties of pear juice concentrates. Korean J Food Sci Technol 27: 845-851, 1995.
- 5) Kim GH, Cho SD, Kim DM. Quality evaluation of minimally processed asian pears. Korean J Food Sci Technol 31(6): 1523-1528, 1999.
- 6) Shin YU, Yun MS, Kim TC, Kim YS, Lee KK. A study on the processing suitability of pear and Chinese jujube cultivars. RDA J Agric Sci 34: 58-65, 1992.
- 7) Montgomery MW, Petroparkis HJ. Inactivation of bartlett pear polyphenol oxidase with heat in the presence of ascorbic acid. J Food Sci 45: 1090-1091, 1980.
- 8) Zhang YB, Bae MJ, An BJ, Choi HJ, Bae JH, Kim S, Choi C. Effect of antioxidant activity and change in quality of chemical composition and polyphenol Compound during long-term Storage. Korean J Food Sci Technol 35: 115-120, 2003.
- 9) Park HJ, Rhim JW, Lee HY. Edible coating effects on respiration rate and storage life of Fuji apples and Shingo pear. Food and Biotech 5: 59-63, 1996.
- 10) Spanos GA, Wrolstard RE. Phenolics of apple, pear and white grape juices and their changes with processing and storage. J Agric Food Chem 40(9): 1478-1487, 1992.
- 11) Sapers GM, Douglas Jr FW. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. J Food Sci 52: 1258-1252, 1987.
- 12) Kang YH, Sohn TH, Choi JU. Isolation, purification and some preparation of polyphenol oxidase from pear. Agric Res Bull Kyung-Book Natl Univ 4: 55-64, 1986.
- 13) Furuuichi EE, Nonaka GI, Nishioka I, Hayashi K. Isolation and structures of procyanidins(condensed tannins) from *phaphiolepis umbellata*. Agric Bio Chem 50(8): 2061-2067, 1986.
- 14) Hsu Fl, Nonaka GI, Nishioka IN. Isolation and characterization of procyanidins in *Dioscorea cirrhosa* Lour. Chem Pharm Bull 33(8): 3293-3298, 1985.
- 15) Haslam E. Plant polyphenols, vegetable tannin revisited. Cambridge University Press Cambridge, 1989.
- 16) Haslam E. Chemistry of Vegetable Tannins. Academic Press, London and New York, 1966.
- 17) Takashi Y, Atallah F, Ahmed MU, Menon, Takuo O. Tannins of tamaricaceous plants. II, New monmeric and dimeric hydrolyzable tannins from *reaumuria hirtella* and *tamarix pakistanica*. Chem Pharm Bull 39(1): 2849-2854, 1991.
- 18) An BJ, Lee JT. Studies on the chemical structure of polyphenols isolated from medicinal plant. J Life Resources & Industry 48-58, 1998.
- 19) Takashi Y, Fuminisa N, Takuo K. Tannins and related polyphenols of melastomataceous plants. VIII, Nobotanins L, M and trimeric hydrolyzable tannins from *Tibouchina semidecandra*. Chem Pharm Bull 47(6): 824-827, 1999.
- 20) Park MH, An BJ, Sung TS, Choi C, Bae MJ. Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves on immunofunctional activity. J Life Resources & Industry 3: 26-34, 1998.
- 21) Cunningham AJ, Szemberg A. Further improvements in the plaque technique for detecting

- single antibody-forming cell. *Immunology* 14: 599, 1968.
- 22) Garvey JS. *Method in Immunology*. WA Benjamin Inc p.445-446, 1980.
- 23) Kiyoshi S. Anti-allergic effects of tea. *Food Science and Industry* 28: 4, 1995.
- 24) Park MH, Choi C, Son GM, An BJ, Bae MJ. Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves on antiallergy. *J Korean Soc Food Sci Nut* 29: 116-119, 2000.
- 25) Okonogi T, Hatton Z, Ogiso A, Mitsui S. Detoxification by persimmon tannin of snake venomes and bacterial toxins. *Txicon* 17: 525, 1970.
- 26) Wybran J, Carr MC, Fudenberg HH. The human rosette forming cell as a marker of a population of thymus-derived cells. *J Clin Invest* 51: 2537, 1972.
- 27) Minowata T, Ohmuma T, Moore GE. Brief communication rosette forming human lymphoid cell lines. I, Establishment and evidence for origin of thymus-derived lymphocytes. *J Nat Cancer Inst* 49: 891, 1972.
- 28) An BJ, Bae MJ, Choi C. Chemical structure and isolation of glucosyltransferase inhibitor from the leaves of Korean persimmon. *Food Science and Biotechnology* 7(1): 23-27, 1998.
- 29) Maeda Y, Yamamoto M, Masui T, Sugiyama K, Yokota M, Nakagomi K, Tanaka H, Takahashi I, Kobayashi T. Inhibitory effect of tea extracts on histamine release from mast cells. *Food J Hygiene* 30(4): 295, 1989.