

녹차 분말과 카테킨의 농도에 따른 항산화력 비교 분석

최경민 · 윤용갑¹ · 강경화 · 오성수 · 양환덕² · 김형준² · 박진영² · 전병훈³ · 김석일⁴ · 박 현*

원광대학교 의과대학 감염생물학교실, 1:원광대학교 한의과대학 방제학교실,
2:원광대학교 의과대학 정형외과, 3:원광대학교 한의과대학 병리학교실,
4:조선대학교 의과대학 기생충학교실

Analysis on the Antioxidant Activity of Catechin Concentrations and Green Tea Extract Powder

Kyung Min Choi, Young Gab Yun¹, Jing Hua Jiang, Sung Su Oh, Hwan Deok Yang², Hyoung Jun Kim², Jin Young Park², Byung Hun Jeon³, Suk il Kim⁴, Hyun Park*

Department of Infection Biology, College of Medicine, Wonkwang University.
1:Department of Oriental Medicine, Graduate School of Wonkwang University.
2:Department of Orthopedic Surgery, College of Medicine, Wonkwang University.
3:Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University.
4:Department of Parasitology, College of Medicine, Chosun University

Antioxidative activities of catechin from green tea extracts were examined by the methods of 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) electron donating ability, hydroxy scavenging activity and the inhibitory effect on xanthine oxidase activity. The resulted demonstrated the fact that Catechin one (containing Green tea extracts plus catechin 51%) of green tea extracts product showed at 65.5% in electron donating activity on the DPPH. The electron donating ability on the DPPH of Catechin one was increased to 10% than purified catechin. Catechin one showed the activity at 64.5% in scavenging activity using hydroxy radical method. To the Catechin one provided to increase the hydroxy scavenging activity up to 3 fold. Inhibitory effects of the catechin one measured with xanthine oxidase method was 6.5%. Although the antioxidative activity of catechin (98% purified) was lower than that of Catechin one (containing Green tea extracts plus catechin 51%) in same catechin concentrations (5 μ g, respectively). Therefore, we may suggest that Catechin one can be used as a functional food additive possessing the potent antioxidative activity.

Key words : Catechin one, antioxidative activity, hydroxy radical scavenging

서 론

최근 천연물은 항산화제, 항균제, 항돌연변이제, 항암제 등의 생물학적 활성이 있는 천연 자원으로 주목을 받고 있다¹⁾. 특히 노화촉진 및 각종 성인병 발병의 주된 원인으로 활성 산소종과 자유 라디칼의 관련성이 밝혀지면서, 생체내 항산화 효소계에 변화를 일으킬 수 있는 천연 항산화제 개발에 관심이 주목되고 있다²⁾. 활성산소는 생체막의 인지질을 과산화 시키고 자유라디칼의 연쇄 반응을 진행시켜 세포노화, 동맥경화, 당뇨병 및 암과

같은 질환이 유발되는 것으로 알려져 있다.

요즈음 많은 학자들에 의해 superoxide anion 라디칼, hydroxy 라디칼, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성 산소들의 제거 및 활성을 약하게 하는데 관심이 모아지고 있다. 따라서 산화방지를 위해 생명체에 활성을 줄일 수 있는 phenol계, anine계, flavonoid계 등의 합성항산화제를 개발해 왔지만 이들의 유해성과 안정성 문제가 거론되면서 논란의 대상이 되고 있다^{3,4)}. 일반적으로 페놀계 합성 항산화제로 널리 사용되고 있는 butylated hydroxy anisol (BHA)와 butylated hydroxy toluene (BHT)는 과량 섭취시 간, 위장 점막, 폐, 신장, 순환계 등에 심각한 독성 작용을 일으키는 것으로 알려져 안전한 대체 항산화제의 개발이 요구되었다^{5,6,7)}. 따라서 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천

* 교신저자 : 박 현, 전북 익산시 신용동 원광대학교 의과대학 감염생물학교실

· E-mail : hyunpk@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6768

· 접수 : 2005/09/10 · 수정 : 2005/12/05 · 채택 : 2005/12/14

연 항산화제에 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으며, 지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물유래 이며⁵⁾, 대부분의 식물들의 항산화는 화합물은 주로 polyphenol 물질들이며 천연 항산화제로서의 기능이 잘 알려져 있다^{5,8)}. 합성 항산화제에 대한 유해성이 거론되면서 규격이 엄격해지고, 안정성 등에 의문이 제기되면서 안정성이 확보된 항산화물질을 찾고자 하는 노력이 다방면에서 활발히 이루어지고 있다^{3,9,10)}.

모든 고등식물에는 tocopherols, flavonoids, phosphatides와 같은 여러 가지 천연 항산화물질이 존재하는데¹¹⁾, 이중 녹차 추출물 카테킨은 자연적인 항산화제로서 항염, 항알레르기 및 항암 등 다양한 생리활성 작용을 지닌 것으로 알려져 있는데¹²⁾ 최근에는 혈압 강하 및 혈중 지질 개선 효과 등 심순환기 질환의 예방에 탁월한 효과와 함께 혈당강화작용이 있는 것으로 보고되고 있다¹³⁾. 녹차의 화학적 성분으로 카테킨류는 flavanol 구조의 phenolic 화합물로서 무색, 수용성이며 강한 항산화능을 가지고 있는데 이는 녹차 특유의 수렴성 쓴맛을 제공한다. 차의 주된 카테킨은 epicatechin 형태로서 epigallocatechin gallate가 건조 무게의 9-13%로 가장 많고 epicatechin이 1-3%이며, 그 외 catechin, galocatechin이 각각 1-2%정도 함유되어 있다¹⁴⁾.

녹차에 함유된 항산화물질로 카테킨류는 구조상 특징과 항산화능과 관련이 있는 것으로 알려져 있는데, 특히 gallate와 eateer에서 3개의 수산화기는 이들의 항산화능을 증가하는 물질로 보고되어있다¹⁵⁾, 또한 Geetha 등²¹⁾의 보고에 의하면 녹차 추출물과 98%의 순수한 카테킨의 항산화력의 효과를 비교한 결과 동일한 농도에서의 순수한 카테킨 성분이 녹차 추출물의 항산화 효능에 90% 정도가 되는 것을 관찰하였다. 대부분의 항산화 효과가 녹차의 카테킨 성분에 의함을 알 수 있었다. 그러나 카테킨과 녹차 추출물 복용 시 최대 항산화 효과를 나타낼 수 있는 성분 비율 및 용량 농도에 대한 보고가 없었다. 카테킨이 최대 항산화 효과를 나타내는 농도 및 비율을 안다면 일정한 복용량과 비율 농도로 안정된 효과를 나타내는 항산화 보조제를 만들 수 있다고 사료된다. 따라서 본 연구에서는 녹차 분말에 51%의 카테킨이 첨가된 카테킨 원 10 μ g과 동일한 농도의 녹차 분말에 20%의 카테킨이 함유된 카테킨 투 10 μ g의 항산화력을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

녹차 추출물 중 카테킨 성분의 농도 차이가 있는 제품을 이용하였다. 녹차 추출물 카테킨 성분이 20% 함유되어 있는 카테킨 투(POONGLEEM CO. LTD)와 녹차 추출물 카테킨 성분이 51% 함유되어 있는 카테킨 원(POONGLEEM CO. LTD)을 본 연구 실험에 사용하였다.

2. DPPH 방법에 의한 항산화력 측정

항산화 활성은 DPPH법¹⁶⁾을 이용하여 카테킨 원과 투 제품의 라디칼 제거능을 측정하였다. DPPH는 짙은 자주색을 나타내

며 그 자체가 질소 중심의 라디칼로서, 라디칼 전자의 비 편재화에 의해 안정화된 상태로 존재한다. 메탄올에 용해된 DPPH는 517nm에서 최대 흡광도를 나타내며 제품의 환원력에 의해서 제품 첨가와 함께 흡광도가 감소한다. 0.1mM DPPH 메탄올 용액 1ml에 카테킨 원과 투를 10 μ g씩 첨가하여 메탄올로 최종 1ml로 맞춘 후 517nm에서 흡광도의 감소를 측정하였다. 각 실험은 3회 반복하였다. 카테킨의 동일한 농도에서의 실험을 위해 녹차 분말과 순수한 98% 카테킨 사용은 5 μ g을 사용하였으며, 카테킨 원과 카테킨 투는 10 μ g(카테킨 농도 : 5 μ g)을 실험에 사용하였다. 전자 공여능(%)은 $[(1-실험군/positive\ control)\times 100]$ 으로 나타내었고, 실험군과 positive control의 흡광도 값을 각각 대입하여 계산하였다¹⁷⁾.

3. Hydroxy radical 제거 활성 측정¹⁸⁾

10mM FeSO₄ · EDTA 200 μ l, 10mM 2-deoxyribose 200 μ l, 100mM phosphate buffer (pH 7.5) 1390 μ l에 재료를 넣고 10mM H₂O₂ 200 μ l로 hydroxyl radical 생성을 유도하면서 37 $^{\circ}$ C에서 4시간 반응 후, 10% TCA (trichloroacetic acid)로 반응을 정지시키고, 0.8% TBA (thiobarbutyric acid)를 첨가하여 10분간 발색시켜 532nm에서 흡광도를 측정한다. 카테킨의 동일한 농도에서의 실험을 위해 녹차 분말과 순수한 98% 카테킨 사용은 5 μ g을 사용하였으며, 카테킨 원과 카테킨 투는 10 μ g (카테킨 농도 : 5 μ g)을 실험에 사용하였다. Hydroxy 라디칼 제거 활성(%)은 $\{(1-시료의\ 흡광도 - 음성\ 대조구) / (비교군의\ 흡광도 - 음성\ 대조구) \times 100\}$ 으로 나타내었다¹⁹⁾.

4. Xanthine oxidase 저해 활성 측정

Xanthine oxidase 저해 활성 측정은 Beyer와 Fridovich의 방법²⁰⁾을 변형 사용하였다. 1ml cuvette에 카테킨 원과 투를 농도 변화에 따라 5 μ g, 10 μ g, 20 μ g씩 넣고 100mM phosphate buffer (pH 7.5) 750 μ l를 넣고, xanthine 용액 (1.74mg/ml) 150 μ l을 첨가 후 혼합하고, xanthine oxidase (50 unit xanthine oxidase 100 μ l를 100mM PB (pH 7.5) 900 μ l에 용해) 10 μ l를 첨가하고 혼합한 후 295nm에서 흡광도를 측정하였다.

결 과

1. DPPH 라디칼에 대한 항산화 활성

일반적으로 특정 물질에 대한 항산화 활성을 측정하는 방법에는 여러 가지가 있으나 그 중에서 DPPH 라디칼 제거 활성법은 비교적 간단하면서도 대량으로 측정이 가능한 방법이다. DPPH 라디칼은 화학적으로 유도되는 라디칼로서, 어떠한 반응계에서 전자를 공여 받으면 고유의 청남색이 없어지는 특성이 있다. 전자 공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다²²⁾. Table 1은 카테킨에 대한 DPPH 라디칼 제거 활성을 나타낸 결과를 보여주고 있다. 카테킨 원은 65.5%의

DPPH 라디칼에 대한 항산화 효능이 보였으며, 카테킨 투는 54.7%의 제거 활성을 관찰하였다. 이러한 결과는 98% 순수한 카테킨 성분(5 μ g)으로 DPPH 라디칼의 항산화 활성을 보인 결과²¹⁾ 보다 녹차 분말과 카테킨 농도가 20% 함유된 카테킨 투의 제품이 비슷한 결과를 관찰하였으나, 카테킨 원의 항산화 활성이 보고된 녹차 분말(5 μ g)과는 비슷한 결과를 보였으며, 98% 순수한 카테킨(5 μ g)의 DPPH 항산화 활성 보다는 10% 증가되는 것을 관찰하였다.

Table 1. Electron donating ability of Catechin products from Green tea extract on the DPPH

	Electron donating ability	
	Absorbance at 517nm	(%)
Negative control	-	-
Positive control	0.9324 \pm 0.068	0
Green tea extract	0.3320 \pm 0.068	64.5
(+) Catechin	0.4438 \pm 0.011	52.4
Catechin one	0.3218 \pm 0.009	65.5
Catechin two	0.4227 \pm 0.068	54.7

* - : Not detected

2. Hydroxy 라디칼의 제거 활성

산소호흡으로 세포에너지를 얻는 생물에 있어서 호흡과정의 부산물로 발생하는 유해 활성 산소종인 활성산소 라디칼이 생체 고분자의 산화를 통하여 노화나 암 발생 등 만성질환의 원인이 된다는 보고가 있기 때문에^{19,23)}, 녹차 추출물 카테킨이 활성 산소를 소거할 수 있는지 실험을 하였다. 특히 hydroxy 라디칼은 생체 분자에 대한 높은 독성으로 잘 알려져 있어 hydroxy 라디칼 제거 활성을 실험한 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 1% BHT는 73.1%, 카테킨 원은 64.6%, 카테킨 투는 51.4%의 제거를 나타내었다. 이러한 결과는 98%의 순수한 카테킨 성분(5 μ g)으로 hydroxy 라디칼의 제거 효능이 27% 정도 보인 결과와는 다르게 카테킨 투는 순수한 카테킨(5 μ g) 보다 2배의 증가와, 카테킨 원이 hydroxy 라디칼 제거 활성이 3배 증가 되는 높은 효능을 관찰하였다.

Table 2. Scavenging activity of Catechin products from Green tea extract on the hydroxy radical

	· OH scavenging activity	
	Absorbance at 532nm	(%)
Negative control	0.4172 \pm 0.002	100
Positive control	0.0934 \pm 0.006	0
1% BHT	0.1807 \pm 0.029	73.1
Green tea extract	0.2689 \pm 0.08	39.6
(+) catechin	0.3307 \pm 0.012	26.7
Catechic one	0.2086 \pm 0.009	64.9
Catechin two	0.2533 \pm 0.011	51.4

3. Xanthine oxidase의 저해 활성

산화적인 대사에서 xanthine/xanthine oxidase 반응계에서 측정되는 superoxide anion 라디칼에 대한 저해 효과는 어떤 물질에 의해 반응체가 억제될 경우, 즉 xanthine oxidase의 활성이 저해되는 경우 그 물질의 실제 라디칼 제거 효과보다 높은 활성으로 나타나게 된다. DPPH 방법과 hydroxy 라디칼의 실험에서 항산화 활성이 좋은 카테킨 원을 이용하여 xanthine oxidase 저해 활성 효능을 실험하였다. 녹차 추출물 카테킨 원의 농도를 변화시켜 산화 효소인 xanthine oxidase의 저해 활성 효과를 측정 한 결과 xanthine oxidase 저해활성이 카테킨 원의 농도가 5 μ g 일 때 2.3% 카테킨 원의 농도가 10 μ g 이상일 때 6.5% 정도의 낮은 억제 효과를 활성을 나타내었다.

Table 3. Inhibitory effects of Catechin one concentrations from Green tea extract in xanthine oxidase

Catechin one concentration(μ g)	Inhibition of xanthine oxidase (%)
None	0.0
5	2.3
10	6.5
20	6.9

고 찰

최근에 들어 학자들에 의해 superoxide anion 라디칼, hydroxy 라디칼, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성 산소들의 제거 및 활성을 약하게 하는데 관심이 모아지고 있다. 이러한 활성 산소의 제거 및 활성을 나타내는 성분 조사는 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제에 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으며, 지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물 유래이며⁵⁾ 대부분의 식물들의 항산화능 화합물은 주로 polyphenol 물질들이며 천연 항산화제로서의 기능을 보고하고 있다^{5,8)}. 현재 사용되고 있는 BHT 등의 합성 항산화제에 대한 유해성이 거론되면서 규격이 엄격해지고, 안정성 등에 의문이 제기되면서 안정성이 확보된 항산화물질을 찾고자 하는 노력이 다방면에서 활발히 이루어지고 있다^{3,9,10)}. 녹차의 화학적 성분으로 카테킨류는 flavanol 구조의 phenolic 화합물로서 무색, 수용성이며 강한 항산화능을 가지고 있는 보고가 있다. 그러나 최고의 항산화 효능을 보이는 카테킨 함량과 녹차 추출물과의 비율 및 용량에 대한 보고가 없어서 이에 대한 결과가 필요한 시점이었다.

그 결과 98%의 순수한 카테킨 성분으로 DPPH 라디칼의 항산화 활성을 보인 결과 보다 카테킨 투는 비슷한 결과를 관찰하였으며, 카테킨 원이 항산화 활성이 카테킨 성분 조성이 같은 98% 순수한 카테킨의 활성보다 10% 증가되었다(Table 1). 이러한 결과는 가장 높은 항산화 효과를 보인 녹차 추출물과 비슷한 항산화 효과를 보였다. 향후 카테킨이 51% 정도 함유된 녹차 추출물을 사용한다면 안정된 항산화 효과를 나타낼 수 있는 근거가 된다고 사료된다. 한편, Hydroxy 라디칼의 제거 효능이 98%의 순수한 카테킨 성분으로 hydroxy 라디칼의 제거 효능이 27%

정도 보인 반면 카테킨 농도가 같은 농도의 카테킨 투는 순수한 카테킨 보다 2배의 증가와, 카테킨 원이 hydroxy 라디칼 제거 활성이 3배 증가 되는 높은 효능 확인 하였다(Table 2). 이상의 결과로 녹차 추출물 제품의 카테킨 원과 투 제품 모두 DPPH 라디칼 항산화 활성과 hydroxy 라디칼 제거 효과에서도 효능이 있지만 카테킨의 성분이 높은 제품에서 항산화 활성이 증가 되는 것을 확인하였다. 그러나 xanthine oxidase 활성은 낮은 억제 효과를 보였는데(Table 3), 이러한 결과는 순수하게 정제된 상태가 아니므로 xanthine oxidase를 억제하는 물질과 라디칼 제거 활성을 가진 물질들이 동일 물질이라고 생각할 수 없으며, 효소의 저해 활성과 라디칼 제거 효능의 상관관계는 찾을 수 없다고 보고³⁾한 것 마찬가지로 카테킨 원의 효소 저해 활성 물질과 라디칼 저해 물질과는 동일하지 않을 것으로 사료된다.

카테킨이 최대 항산화 효과를 나타내는 농도는 98% 순수한 카테킨만을 이용하는 것보다 카테킨 농도가 같은 농도의 카테킨 원을 사용한다면 항산화 활성이 가장 높게 나타나며, 일정한 항산화 효과가 유지되는 적절한 농도로 항산화 기능성 보조제로 사용 가능하다고 판단된다.

결 론

본 연구에서는 천연 기능성 물질로 알려진 녹차 추출물 중 카테킨 성분이 첨가되는 농도에 따라 항산화력을 비교 분석하였다. 항산화력은 DPPH 방법, hydroxy 라디칼, xanthine oxidase과 같은 화학적 방법으로 발색시켜 흡광도 측정을 통하여 비교 분석하였다. 98% 순수한 카테킨(10 μ g)과 같은 농도의 카테킨 투의 제품이 비슷한 결과를 보였다. 카테킨 원이 항산화 활성이 카테킨 성분 농도가 같은 98% 순수한 카테킨의 활성보다 10% 증가되는 것을 관찰하였다. 또한 hydroxy 라디칼 제거 활성은 카테킨 투의 제품이 순수한 카테킨 보다 2배의 증가를 보였으며, 카테킨 원 제품이 hydroxy 라디칼 제거 활성이 3배 증가 되는 높은 효능을 관찰하였다. 한편 카테킨 원 제품의 농도별 xanthine oxidase 활성은 낮은 억제 효과를 보였다. 이상의 결과들을 종합해 보면 카테킨 원 제품의 사용이 가장 높은 항산화 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 이는 카테킨이 안정적으로 항산화 효과를 나타낼 수 있는 농도와 비율을 찾는 데 의미가 있다고 볼 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 원광대학교 교비지원에 의해 연구됨.

참고문헌

1. Lee, M.J. and Moon, G.S. Antioxidative effects of Korean bamboo trees, Wang-dae, Som-dae, Maengjong-juk, Jolit-dae and O-juk. KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL 35(6):1226-1232, 2003.
2. Choi, C.S., Song, E.S., Kim, J.S. and Kang, M.H. Antioxidative activities of *Castanea Crenata* Flos. Methnol Extracts. KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL 35(6):1216-1220, 2003.
3. Shim, J.H., Park, M.W., Kim, M.R., Lim, K.T. and Park, S.T. Screening of antioxidant in Fructus mune (*Prunus mune* Sieb. et Zucc.) extract. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 45(2):119-123, 2002.
4. Lim, K.T. and Shim, J.H. Antioxidative effects of ethanol extracts from *Rhus Verniaiflua* Stokes (RVS) on mouse whole brain cells. J. Food Sci. Technol. 29, pp 1248-1254, 1997.
5. Jung, S.J., Lee, J.H., Song, H.N., Seong, N.S., Lee, S.E. and Baek, N.I. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 47(1):135-140, 2004.
6. Branen, A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil Chem. Soc. 52, pp 59-63, 1975.
7. Choe, S.Y. and Yang, K.H. Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxy anisole (BHA). Korean J. Food Sci. Technol. 14, p 283, 1982.
8. Pratt, D.E., Huang, M.T., Ho, S.T. and Lee, C.Y. (eds.), In phenolic compounds in food and their effects on health (II). Antioxidants and Cancer Prevention. Washington D. C. pp 54-71, 1992.
9. Addis, P.B. and Hassel, C.A. In food safety assessment: Safety issues with antioxidants in foods. American Chemical Society, Washington D. C. pp 347-376, 1992.
10. Chan, K.M., Decker, E.A. and Means, W.J. Extraction and activity of carnosine, a naturally occurring antioxidant in beef muscle. J. Food. Sci. 58, pp 1-4, 1993.
11. Kim, B.J. and Kim, J.H. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. Int. J. Cosmet. Sci. 19, pp 299-307, 1997.
12. Chung, F.L., Schwartz, J., Herzog, C.R. and Yang, Y.M. Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. J. Nutr. 133(10):3264S-3274S, 2003.
13. Kuttan, R. Antidiabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. J. Ethnopharmacol. 83(1-2):109-116, 2002.
14. Macrae, R., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. (edit). Tea In : Encyclopedia of food Science, Food Technology and Nutrition, published by Harcourt Brace Jovanovich. Academic Press. UK. pp 4521-4542, 1993.
15. Scarbert, A. and Williamson, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J. Nutrition 130, pp 2073S-2085S, 2000.
16. 신미경, 녹차의 과학, 한국식생활문화학회지. 9(4):433-445, 1994.

17. Branen, A. L. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxy- anisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS*, 52, pp 59-63, 1975.
18. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. and Aruoma, O.I. The deoxyribose method: a simple test tube assay for determination of rate constants for reaction of hydroxyl radicals. *Anal. Biochem.* 165, pp 215-219, 1987.
19. Kang, M.Y., Lee, Y.R., Koh, H.J. and Nam, S.H. Antioxidative and antimutagenic activity of ethanolic extracts from giant embryonic rices. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47(1):61-66, 2004.
20. Beyer, W.F. and Fridovich, I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161(2):559-566, 1987.
21. Geetha, T., Garg, A., Chopra, K. and Kaur, I.P. Delineation of antimutagenic activity of catechin, epicatechin and green tea extract. *Mutation Research* 556, pp 65-74, 2004.
22. Yen, G.C. and Chen, H.Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* 43, pp 27-32, 1995.
23. Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82, pp 47-95, 2002.