Journal of Life Science **2004**, Vol. 14. No. 1. 104~109 ©JLS

생육시기별 식물 잎의 항산화제 함량 변화

강정렬 · 김석중[1] · 박 신*

대구대학교 생명환경학부, [1]대구가톨릭대학교 식품공학과

Received September 2, 2003 / Accepted December 20, 2003

Changes in Antioxidants of Several Plant Leaves During Growth. Jeng Yeol Kang, Seok Joong Kim[1] and Shin Park*. *Division of Life and Environmental Science, Daegu University, [1]Department of Food Science & Technology, Catholic University of Daegu* – It is well known that some kinds of leaves contain a lot of antioxidants in them; however, little attention has been given to the study on the amount of antioxidants in them and the changes in the amount of antioxidants in them during their growth. Therefore, we examined the antioxidants in the leaves of persimon, moraceae, and trifoliage orange during their growth. The amount of total polyphenol tended to decrease during plants' growth, and each amount was 4.62 g/dried 100 g persimon leaf, 1.70 g/dried 100 g moraceae leaf, and 0.91 g/dried 100 g trifoliage orange leaf in April. The amount of total polyphenol in persimon leaf was 2.7~5.1 times higher than moraceae and trifoliage orange leaf. The amount of ascorbic acid also decreased during plants' growth, and each amount was 2.7~6.0 mg/dried 100 g moraceae leaf, 5.3~9.9 mg/dried 100 g persimon leaf, and 3.7~6.9 mg/dried 100 g trifoliage orange leaf. Persimon leaf was found to contain higher amount of ascorbic acid than moraceae leaf or trifoliage orange leaf. The amount of glutathione tended to decrease during plants' growth, and each average amount was 35.7 mg/dried 100 g trifoliage orange leaf, 15.8 mg/dried 100 g moraceae leaf, and 2.3 mg/dried 100 g persimon leaf. Trifoliage orange leaf contained the highest amount of glutathione. β-Carotene tended to increase during the growth, and each amount was 411.2 mg/dried 100 g moraceae leaf, 198.5 mg/dried 100 g persimon leaf, 144.1 mg/dried 100 g trifoliage orange leaf in September. α-Tocopherol also tended to increase during the growth, and each amount was 52.8 mg/dried 100 g trifoliage orange leaf, 48.6 mg/dried 100 g moraceae leaf, and 61.7 mg/dried 100 g persimon leaf in September.

Key words – antioxidant, persimon leaf, moraceae leaf, trifoliage orange leaf

산소는 지구상에서 건조 대기의 21%를 차지하고 있으며, 호기성 생물은 이렇게 풍부한 산소를 전자 수용체로 하는 호흡을 통해 에너지를 획득한다. 그러나 이와 같이 생명유지에 절대적으로 필요한 산소이지만 안정한 분자상태인 기저삼중항산소가 체내 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인에 의하여 superoxide radical (O_2^-), hydroxylradical (HO ·), 과산화수소(H_2O_2) 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 생체에 치명적인 산소 독성을 일으키는 양면성을 지니고 있다[11,13,14]. 한편 정상적인 세포에서도 대사과정 중 어느 정도의 활성산소가 생성되고 있으나 생체내에는 이들에 대한 방어기구로서 superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase 등의 항산화 효소와 함께 ascorbic acid, tocopherol, carotenoid, glutathione, polyphenol, ubiquinone, 요산, Se 등의 항산화 물질이 존재하여 스스로를 보호하고 있다[1,9]. 그러나 이러한 생체방어기구에 이상이 초래되거나 각종 물리적, 화학적 요인들에 의하여 활성산소의 생성이 생체방어계의 용량을 초과하게 될 경우 산화적 스트레스가 야기된다. 따라서 이와 같은 활성산소를 소거할 수 있는 항산화제들은 이들 산화물들에 기인하는 노화 및 각종 질환의 억제 또는 치료제로서 기대된다[4,8,10,15].

본 연구는 감잎(persimon leaf), 뽕잎(moraceae leaf), 탱자나뭇잎(trifoliage orange leaf)을 기능성식품으로 개발하기에 앞서, 생육 기간별 천연 항산화제의 함량변화를 조사하였다. 감나무는 당류 및 탄닌의 함량이 많은 알칼리성 식품으로 잎은 감잎차 원료로서 오래 전부터 민간인에 이용되고 있다. 감잎에는 비타민 C 외에 여러 종류의 비타민과 무기성분을 함유하여 혈압 강하, 지혈 등의 효능이 있는 것으로 알려져 널리 애용되어 왔다. 감잎에 관한 국내외의 연구로는 감잎의 성분, 감잎차의 제조방법, 향기성분, 비타민 C의 변화, 항산화효과, 항돌연변이성 및 항암효과 등이 연구된 바 있다[5,16,22]. 뽕잎은 인류가 먹기 시작한 역사는 2천년이 넘는다. 우리나라와 중국의 전통 의학서에는 뽕잎이 각기병과 몸이 붓는 증세, 당뇨병, 중풍 등에 좋다는 기록이 있으며, 또한 밤에 땀을 많이 흘리거나 손발이 저리는 증세에 효과가 있다고 전한다. 이 밖에 뽕나무 껍질은 기침과 각혈에, 뽕나무가지는 악성 부스럼, 오디는 백발에 효과가 있다고 한다[21]. 탱자나뭇잎은 아직 보고된 바가 없지만 탱자는 자실이라고 하며 비, 위장, 대장 등에 효능이 있으며, 혈액공급의 개선과 위장의

***Corresponding author**
Tel : +82-53-850-6751, Fax : +82-53-850-6759
E-mail : spark@daegu.ac.kr

운동수축 리듬을 증가시키고 승압 작용이 있다고 옛 전통 의학서에서는 전하고 있다.

재료 및 방법

공시재료

본 연구에 사용된 실험재료는 경북 경산시 진량면 소재의 대구대학교 내에서 자생하는 감잎(persimon leaf), 뽕잎(moraceae leaf), 탱자나뭇잎(trifoliage orange leaf)으로 매월 15일에 채취하여 동결 건조한 다음 mixer로 곱게 갈아 -60℃에서 냉동보관하면서 실험에 사용하였다.

시약

실험에 사용된 시약으로 ascorbic acid, tannic acid, β-carotene, α-tocopherol, 2,6-dichlorophenolindophenol, 2,4-dinitro-phenylhydrazine, reduced glutathione, 5-5'-dithio-2-nitrobenzoic acid, NADPH, oxidized glutathione은 sigma사 제품을, n-hexane은 Merck사 제품을, thiourea는 Fluka사 제품을 구입하여 사용하였으며 그외 시약도 특급시약을 사용하였다.

수분 함량 측정

수분함량은 105℃ 상압건조법으로 측정하였다.

총 polyphenol 함량 측정

A.O.A.C. [2]의 Folin-Denis법에 의해 측정하였는데, 100 mL 메스플라스크에 75 mL의 증류수와 시료 추출물 1 mL를 넣고 잘 혼합한 후, Folin-Denis 시약 5 mL와 탄산나트륨 포화용액 10 mL를 차례로 넣었으며, 증류수로 100 mL 용량을 채웠다. 이것을 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 UV-vis spectrophotometer(HP 8452A, USA)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 각 시료당 3회 반복 실시하였고, 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 환산하였다.

Ascorbic acid 함량 측정

식품공전[24]의 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP)법으로 측정하였는데, 0.3 g의 시료를 5% meta-phosphoric acid 10 mL로 추출한 후, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리한 추출액에 0.03% (w/v) 2,6-dichlorophenolindophenol (DCP)를 분홍빛이 날때까지 넣고 여기에 2% (w/v) thiourea metaphosphoric acid 0.5 mL와 2% (w/v) 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNP) 0.25 mL를 첨가하였다. 이것을 water bath에서 37℃로 3시간 동안 반응시킨 후, 냉각하여 반응을 정지시키고 여기에 85% (v/v) sulfuric acid 1.25 mL와 2% DNP 0.25 mL를 첨가하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

Glutathione 함량 측정

식품공전[24] 방법에 의해 측정하였는데, 0.3 g의 시료를 5% meta-phosphoric acid 10 mL로 추출한 후, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리한 추출액을 125 mM phosphoric acid buffer (pH 7.5), 6.3 mM EDTA, 6 mM 5,5'-dithio-2-nitrobenzoic acid (DTNB), 0.3 mM NADPH, 5 unit/mL glutathione redeuctase가 들어 있는 반응용액에 넣고 30℃로 평형을 시킨 뒤 총 부피를 1 mL로 맞추고 412 nm에서 흡광도를 측정하였다.

β-Carotene 및 α-tocopherol 함량 측정

β-Carotene과 α-tocopherol은 Aran과 Nikolai 방법을 수정하여 추출하였다[3]. 즉 시료의 일정량을 검화 플라스크에 옮겨 에탄올 30 mL, 10% pyrogallol/ethanol 용액 1 mL, 15% KOH/methanol 용액 30 mL를 가한 후, 환류냉각기에 부착하여 비등수욕 중에서 30분간 가열검화시키고 냉각하였다. 여기에 증류수 50 mL를 가하여 갈색 분액여두에 옮겼으며, 다시 petroleum ether 30 mL로 세척하여 분액여두에 합하고 잘 진탕하여 방치하다가 petroleum ether층을 분획하였다. 물층에 다시 petroleum 30 mL를 넣고 3회 반복 추출하여 합하였으며, phenolphthalein 지시약으로 무색이 될 때까지 수세하고 petroleum ether층을 분리하였다. 이것을 무수 Na_2SO_4로 탈수하고 진공농축하였으며, n-hexane으로 용해하여 HPLC 주입을 위한 시료로 사용하였다.

β-Carotene과 α-tocopherol의 함량은 HPLC(varian 9012 pump, varian 9050 detector, USA)로 동시분석 방법을 사용하여 분석하였으며 분석 조건은 Table 1과 같다.

Se 함량 측정

식품공전[24]의 건식분해법을 이용해 시료 1 g을 건식분해하여 ICP spectrometer (Liberty Series II, Varian, USA)를 이용해 파장 196nm에서 측정하였다.

결과 및 고찰

수분 함량

선별된 3종의 식물 잎들의 수분 함량은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 뽕잎이 66.5~70.3%, 감잎이 69.6~76.0%, 탱자나뭇잎이 64.5~67.0%로서 큰 차이는 없었으나 감잎이 다소 높은

Table. 1. HPLC operating parameters for the analysis of β-carotene and α-tocopherol

Column	: μ-porasil, 10 μm, 300×3.9 mm i.d (waters, U.S.A)
Mobile Phase	: n-hexane/isopropanol (97:3 vol/vol)
Flow Rate	: 1 mL/min
Detection	: UV 297 nm (varian 9050)
Inject Volume	: 20 μL

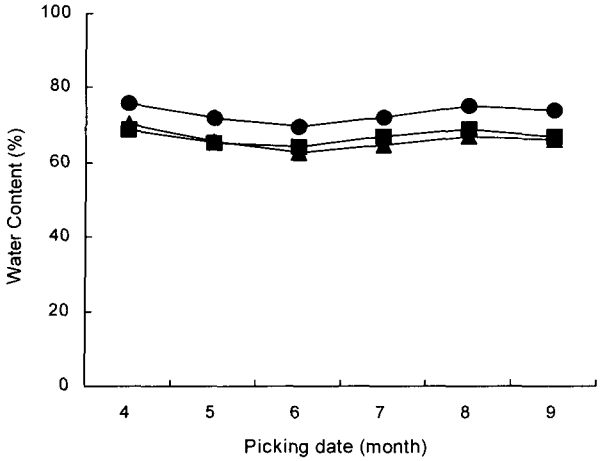

Fig. 1. Changes of water contents in various plant leaves during growth.
▲: trifoliage orange leaf, ■: moraceae leaf, ●: persimon leaf

경향을 보였다. 또한 이들의 성장시기에 따른 수분함량도 큰 변화가 없었으나, 6월이 약간 낮았으며 8~9월이 조금 증가하는 경향을 보였는데, 이는 8~9월 잎의 채취시기에는 많은 비가 옴으로서, 상대습도의 증가로 인한 영향으로 사료된다.

총 polyphenol 함량

Polyphenol은 항산화 기능뿐만 아니라 항세균, 항알레르기, 충치방지, 심장질환 및 당뇨병 예방에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있는데, flavonoid류가 주를 이루며 단순 phenol류, phenolic acid, phenyl propanoid류, phenyl quinone류 등도 포함하고 있다[23]. Table 2는 생육시기에 따른 총 polyphenol 함량의 변화를 나타낸 것으로, 생육 초기인 4월에 채취한 감잎의 polyphenol 함량은 4.62 g/dried 100 g으로서 뽕잎 1.70, 탱자나뭇잎 0.91 g/dried 100 g에 비해 2.7~5.1배 많은 양이 검출되었다. 9월에는 감잎, 뽕잎, 탱자나무잎이 각각 1.61, 0.34, 0.07 g/dried 100 g을 나타내 4월에 비해 많이 감소하였다. 김 등[17]과 이 등[19]은 감잎에서 총 polyphenol의 양을 검출하여 보고하였는데, 그 함량이 각각 2.05 g/dried 100 g과, 5.76 g/dried 100 g으로 본 실험결과와 비슷 하였다. 또한 본연구의 총 polyphenol 함량은 김 등[17]이 보고한 녹차, 홍차, 우롱차의 6.88, 6.93, 6.71 g/dried 100 g보다 낮았지만 인삼, 오미자의 0.11, 0.56 g/dried 100 g보다 대체로 높았으며 치커리와 두충의 1.28, 2.79 g/dried 100 g과는 비슷한 함량을 보였다.

Ascorbic acid 함량

Ascorbic acid는 수용성계에서 생성되는 활성산소를 소거하여 막지질의 산화는 물론 콜라겐 합성 등 몇 가지 대사과정에도 직접 관여하므로 항산화제로 사용되고 있다[4,20]. Ascorbic acid의 함량은 Fig. 2와 같이 성장함에 따라 감소하는 경향을 나타내었는데, 그 함량은 뽕잎이 2.7~6.0, 감잎이 5.3~9.9, 탱자나뭇잎이 3.7~6.9 mg/dried 100 g으로 감잎이 뽕잎이나 탱자나무 잎에 비해 높게 나타났다. 정 등[5]의 보고에 의하면 감잎의 경우 ascorbic acid의 함량이 5월까지 다소 증가하다가 그 이후 감소한다고 하였는데, 본 연구와 유사한 경향이었다. 또한 함량면에서 김 등[17]은 감잎의 ascorbic acid 함량이 4.48 mg/dried 100 g이라고 보고하였는데, 본 연구는 이보다 다소 많이 검출되었다.

Glutathione 함량

세포 내외에서 산화 및 방사선 손상으로부터 세포를 보호

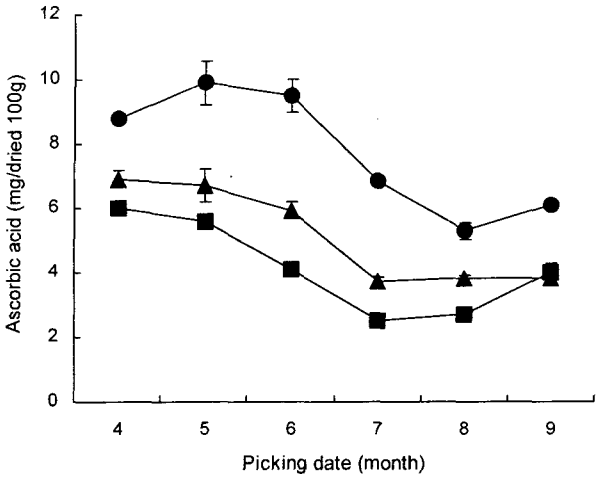

Fig. 2. Changes of ascorbic acid contents in various plant leaves during growth.
▲: trifoliage orange leaf, ■: moraceae leaf, ●: persimon leaf

Table 2. Changes of total polyphenol contents in various plant leaves during growth (unit: g / dried leaf 100 g)

Plant leaves	Picking date (month)					
	4	5	6	7	8	9
Trifoliage orange leaf	0.91±0.138[1)]	0.27±0.047	0.16±0.037	0.05±0.018	0.07±0.014	0.07±0.014
Moraceae leaf	1.70±0.012	0.81±0.038	0.68±0.046	0.17±0.026	0.21±0.016	0.34±0.018
Persimon leaf	4.62±0.265	2.19±0.168	1.70±0.052	1.19±0.013	1.67±0.139	1.61±0.083

[1)]Mean±SD

Table 3. Changes of glutathione contents in various plant leaves during growth (unit : mg / dried leaf 100 g)

Plant leaves	Picking date (month)					
	4	5	6	7	8	9
Trifoliage orange leaf	73.7±3.68[1)]	34.8±7.71	26.0±2.01	27.9±5.45	26.4±2.16	25.5±0.23
Moraceae leaf	22.5±0.36	15.0±1.17	17.0±1.41	15.6±0.95	11.5±1.03	13.4±0.89
Persimon leaf	2.8±0.62	4.0±0.32	1.6±0.23	2.0±0.15	1.9±0.16	1.6±0.16

[1)]Mean±SD

하며, 독성을 제거하는 과정에서도 중요한 역할을 하는[9, 12,18] glutathione의 함량은 Table 3과 같다. Glutathione의 함량은 어린잎인 4~5월에 대체로 많이 검출되었으며, 그 이후 성장함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 그 평균함량은 탱자나뭇잎이 35.7, 뽕잎이 15.8, 감잎이 2.3 mg/dried 100 g으로 탱자나뭇잎에서 현저하게 높게 검출되었으며, 감잎의 경우는 상대적으로 적은 양의 glutathione이 검출되었다.

β-Carotene과 α-tocopherol 함량

β-Carotene과 α-tocopherol은 최근 항산화, 항암작용 등 다양한 기능이 보고되고 있는데[26], β-carotene과 α-tocopherol을 동시분석 방법으로 분석한 크로마토그램은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 β-carotene과 α-tocopherol이 좋은 분리능을 나타내었다. 또한 표준곡선에서 β-carotene의 결정계수(R^2)는 0.969, α-tocopherol의 결정계수(R^2)는 0.999로 아주 좋은 상관관계를 나타내었다.

실험에 사용된 3종의 선별된 잎에 있어서 β-carotene의 함량은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 성장을 함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였는데, 성장 후기인 9월에 채취한 뽕잎의 β-carotene 함량은 411.2 mg/dried 100 g으로서, 감잎 198.5, 탱자나뭇잎 144.1 mg/dried 100 g보다 높은 수준으로 검출되었다. 정 등[6]은 여러 녹즙에서 β-carotene 함량을 보고하였는데 신선초가 1.4, 케일이 3.9, 샐러리가 0.18 g/fresh juice 100 g을 나타내었다. 또한 김 등[17]이 보고한 녹차, 홍차 그리고 우롱차의 β- carotene 함량은 3.6, 2.2 그리고 0.21 mg/dried 100 g으로 본 연구의 식물 잎보다 아주 낮은 함량을 나타내었다.

α-Tocopherol의 함량은 Fig. 5에 나타난 바, 성장함에 따라 증가하는 경향을 나타내었는데, 성장 후기인 9월의 경우,

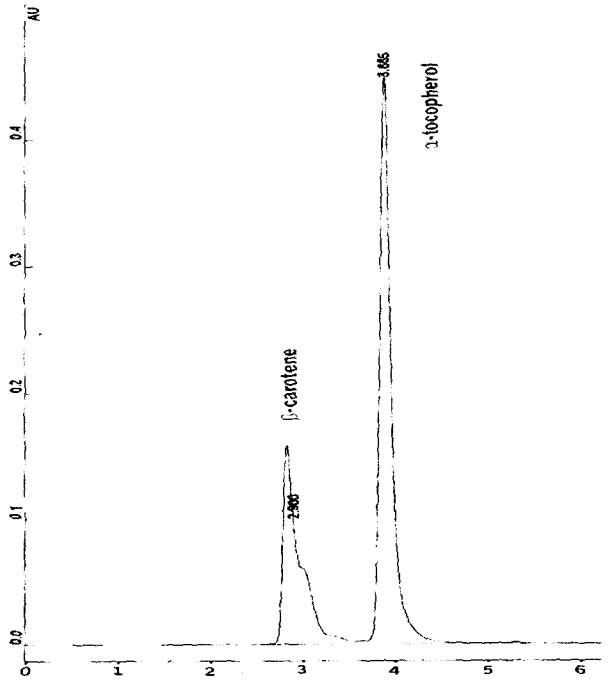

Fig. 3. HPLC chromatograms of β-carotene and α-tocopherol at 500 ppm.

Table 4. Changes of selenium contents in various plant leaves during growth (unit : mg / dried leaf 100 g)

Plant leaves	Picking date (month)	
	4	5
Trifoliage orange leaf	1.74±0.12[1)]	0.93±0.05
Moraceae leaf	1.48±0.08	0.59±0.07
Persimon leaf	ND[2)]	ND

[1)]Mean±SD
[2)]Not detected

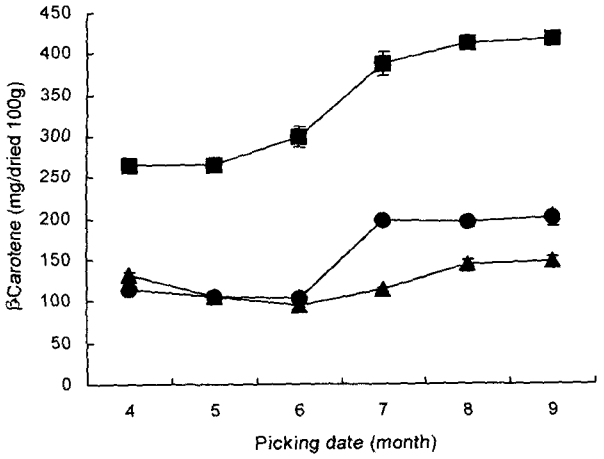

Fig. 4. Changes of β-carotene contents in various plant leaves during growth.
▲: trifoliage orange leaf, ■: moraceae leaf, ●: persimon leaf

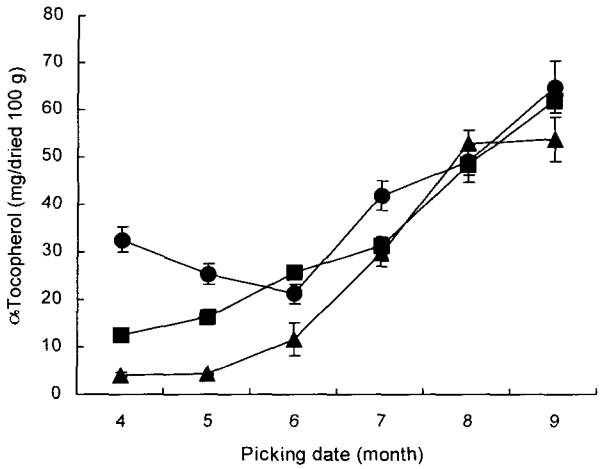

Fig. 5. Changes of α-tocopherol contents in various plant leaves during growth.
▲: trifoliage orange leaf, ■: moraceae leaf, ●: persimon leaf

탱자나뭇잎이 52.8, 뽕잎이 48.6, 감잎이 61.7 mg/dried 100 g으로 나타나, 감잎에서 다소 높게 검출되었다. 김 등[17]은 녹차, 홍차, 우롱차 그리고 오미자에서 α-tocopherol의 함량을 조사한 바, 각각 15.7, 12.7, 3.3, 0.35 mg/dried 100 g으로 본 연구의 식물 잎보다 아주 낮은 함량을 보였는데, 본 연구의 식물 잎이 다른 식물 소재보다 β-carotene과 α-tocopherol 함량 면에서 이용 가치가 높다고 할 수 있다.

Se 함량

셀레늄(Se)은 사람과 동물에 필수 영양성분이며 peroxide의 환원을 촉매하는 glutathione peroxidase의 성분이기도 하다[7]. 셀레늄의 높은 섭취량은 심장질환을 예방하며 항산화, 항암, 노화예방 등에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[25]. 그 함량은 탱자나뭇잎이 4월, 5월에 각각 1.74, 0.93 mg/dried 100 g이었고, 뽕잎은 4월, 5월에 각각 1.48, 0.59 mg/dried 100 g이었으며, 감잎에서는 모든 시기에서 검출되지 않았다. 김 등[17]은 감잎의 Se함량이 0.22 μg/dried 100 g이라고 보고하였으나 본 연구에서는 검출이 되지 않았다.

요 약

많은 항산화제가 식물 잎에 존재한다고 알려져 있으나, 식물 잎의 성장시기에 따른 항산화제의 변화에 관한 연구는 드물다. 따라서 본 연구는 감잎, 뽕잎, 탱자나무잎에 존재하는 항산화 성분의 양을 잎의 성장 시기별로 조사하였다. 총 polyphenol의 함량은 잎이 성장하면서 감소하는 경향을 보였는데, 생육초기인 4월에 채취한 감잎의 경우 총 polyphenol의 함량이 4.62 g/dried 100 g으로 나타나, 뽕잎 1.70 g/dried 100 g와 탱자나무잎 0.91 g/ dried 100 g에 비해 2.7~5.1배 많이 검출되었다. Ascorbic acid의 함량도 성장함에 따라 감소하는 경향을 보였는데, 뽕잎이 2.7~6.0, 감잎이 5.3~9.9, 탱자나뭇잎이 3.7~6.9 mg/dried 100 g으로 감잎이 뽕잎이나 탱자나무에 비해 높게 나타났다. Glutathione의 함량도 성장함에 따라 감소하는 경향을 나타내었는데, 그 평균함량은 탱자나뭇잎이 35.7, 뽕잎이 15.8, 감잎이 2.3 mg/dried 100 g으로 탱자나뭇잎에서 현저하게 높게 나타났다. β-Carotene의 함량은 성장을 함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였는데, 성장 후기인 9월에 채취한 잎의 경우, 뽕잎이 411.2 mg/dried 100 g으로 나타나, 감잎 198.5, 탱자나뭇잎 144.1 mg/dried 100 g보다 높은 수준으로 검출되었다. α-Tocopherol의 함량도 성장함에 따라 증가하는 경향을 나타내었는데, 성장 후기인 9월에는 탱자나뭇잎이 52.8, 뽕잎이 48.6, 감잎이 61.7 mg/dried 100 g으로 나타나, 감잎이 다소 높게 검출되었다.

감사의 글

이 논문은 2002학년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의한 논문이며, 이에 감사 드립니다.

참 고 문 헌

1. Alscher, R. G. and J. L. Hess. 1993. Antioxidants in Higher plant. pp. 136-174, CRC Press, Boca Raton, FL.
2. A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis. 16th eds., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
3. Aran, R. K. and T. Nikolai. 1988. HPLC method for the simultaneous determination of beta-carotene, retinol and alpha-tocopherol in serum. *J. Pharmac. Biomed. Anal.* **6**, 853-857.
4. Bendich, A., L. J. Machlin, O. Scadurra, G. W. Burton and D. M. Wayner. 1986. The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Radical Biol. Med.* **2**, 419-444.
5. Chung, S. H., K. D. Moon, J. K. Kim, J. H. Seong and T. H. Sohn. 1994. Changes of chemical components in Persimon leaves during growth for processing Persimon leaves tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26(2)**, 141-146.
6. Chung, S. Y., H. W. Kim and S. Yoon. 1999. Analysis of antioxidant nutrients in green yellow vegetable juice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31(4)**, 880-886.
7. Clark, L. C. and D. S. Albert. 1995. Selenium and cancer risk for protection. *J. Natl. Cancer Inst.* **87**, 473-475.
8. Cross, E. E., B. B. Halliwell, E. T. Borish, W. A. Pryor, A. N. Ames, R. L. Saul and J. M. McCord. 1987. Oxygen radicals and human disease (clinical conference). *Ann. Intern. Med.* **107**, 526-545.
9. Dalton, D. A., L. Langeberg and N. C. Treneman. 1993. Correlations between the ascorbate-glutathione pathway and effectiveness in legume root nodules. *Physiol. Plant* **87**, 365-370.
10. Frei, B., R. Stocker and B. N. Ames. 1988. Antioxidant

defenses and lipid peroxidation in homan blood plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 9748-9752.
11. Fridovich, I. 1983. Superoxide radical: An endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**, 239-257.
12. Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1-11.
13. Halliwell B. and J. M. Gutteridge. 1989. Free radicals in biology and medicine. pp. 1-21, 2nd eds., Clarendon Press, Oxford.
14. Hewitt, N., G. Kok and R. Fall. 1990. Hydroperoxide in plant exposed to ozone mediates air pollution damage to alkene emitters. *Nature* **344**, 56-58.
15. Imlay, J. A. and S. Linn. 1986. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* **240**, 1302-1309.
16. Kim, J. K. and K. S. Kim. 1982. Studies on the chemical constituent of the persimon leaf. *Sangsu National polytechnic University Thesis collection*, **21**, 95-97.
17. Kim, M. H., M. C. Kim, J. S. Park, E. J. Park and J. O. Lee. 1999. Determination of antioxidants contents in various plants used as tea materials. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31(2)**, 273-279.
18. Law, M. Y., S. A. Charles and B. Halliwell. 1983. Glutathione and ascorbic acid in spinach chloroplasts. *J. Biochem.* **210**, 899-903.
19. Lee, J. H. and S. R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content in korean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26(3)**, 310-316.
20. Massie, H. R., D. R. Aiello and T. J. Doherty. 1984. Dietry Vitamin C improves the survival of mice. *Gerontology*, **30**, 371-375.
21. Myo, C. S. 1989. Coloured medicinal plants of Korea. pp. 140-141, 1st ed., Academic Co., Seoul.
22. Naoko, S. and I. Ito. 1991. The relationship between Vitamin C and polyphenol content in persimon leaves (in japanese). *J. Japanese Society of Nutrition and Food Science* **44**, 213-219.
23. Stoner, G. D. and H. Mykhtar. 1995. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell. Bio. Chem.* **22**, 169-180.
24. The ministry of Health and Welfare. 1995. Food Standard Code, Seoul.
25. Tiran, B., A. Tiran, E. Rossipal and O. Lorenz. 1993. Simple decomposition procedure for determination of selenium in whole blood, serum and urine by hydride generation, atomic absorption spectroscopy. *J. Trace. Electrolytes Health Dis.* **7**, 211-216.
26. Tsuchiya, M., V. E. Kagan, H. J. Freisleben, M. Manabe and L. Packer. 1994. Antioxidant activity of alpha-tocopherol, beta-carotene, and ubiquinol in membranes: cis-parinaric acid-incorporate liposomes. *Methods Enzymol.* **234**, 371-383.