

HPLC에 의한 녹차의 polyphenol 화합물의 분리 및 polyphenol의 생리활성

유희섭¹ · 최희진 · 한호석 · 박정혜 · 손준호 · 안봉전² · 손규목³ · 최 청*

영남대학교 생물산업공학부, ¹동주대학 식품과학계열,
²경산대학교 생명자원공학부, ³창원전문대학 식품영양과

Isolation of Polyphenol from Green Tea by HPLC and Its Physiological Activities

Hee-Seob Woo¹, Hee-Jin Choi, Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Jun-Ho Son, Bong-Jeun An², Gyu-Mok Son³ and Cheong Choi*

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University

¹School of Food Science, Dongju College

²Faculty of Life Resource and Engineering, Kyungsan University

³Division of Food Science, Changwon Junior College

Polyphenols were isolated from Korean green tea using Sephadex LH-20 and HPLC. The isolated polyphenols were procyanidin B-4, procyanidin B-2-3,3'-digallate, prodelfphinidin C-2-3,3'-di-O-digallate, (+)-catechin-3-O-rhamnose, procyanidin B-5, procyanidin B-7-3-O-gallate, epiafzelechin-(4β→8)-epiafzelechin, procyanidin B-3-3-O-rhamnose, afzelechin-(4α→8)-catechin, prodelfphinidin B-5-3,3'-di-O-digallate and (+)-taxifolin-3-O-D-xyloside. The inhibitory effects of prodelfphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate and procyanidin B-2-3,3'-digallate (at 100 μM) on angiotensin-converting enzyme were 68.8 and 54.6%, respectively, while the inhibitory effects of prodelfphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate and procyanidin B-2-3,3'-digallate (at 100 μM) on xanthine oxidase were 54.5 and 38.2%, respectively. Lastly, the inhibitory activities of prodelfphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate (at 100 μM) on tyrosinase was 42.1%.

Key words: green tea, polyphenol, functional food, angiotensin converting enzyme, xanthine oxidase and tyrosinase inhibitor

서 론

녹차는 전세계의 가장 오래된 역사를 가지고 있는 음료로써 국민소득의 향상과 건강음료의 인식전환으로 그 소비가 급증하고 있다. 최근에는 녹차에 대한 관심이 높아지면서 차의 성분과 그 약리 효과에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 녹차는 다른 식품에 비하여 threanine과 polyphenol류가 다량 함유되어 있다^(1,2). 녹차의 기능성분은 다엽종의 polyphenol류에 속하는 flavan-3-ol을 기본으로 하는 catechin은 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallo catechin gallate, (+)glllo-catechin 등이 주성분인 것으로 알려져 있다^(3,4). 녹차에 들어 있는 polyphenol류는 혈중 콜레스테롤을 저하시키고^(5,6), 항산화 작용⁽⁷⁻¹²⁾, 항암작용⁽¹³⁻¹⁶⁾, 해독작용⁽¹⁷⁻¹⁹⁾, 항균작용⁽²⁰⁻²²⁾, 충치

예방작용⁽²³⁾, 노화억제작용⁽²⁴⁾, 미백효과⁽²⁵⁾ 및 향기성분⁽²⁶⁻²⁸⁾ 등이 보고되고 있다. 또한 녹차에 들어있는 polyphenol류는 통풍예방은 물론 과산화지질을 억제하고 노화를 지연시키며 중성지질의 생성을 억제하므로 비만을 방지하고 모세혈관의 저항력을 증진시킨다고 보고되고 있다⁽²⁹⁾. 이러한 녹차의 기능성이 밝혀지면서 녹차에 대한 인식이 새로워져 많은 사람들로 부터 애용하는 기호음료로 자리잡고 있다. 따라서 polyphenol류의 분석방법은 주석산철을 이용하여 간이 비색정량하는 방법이 있으나 오차범위가 큰 것이 결점이라 하겠다. 최근에는 HPLC 기기^(30,31)를 사용하여 polyphenol류를 분석하는 방법이 개발되었으나 아직 완전히 정립되지 않았기 때문에 본 연구에서는 녹차를 에탄올로 추출하고 Sephadex LH-20으로 polyphenol 화합물을 분리한 후, HPLC로 polyphenol 화합물을 단일물질로 분리, 정제하여 그 생리활성을 검토하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 실험에 사용한 녹차(*Camellia senensis* L.)는 시판용 T회사 설록차를 구입하여 공시재료로 사용하였다.

*Corresponding author : Cheong Choi, Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, 214-1 Daedong Kyungsan, Kyungbook, 712-749, Korea
Tel: 82-53-810-2952
Fax: 82-53-815-1891
E-mail: cchoi@yumail.ac.k

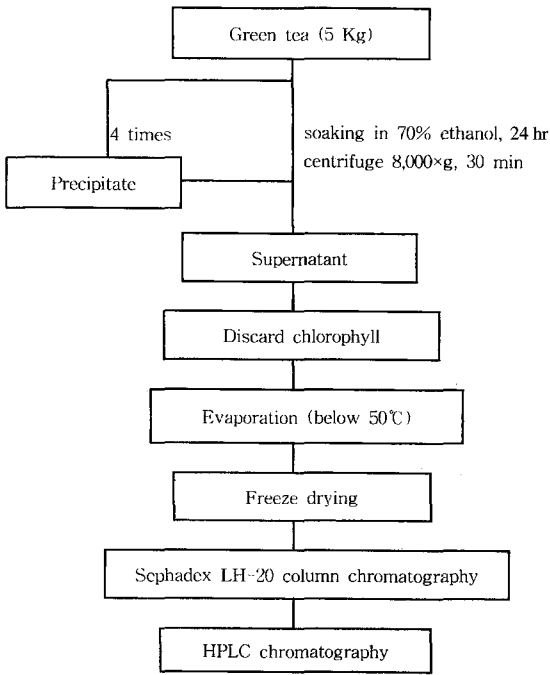


Fig. 1. The analysis procedure of polyphenols from green tea.

녹차로부터 에탄올에 의한 생리활성물질추출

건조된 녹차잎 5 kg에 70% 에탄올을 가하여 실온에서 24 시간 추출한 후 8,000×g 에서 30분간 원심분리하여 상정액과 침전물을 얻었고 이 침전물을 다시 70% 에탄올을 가하여 위와 같은 추출과정을 4회 반복하였다. 각각의 상정액을 모아 농축, 여과하여 chlorophyll을 제거하고 rotary evaporator로 농축한 후 동결건조 하였다(Fig. 1).

Sephadex LH-20 및 HPLC에 의한 polyphenol 화합물 분리

녹차의 에탄올 추출물을 동결건조하여 얻은 300 mg을 Sephadex LH-20 column(2.0×30.0 cm)에 의해 분획하였다. 용출액은 증류수 및 10에서 70%까지의 에탄올을 사용하였으며, 용출속도는 1.6 mL/min로 분획한 후 동결건조하여 HPLC용 분석 자료로 사용하였다. 순수분리정제된 polyphenol 물질들은 표준 물질과 LC 머무름 시간과 비교해 사용하여 HPLC로 분석 비교 동정하였다. HPLC(Shimazu LC-20)의 분석조건은 column으로 Superisorb ODS-2(5 μm)을 사용하였고, eluent는 CH₃CN : H₂O = 1 : 4(containg oxalic acid 400 mg/L)를 0.75 mL/min로, 그리고 254 nm에서 UV detector를 사용하였다.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 활성 측정

ACE 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti⁽³²⁾의 방법에 의하여 행하였다. 즉, 반응은 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질(Hippuryl-L-histidyl-L-leucine : HHL) 2.5 mL, ACE 0.1 mL와 녹차의 에탄올 추출물을 분획하여 제조한 각 탄닌용액 0.1 mL를 혼합하였고, 대조구는 탄닌 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 1N-HCl 0.3 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 mL의 ethylacetate를 첨가하였다. Ethylacetate층으로부터

용매를 증류시킨 잔사에 2 mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 280 nm에서 측정하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid}}{\text{대조구의 hippuric acid}} \right) \times 100$$

Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 활성저해 측정은 Stirp와 Cortes⁽³³⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 처리구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 mL에 효소액 0.1 mL와 탄닌용액 0.1 mL를 가하고 대조구에는 탄닌 대신 증류수를 0.1 mL 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}} \right) \times 100$$

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용결과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의해 측정하는 Kim 등⁽³⁴⁾의 방법에 따라 mushroom tyrosinase(90 unit/mL) 0.5 mL, 기질로서 DOPA 0.5 mL, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 1 mL의 혼합액에 시료용액 1 mL를 첨가한 후 25°C에서 2분간 반응시켜 흡광도 475 nm로 측정하고 dopachrome의 변화를 저해값으로 환산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{(A - B) - (C - D)}{A - B} \times 100$$

- A: Absorbance at 475 nm without test sample after incubation
- B: Absorbance at 475 nm without test sample before incubation
- C: Absorbance at 475 nm with test sample after incubation
- D: Absorbance at 475 nm with test sample before incubation

결과 및 고찰

HPLC에 의한 polyphenol 성분의 동정

녹차를 에탄올로 용출한 후 Sephadex LH-20으로 분리정제하여 HPLC에 분석한 결과 용출액별 HPLC chromatogram은 Fig. 2 및 Table 1과 같이 11종의 polyphenol 화합물을 분리 동정 하였다. Procyanidin B-4와 (+)-catechin-3-O-rhamnose는 증류수에서 분리 검출되었고 20% 에탄올에서 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate, (+)-catechin-3-O-rhamnose, procyanidin B-2-3,3'-digallate, procyanidin B-7-3-O-gallate가 분리검출 되었다. 70% 에탄올에서는 epiafzelechin-(4β→8)-epiafzelechin,

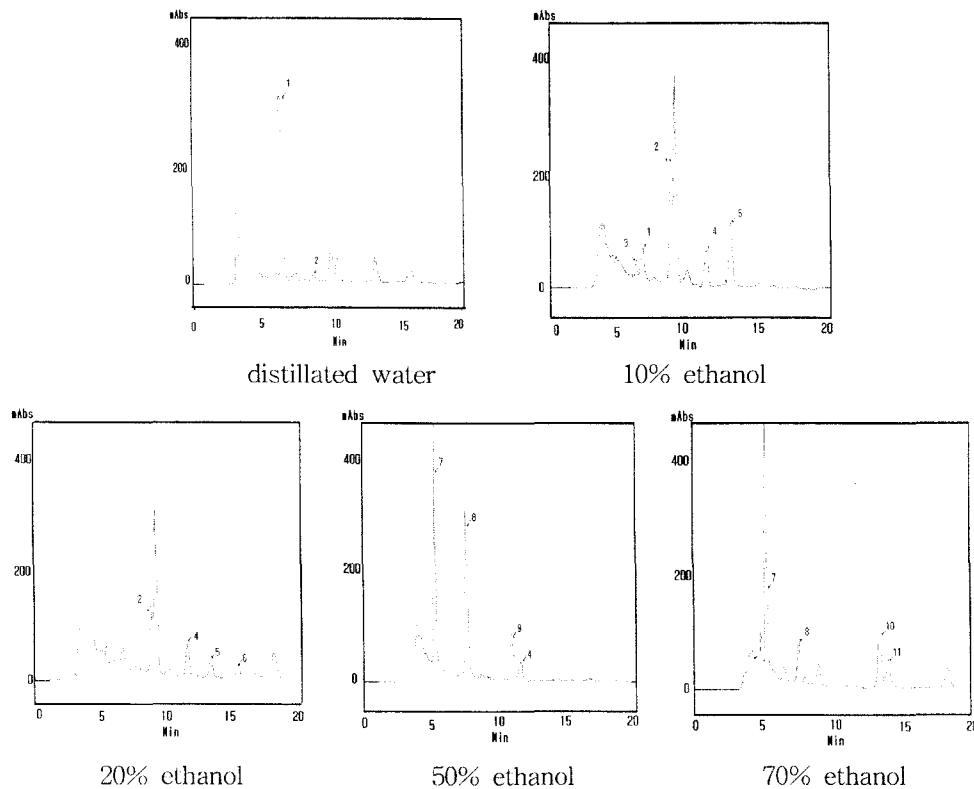


Fig. 2. HPLC chromatograms of polyphenol extracted distillate water and ethanol in green tea extraction.

1: procyanidin B-4, 2: prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate, 3: (+)-catechin-3-O-rhamnose, 4: procyanidin B-5, 5: procyanidin B-2-3,3'-digallate, 6: procyanidin B-7-3-O-gallate, 7: epiafzelechin-(4 β →8)-epiafzelechin, 8: procyanidin B-3-3-O-rhamnose, 9: afzelechin-(4 α →8)-catechin, 10: prodelphinidin B-5-3,3'-di-O-digallate, 11: (+)-taxifolin-3-O-D-xyloside.

Table 1. Identified polyphenols from green tea by using with distilled water (D.W.) and ethanol

Polyphenols	D.W.	Ethanol (%)			
		10	20	50	70
1. Procyanidin B-4	○	○			
2. Prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate		○	○		
3. (+)-Catechin-3-O-rhamnose	○	○	○		
4. Procyanidin B-5		○			
5. Procyanidin B-2-3,3'-digallate		○	○	○	
6. Procyanidin B-7-3-O-gallate			○		
7. Epiafzelechin-(4 β →8)-epiafzelechin				○	○
8. Procyanidin B-3-3-O-rhamnose				○	○
9. Afzelechin-(4 α →8)-catechin				○	
10. Prodelphinidin B-5-3,3'-di-O-digallate					○
11. (+)-Taxifolin-3-O-D-xyloside					○

procyanidin B-3-3-O-rhamnose, prodelphinidin B-5-3,3'-di-O-digallate와 (+)-taxifolin-3-O-D-xyloside의 4 종류가 분리검출되었다. Prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate는 10% 및 20% 에탄올에서, epiafzelechin-(4 β →8)-epiafzelechin와 procyanidin B-3-3-O-rhamnose는 50% 및 70% 에탄올에서 검출되었다. Procyanidin B-2-3,3'-digallate는 10, 20 및 50% 에탄올에서 분리되었고 특히 10% ethanol에서 가장 잘 분리되었다.

Rah 등⁽³⁰⁾은 녹차의 catechin류를 분쇄한 녹차를 더운물을 가하여 80°C 항온조에서 30분간 가온 추출하여 chloroform을 가하여 카페인을 제거한 후 ethylacetate로 추출하여 HPLC에 분석한 결과 (-)-epigallocatechin-3-gallate 등 5종의 polyphenol

을 분리하였고, Choi 등⁽³¹⁾은 녹차를 열수추출한 후 ethylacetate로 추출하여 HPLC로 4종의 polyphenol 화합물을 분리하였다. 따라서 녹차를 에탄올로 추출한 후 Sephadex LH-20로 분리하여 HPLC로 증류수와 에탄올을 구배용출시켰을 때가 더 많은 종류의 polyphenol을 검출할 수 있었다.

ACE 저해효과

녹차의 polyphenol류 화합물의 ACE 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 각각 polyphenol 농도가 100 μ M에서 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 68.8%, procyanidin B-2-3,3'-digallate가 54.6% 저해를 나타내었고, procya-

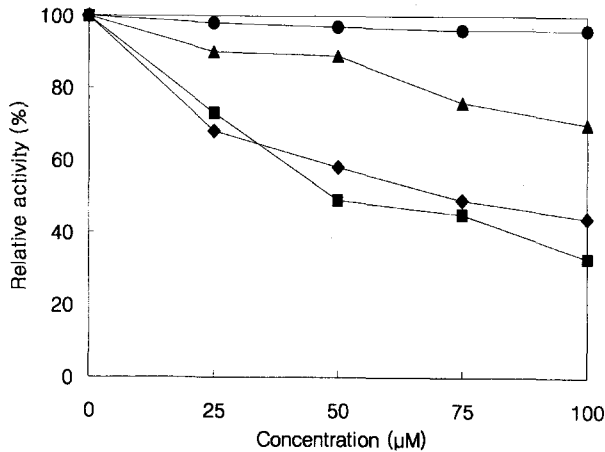


Fig. 3. Effect of polyphenols isolated from green tea on the angiotensin converting enzyme activity.
 ●: procyanidin B-4, ▲: porcyanidin B-7, ◆: procyanidin B-2-3,3'-digallate, ■: prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate.

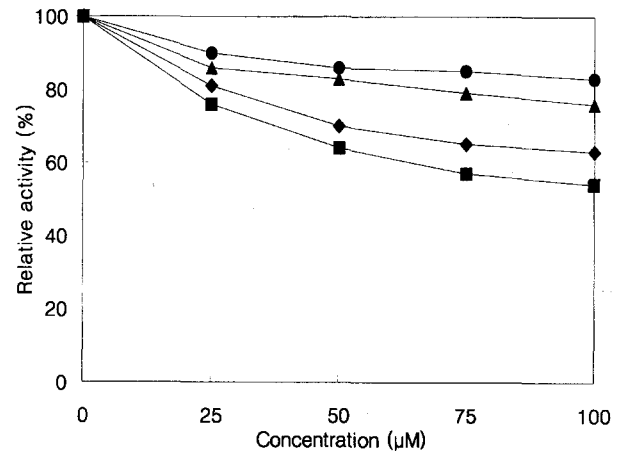


Fig. 5. Effect of polyphenols isolated from green tea on the tyrosinase activity.
 ●: procyanidin B-4, ▲: procyanidin B-7, ◆: procyanidin B-2-3,3'-digallate, ■: prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate.

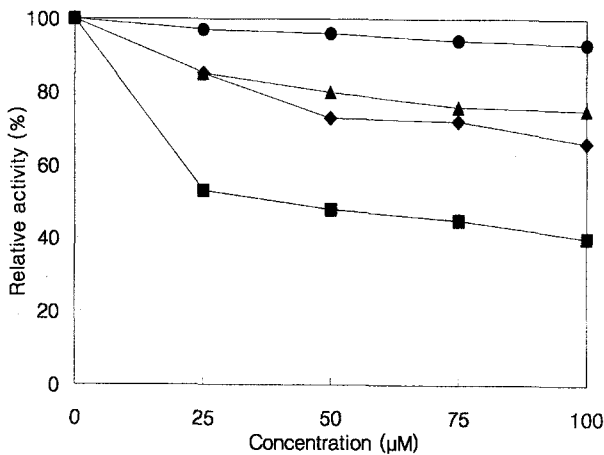


Fig. 4. Effect of polyphenols isolated from green tea on the xanthine oxidase activity.
 ●: procyanidin B-4, ▲: porcyanidin B-7, ◆: procyanidin B-2-3,3'-digallate, ■: prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate.

nidin B-4는 거의 저해효과가 없었다. Cho 등⁽⁶⁾이 보고한 procyanidin B-3-3-O-gallate의 ACE 저해효과는 비슷한 결과를 얻었다. 일반적으로 탄닌 유래의 화합물과 단백질과의 결합은 단백질의 아미드 결합과 탄닌의 페놀성 수산기간의 수소결합에 의한 반응으로 단백질과 탄닌복합체의 침전물을 형성한다. 이런 현상은 pH, 이온 강도, 단백질 및 탄닌 농도에 의한 상호작용으로 비 경쟁적 효소를 저해함으로써 효소의 용해성 및 안정성을 저하, 효소 불활성을 일으키는 것으로 보고되고 있다⁽³⁵⁾. 이러한 화합물은 녹차의 주요 생리활성물질로 추정되며, 미확인 chromatogram의 polyphenol성분이 존재하는 것으로 보아 다양한 생리활성을 갖는 탄닌을 함유하는 것으로 추정된다.

Xanthin oxidase 저해효과

녹차의 polyphenol 성분의 저해효과는 Fig. 4에서와 같이 각각 polyphenol 농도가 100 µM에서 prodelphinidin C-2-3,3'-

di-O-gallate가 54.5%의 저해를 보였으며 procyanidin B-2,3,3'-digallate는 38.2% 저해를 보여 gallate가 붙은 polyphenol 계통의 물질이 강한 저해를 보였다.

Hayashi 등⁽³⁶⁾은 flavonoid류를 xanthine oxidase 저해실험에서 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 50.2% 저해하였던 것과 비슷한 결과를 얻었다. Xanthine oxidase는 요소회로에 관여하는 효소로 활성이 증가함에 따라 요산을 과잉 생산하여 통풍을 유발하는 효소이므로 녹차의 flavonoid류는 xanthine oxidase를 저해함으로써 현재 성인병의 하나인 통풍에 녹차가 우수한 예방물질이 함유되어있음이 검증되어 생리활성물질의 신소재로서 가치가 높다고 생각된다.

Tyrosinase 저해효과

녹차의 polyphenol 성분은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 각각의 polyphenol 100 µM 농도에서 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 42.1%, procyanidin B-2-3,3'-digallate는 30.7%의 저해효과를 보였으며, procyanidin B-7은 20.5%를 저해하였다. Prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 50 µM농도에서 30.2%의 저해 효과는 Kim 등⁽³⁷⁾이 보고한 procyanidin B-3-3-O-gallate가 50 µM에서 16.4% 저해하였다는 보고보다 훨씬 높았다. Hatano 등⁽³⁸⁾은 flavonoid에 gallate가 붙으면 각종 효소의 저해효과가 증대된다는 보고와 비슷한 결과를 얻었다.

요 약

한국산 녹차를 70% 에탄올로 추출한 후 Sephadex LH-20 과 HPLC를 사용하여 polyphenol을 분리동정하였고 분리된 각 성분들의 angiotensin converting enzyme(ACE) 및 xanthine oxidase, tyrosinase의 저해효과를 확인하였다. 녹차로부터 HPLC로 polyphenol을 분리한 결과 epiafzelechin-(4β→8)-epiafzelechin, procyanidin B-3-3-O-rhamnose, afzelechin-(4α→8)-catechin, prodelphinidin B-5-3,3'-di-O-digallate, (+)-taxifolin-3-O-D-xyloside 등 11종류를 분리하였다. ACE의 저해효과는 prodelphinidin-C-2-3,3'-di-O-gallate 100 µM에서 68.8%,

procyanidin B-2-3,3'-digallate가 54.6%의 저해를 나타내었고, Xanthine oxidase는 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 54.5%, procyanidin B-2-3,3'-digallate가 38.2%로 높은 저해효과를 보였다. Tyrosinase의 저해효과는 100 µM 농도에서 prodelphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate가 42.1%, procyanidin B-2-3,3'-digallate와 procyanidin B-7이 각각 30.7%, 20.5%의 저해를 나타내었다. 따라서 녹차 추출물로부터 분리한 polyphenol이 혈압예방, 통풍 및 미백효과의 기능성 식품 신소재로서 이용이 가능하다는 것을 확인하였다.

문 헌

- Wickremasinghe, R.L. Tea. *Adv. Food Res.* 24: 229-234 (1978)
- Tsujimura, M. and Osawa N. Amino acid in green tea. *Jissin Joshi Daigaku Kigo, Chem. Abstr.* 41: 5294-5297 (1957)
- Roberts, E. and Wood, D.A. Study of the polyphenols in tea leaf by paper chromatography. *Biochem. J.* 49: 414-419 (1951)
- Chang, S.S. and Bao, Y. Process for manufacture for natural antioxidant products from tea and spent tea. U.S. Patent 5,043,100 (1991)
- Asai, H., Ogawa, K., Hara, Y. and Nakamura K. Effect of alumina-tea catechin complex on the blood sugar in spontaneous diabetic mice. *Clin. Report* 21: 163-166 (1987)
- Cho, Y.J., An, B.J. and Choi, C. Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korea green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 238-242 (1993)
- Ryu, B.H. and Park, C.O. Antioxidant effect of green tea extracts on enzymatic activities of hairless mice skin induced in ultraviolet B light. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 355-361 (1977)
- Matsuzaki, T. and Hara, Y. Antioxidative activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59: 129-134 (1985)
- Park, C.O., Jin, S.H. and Ryu, B.H. Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 850-858 (1996)
- 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 plant. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 80-85 (1995)
- 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)
- Yeo, S.G., Ahn, C.W., Lee, Y.W., Lee, T.G., Park, Y.H. and Kim, S.B. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, Oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24: 299-304 (1995)
- Nakachi, K., Suga, K. and Imai, K. Preventive effects of drinking green tea on cardiovascular disease and cancer. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, USA* (1995)
- Hara, Y., Maysuzaki, S. and Nakamura, K. Antitumor activity of tea catechins. *Nippon Eiyu Shokuryo Gakkaishi* 42: 39-45 (1989)
- Du, Q. and Wang, Y. Utilization of tea extracts and the prospect of catechins as anticancer agents. *The 4th International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea* (1997)
- Hunter, O.J., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Rosner, B., Hennekens, C.H., Speizer, F.E. and Willett, W.C. A prospective study of caffeine, coffee, tea and breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* 136: 1000-1001 (1992)
- Lee, S.J., Kim, M.J. and Yoon, Y.H. Effect of Korean green tea, Oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium and antioxidative detoxification in cadmium administered rats. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea* (1995)
- Kim, M.H. and Rhee, S.J. Effect of Korean green tea, Oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 784-791 (1994)
- Choi, S.I., Lee, J.H. and Lee, S.R. Effect of green tea beverage for the removal of cadmium and lead by animal experiment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 745-749 (1994)
- Hara, Y. and Ishigami, Y. Antibacterial activities of tea polyphenols against foodborne pathogenic bacteria. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36: 996-999 (1989)
- Yeo, S.G., An, C.W., Kim, I.S., Park, Y.B., Park, T.K. and Kim, S.B. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 24: 293-298 (1995)
- Fukai, K., Ishigami, T. and Hara, Y. Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacterial. *Agric. Biol. Chem.* 55: 1895-1897 (1991)
- Cao, J. External test and clinical observation and evaluation of the caries preventive effect of tea. *The 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, Korea* (1995)
- Chung, H.Y. and Yokozawa, T. Studies on antioxidative and antimutagenic mechanism of epicatechin 3-O-gallate isolated from green tea. *The 3rd International Symposium of Green Tea, Seoul, Korea* (1995)
- Kim, J.K., Cha, W.S., Park, J.K., Oh, S.Y., Cho, Y.J., Chun, S.S. and Choi, C. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 173-174 (1997)
- Choi, S.H. Studies on flavor components of commercial Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23: 98-101 (1991)
- Choi, S.H. and Bae, J.E. The aroma components of green tea, the product of Mt. Chiri garden. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 478-483 (1996)
- Choi, S.H. and Moon, S.H. Antimutagenic effect of the volatile aroma compounds identified from green tea. *Korean and Biotechnology* 6: 83-86 (1997)
- Park, G.Y., Lee, S.J. and Im, J.G. Effect of green tea catechin on cytochrome xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 26: 901-907 (1997)
- Rah, H.H., Baik, S.O., Han, S.B. and Bock, J.Y. Improvement of analytical method for catechins in green tea. *J. Korean Agri. Chem. Soc.* 34: 276-280 (1992)
- Choi, S.H., Lee, B.H. and Choi, H.D. Analysis of catechin contents in commercial green tea by HPLC. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 386-389 (1992)
- Cushman, D.W. and Ondetti, M.A. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.* 29: 1871-1877 (1980)
- Strip, F. and Cortes, E.D. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 244: 2855-2859 (1969)
- Kim, J.K., Cha, W.S., Park, J.H., Oh, S.L., Cho, Y.J., Chun, S.S. and Choi, C. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 173-174 (1997)
- Funayama, S. and Hikono, H. Hypotensive principles of diospyros kaki leaves. *Chem. Pharm. Bull.* 27: 2865-2869 (1979)
- Hayashi, T., Sawa, K. and Morita, N. Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J. Natural Prod.* 51: 345-348 (1988)
- Kim, J.K., Cha, W.S., Park, J.H., Oh, S.L., Cho, Y.J., Chun, S.S. and Choi, C. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 173-177 (1999)
- Hatano, T., Yosuhara, T., Yoshihara, R. and Okuda, T. Inhibitory effect of galloylated flavonoids of xanthine oxidase. *Planta Med.* 57: 83-88 (1991)

(2003년 4월 11일 접수; 2003년 11월 13일 채택)