

## 산뽕잎 및 은행잎 차의 항산화 활성과 플라보노이드 함량

황인욱 · 김지은 · 정신교\*

경북대학교 농업생명과학대학 식품공학과

### Antioxidant Capacities and Flavonoid Contents of Wild Mulberry and Ginko Leaves Teas

In-Wook Hwang, Ji-Eun Kim, Shin-Kyo Chung\*

*Department of Food Science and Technology, College of Agricultural and Life Science, Kyungpook National University*

#### Abstract

The antioxidant activities and flavonoid contents of the mulberry leaves and the ginko leaves teas were investigated. The antioxidant activities were examined by FRAP and DPPH radical scavenging assays, and total phenolic content and the flavonoid contents by HPLC were also determined. The ginko leaves tea showed the highest antioxidant activities and antioxidant contents, while the wild mulberry leaves tea showed the lowest. The antioxidant activities of the mixture tea of wild mulberry leaves and ginko leaves were increased more than the wild mulberry leaves tea. The flavonoid contents of the leaves(ginko, wild mulberry and mixture) powders were higher than those of infusion teas. Compared with wild mulberry tea, the mixture tea showed a little increase of flavonoid contents. The total phenolic contents and the flavonoid contents of the teas showed good correlations with their antioxidant activities, such as FRAP and DPPH radical scavenging activities( $\geq 0.8727$ ). The antioxidant capacities of wild mulberry leaves tea could be enhanced by the addition of the ginko leaves.

**Key words** : *Wild mulberry leaves, Ginko leaves, Antioxidant, Flavonoid contents, Infusion tea*

#### 서 론

산뽕나무 (*Morus bombycis Koidzumii*)는 뽕나무과 (*Moraceae*)의 뽕나무속 (*Morus*)에 속하는 식물로 낙엽활엽교목으로 잎은 난형 또는 난상 원형이며 밑은

일자 모양 또는 심장형이고 끝은 뾰족하며 날카로운 톱니가 있다. 뽕나무 잎은 flavones, steroids, triterpenes, 아미노산, 비타민, 미네랄, 식이섬유 등의 함량이 높고, 전통 생약으로 당뇨병을 예방하며 갈증을 해소시키는 것으로 알려져 있으며, 봄부터 가을에 걸쳐 채취가 가능하므로, 식품소재로서 널리 이용될 가능성을 지니고 있다.<sup>1)</sup> 뽕나무 잎의 생리활성에 관한 연구로는 항산화,<sup>2)</sup> 항균,<sup>3)</sup> 항당뇨,<sup>4)</sup> 항고지혈증<sup>5)</sup> 등이 보고되어

\*Corresponding author. E-mail : kchung@knu.ac.kr,  
Phone : 82-53-950-5778, Fax : 82-53-950-6772  
(Received October 18, 2010; Examined November 17, 2010;  
Accepted November 26, 2010)

있으며, 기능성 식품 또는 건강보조 식품으로 현대인들이 쉽고 간편하게 섭취할 수 있는 차 제품으로 많이 가공되어 판매된다.<sup>6,7)</sup> 차는 식물의 열매나 뿌리, 줄기, 잎 등을 적절하게 가공 처리함으로써 고유의 맛과 향기, 색 또는 기능이 나타나게 되며, 차 제품의 건강 기능성은 일반적으로 폴리페놀성 화합물의 항산화 활성과 연관성이 크다.<sup>8)</sup> 따라서 폴리페놀성 화합물의 함량과 항산화 활성은 차 제품의 품질 지표 중의 하나이며,<sup>9,11)</sup> 제품의 품질 향상을 위해 이를 증가시키는 연구가 필요하다. 뽕잎,<sup>12)</sup> 감잎,<sup>13)</sup> 보리잎,<sup>14)</sup> 은행잎<sup>15)</sup> 등과 이들 각각의 차 제품들의 항산화 성분과 활성에 대한 연구들은 많이 보고되어 있으나, 이들을 혼합하거나 침출 조건의 개선으로 항산화 활성과 관련 성분 함량을 증가시키기 위한 연구는 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 새로운 건강 기능성 제품 개발 가능성을 도모하고 차 제품의 품질 향상을 위하여 산뽕잎과 은행잎을 이용하여 침출차를 만들어 항산화 활성 및 플라보노이드 함량을 비교 분석하고, 차의 음용에 적합한 침출시간과 산뽕잎차의 은행잎 혼합 효과를 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용한 산뽕 (*Morus bombycis Koidzumi*) 잎 및 은행 (*Ginkgo biloba* L.) 잎은 2006년 6월 팔공산에서 자생된 것을 채취한 것으로, 48시간 동안 자연 건조 시킨 것을 사용하였다. 대조구로 사용한 녹차는 2006년 6월 (주)삼화한양식품으로부터 제공 받은 것을 사용하였다. 실험에 사용한 gallic acid, trolox, L-ascorbic acid, quercetin, kaempferol, myricetin, 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), 1,1-diphenyl-2-picryldrazyl (DPPH)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였고, 기타 시약류는 분석용 특급 시약을 사용하였다.

### 2. 산뽕잎 차의 제조

산뽕잎과 은행잎 및 혼합 분말차 중에 존재하는 플라보노이드 성분의 침출을 위해 48시간 자연 건조 시킨 산뽕잎과 은행잎을 20 mesh 크기로 분쇄하여 분말 상태로 만든 후 각각 1.3 g 씩을 넣어서 티백으로 만들었다. 혼합 분말차의 경우 산뽕잎과 은행잎의 혼합비를 관능검사 결과 기호성이 좋게 나타난 2 : 1의 비율로 제조하였다. 차 침출물은 보통의 음용하는 티백차와 같이 1.3 g의 티백에 물 100 mL를 넣고, 침출온도는 80°C, 침출시간은 각각 90, 180, 270, 360 sec로 침출하였다.

### 3. 항산화 활성 분석

#### 3.1. DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성은 Blois의 방법<sup>16)</sup>을 이용하여 측정하였다. 시료 100 µL와 DPPH를 메탄올에 100 µM의 농도로 녹인 DPPH 용액 900 µL를 넣고 혼합하여 실온에서 암실에 30분간 방치한 다음 UV spectrophotometer(UV 1601 PC, Shimadzu CO., Kyoto, Japan)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 DPPH radical 소거활성은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [1 - (\text{Abs}/\text{Abs})] \times 100$$

Abs : Absorbance of DPPH solution with sample at 520 nm

Absc : Absorbance of DPPH solution without sample at 520 nm

#### 3.2. Ferric Reducing Antioxidant Power assay (FRAP)

FRAP assay는 Benzie 등의 방법<sup>17)</sup>을 변용하여 실험에 사용하였다. 실험을 위하여 acetate buffer (pH 3.6, 23 mM), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 및 20 mM FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O를 10 : 1 : 1의 비율로 섞어 만든 반응용액(cocktail solution)을 실험 전까지 37°C를 유지하여 사용하였다. 96 well 마이크로 플레이트에 시료용액을 각각 25 µL 넣은 후 cocktail solution 175 µL를 혼합하였다. 암실에서 30분 방치한 후 590 nm에서 흡광도를 측정하였다 (1420 VICTOR3

multiabel counter, PerkinElmer Inc., USA). 환원력은 매 실험 시에 측정된 trolox의 농도에 따른 흡광도의 단순 회귀식에서 구한 trolox equivalent value ( $\mu\text{M}$ )로 나타내었다.

#### 4. 항산화 성분 분석

##### 4.1. 총 페놀 함량

총 페놀의 함량은 Folin-Ciocalteu 법<sup>18)</sup>에 의하여 측정하였다. 시료 100  $\mu\text{L}$ 에 2 N Folin-Ciocalteu's 시약 50  $\mu\text{L}$ 를 가하여 발색시키고, 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  300  $\mu\text{L}$ 를 가하여 15분 동안 실온에서 방치한 후 증류수 1 mL를 넣은 다음 1250 rpm으로 5분간 원심분리 후 상등액을 UV spectrophotometer (UV 1601 PC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준물질로서 gallic acid를 이용하여 얻은 회귀곡선으로부터 시료의 총 페놀의 함량을 구하였다.

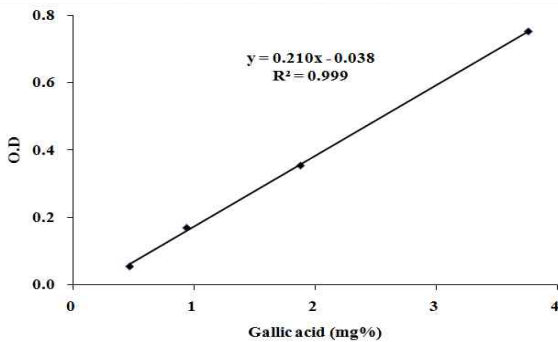


Fig. 1. Standard curve for the determination of total phenolic content.

##### 4.2. Flavonoid 함량

Flavonoid 함량 분석은 차 침출물과 차잎 분말 두 가지 시료를 분석 비교하였다. 먼저 차 침출물을 동결 건조하여 1 mg를 취해 2 N HCl/50% MeOH 50 mL를 가하여 100°C에서 60분 동안 가열하여 가수분해 시킨 시료를 완전히 농축한 후 메탄올을 첨가하여 5 mL로 정용하였다. 그 다음 에틸아세테이트 5 mL를 가하여 2회 층 분리를 하여 얻어진 상등액을 농축한 후 메탄올을 가하여 1 mg/mL의 농도를 만들어 실험에 사용하였다. 다음으로 산뽕잎과 은행잎 및 혼합 분말 중에 존재하는 flavonoid 침출은 48시간 자연 건조시킨 산

뽕잎과 은행잎을 20 mesh 크기로 분쇄하여 분말 상태를 만들었다. 분말을 각각 0.5 g을 취하여 2 N HCl/50% MeOH 50 mL를 가하여 90°C에서 90분 동안 가열하면서 환류침출한 시료를 농축한 후 메탄올을 첨가하여 5 mL로 정용하였다. 에틸아세테이트 5 mL를 가하여 2회 층 분리를 하여 얻어진 상등액을 농축한 후 메탄올을 가하여 2 mg/mL의 농도를 만들어 실험에 사용하였다. HPLC 분석은 각각 시료를 0.45  $\mu\text{m}$  membrane filter로 여과한 후 얻어진 상등액을 HPLC (LC-10A Shimadzu Co., Japan)를 사용하여 분석하였다. HPLC 조건은 다음과 같다. Column은 TSK gel ODS-100Z를 사용하였고, 이동상은 0.025 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ /45% MeOH, 유속은 1 mL/min, 검출과장은 370 nm에서 분석하였다.

#### 5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 측정하여 평균값  $\pm$  S.D. ( $n=3$ )으로 나타내었으며, 통계처리는 SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA) package를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 침출 시간에 따른 산뽕잎차의 항산화 활성

1.1. DPPH 라디칼 소거 활성법에 의한 항산화 활성  
활성산소종의 소거 활성을 측정하는 방법으로서 비교적 간단하고 신속한 DPPH 라디칼 소거활성측정법을 사용하여 각종 식용식물 및 phytochemical 들의 항산화활성을 나타낸다. 여기에서 사용하는 DPPH는 안정한 자유 라디칼로서 이들이 전자를 공여할 수 있는 다른 항산화 물질과 반응하게 되면 자색에서 무색으로 변하게 된다. 산뽕 및 은행잎, 이들의 혼합차를 2배로 희석한 시료 용액의 DPPH 라디칼 소거 활성을 Fig. 2에 나타내었다. 은행잎차와 산뽕잎차는 270초간 침출하였을 때 라디칼 소거활성이 각각  $58.3 \pm 1.00\%$ ,  $18.3 \pm 3.5\%$ 로 가장 높았고, 혼합차는 360초간 침출하였을 때 40%로 가장 높은 소거활성을 나타내었다. 은행잎차는 전반적으로 산뽕잎차보다 3배 정도

높은 항산화 활성을 나타내었고, 혼합차는 270초까지 침출하였을 때는 항산화 활성이  $22.5 \pm 1.2\%$ 로 낮지만, 360초간 침출하였을 때는 항산화 활성이 2배 정도 증가하였다. 녹차와 보리잎차의 DPPH 라디칼 소거활성은 각각 50.56%, 11.06%로 보고<sup>14)</sup>되어서, 본 연구 중의 은행잎, 산뽕잎과 비슷하였다.

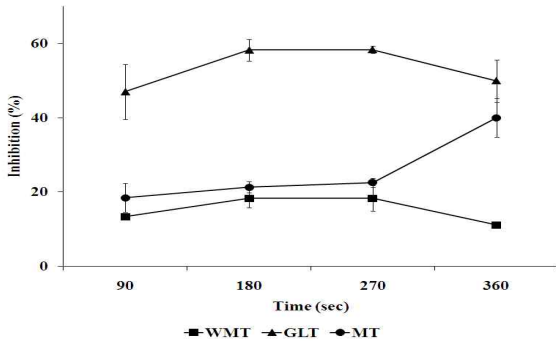


Fig. 2. DPPH radical scavenging activities of different infusion type teabag teas. WMT; wild mulberry leaves tea, GLT; ginkgo leaves tea, MT; mixture of ginkgo and wild mulberry tea.

1.2. FRAP 방법에 의한 항산화 활성

FRAP 방법은 전술한 DPPH 라디칼 소거 활성의 측정법과는 메커니즘이 다른 항산화 활성 측정법으로 DPPH 방법은 자유 라디칼을 직접적으로 소거하는 활성을 측정하는데 비하여 FRAP 방법은 산화 및 환원 반응에 의한 항산화 측정법이다. FRAP 방법으로 실험한 산뽕잎, 은행잎 및 혼합차의 침출시간에 따른 항산화 활성을 Fig. 3에 나타내었다. 산뽕잎차와 혼합차는 각각 360초간 침출하였을 때 FRAP value가 각각

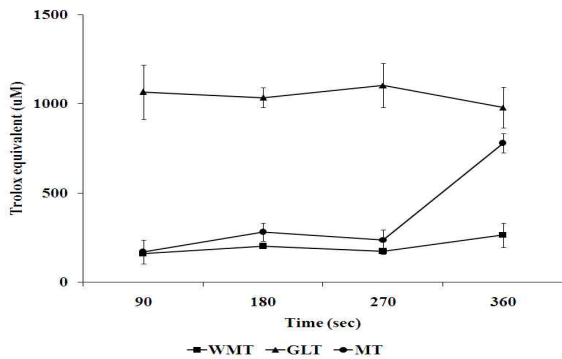


Fig. 3. Antioxidant activity of different infusion type teabag teas by FRAP assay. WMT; wild mulberry leaves tea, GLT; ginkgo leaves tea, MT; mixture of ginkgo and wild mulberry tea.

$264 \pm 69 \mu\text{M TE}$ ,  $780 \pm 53 \mu\text{M TE}$ 로 가장 높은 활성을 나타내었고, 은행잎차는 270초간 침출하였을 때  $1104 \pm 123 \mu\text{M TE}$ 로 가장 높게 나타났다. 은행잎차의 FRAP 활성은 같은 침출시간대의 산뽕잎차보다 5배 정도 높은 항산화 활성을 나타내었고, 혼합차는 270초간 침출하였을 때는 항산화 활성이  $235 \pm 58 \mu\text{M TE}$ 로 낮지만 360초간 침출하였을 때는 항산화 활성이 3배 이상 증가하였다.

2. 침출 시간에 따른 산뽕잎차의 항산화 성분 함량

2.1. 침출시간에 따른 총 phenol 성분 함량

페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 비교적 화학적 구조와 분자 크기가 다양하다. 이들은 페놀성 수산기를 가지기 때문에 단백질 등의 생체 고분자 화합물들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가진다.<sup>20)</sup> 일반적으로 총 페놀성 화합물의 함량을 항산화 활성을 나타내는 물질로서 많이 측정하고있으며 따라서 산뽕잎차, 은행잎차 및 혼합차의 총 페놀성 화합물 함량을 측정하였다. 침출시간에 따른 각 차의 페놀성 화합물 함량을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 모든 차에서 페놀성 화합물을 함유하고 있는 것으로 나타났고, 산뽕잎차, 은행잎차, 혼합차 모두 360초간 침출하였을 때 가장 높은 함량을 나타내었으며, 각각  $101.2 \pm 7.2$ ,  $203.1 \pm 13.4$ ,  $156.5 \pm 6.9 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 의 함량을 나타내었다. 위의 실험들과 마찬가지로 산뽕잎에 은행잎을 혼합하는 것이 항산화 성분의 증가를 나타내는 것을 알 수 있다. Chung 등의<sup>21)</sup> 결과에 의하면 침출

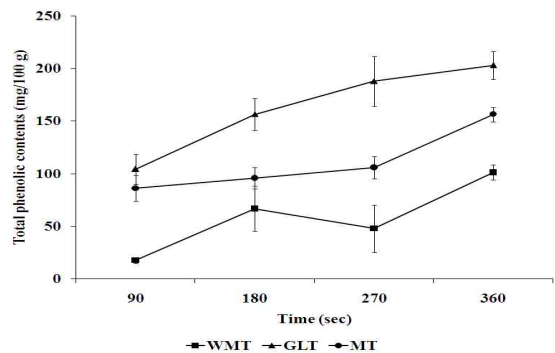


Fig. 4. Total phenolic contents of different infusion type teabag teas. WMT; wild mulberry leaves tea, GLT; ginkgo leaves tea, MT; mixture of ginkgo and wild mulberry tea.

## 산뽕잎 및 은행잎 차의 항산화 활성과 플라보노이드 함량

시간을 3분 이내로 할 때 페놀성 화합물의 함량과 항산화 활성이 가장 높게 나타났다. 그러나 본 연구에서는 은행잎은 침출시간이 증가할수록 함량이 계속 증가하는 경향을 나타내었으나 혼합차의 경우는 침출 시간 3분 이후에는 총 페놀화합물의 함량이 거의 유사하였다.

### 2.2. 침출차의 flavonoid 함량

차에는 주로 quercetin, myricetin, kaempferol과 같은 flavonoids가 많이 함유되어있다. 따라서 침출에 따른 시료의 quercetin, myricetin, kaempferol 성분의 변화를 알아보기 위해 산뽕잎, 은행잎 및 혼합차 분말과 동결 건조한 물 추출물 시료를 산 가수분해하여 배당체를 제거한 후 HPLC를 이용하여 분석을 하였다. 산뽕잎, 은행잎 및 혼합차 분말과 동결건조한 물 추출물의 flavonoids 함량은 각각 Table 1, 2에 나타내었다. Myricetin, quercetin, kaempferol 함량은 은행잎에서 각각 76.62, 144.21, 125.03 mg/100 g으로 가장 많은 함량을 나타내었고, 은행잎차에서도 각각 45.18, 46.36, 51.93 mg/100 g으로 가장 높게 나타났다. 추출 수율도 은행잎차에서 가장 높게 나타났다. 모든 차에서 quercetin, myricetin, kaempferol 순으로 높은 함량을 나타내었지만, 추출 수율은 myricetin, kaempferol, quercetin 순이었다. 각 차에 따른 추출 수율은 은행잎차 (41.48%), 혼합 분말차 (24.20%), 산뽕잎차 (21.50%) 순이었다. Flavonoids의 총 함량은 은행잎차가 산뽕잎차보다 5배 정도 높았고, 산뽕잎에 은행잎을 혼합한 것은 1.5배 정도의 flavonoid 함량의 증가 효과를 나타내었다. Lim 등<sup>12)</sup>이 뽕잎차의 flavonoid 성분을 분석한 결과와 비교하면 각 성분들의 경향은 비슷하나 볶음 처리하지 않은 차의 총 flavonoid 함량은 66.03 mg/100 g으로

**Table 1. Flavonoid contents of different leaves powders**  
(mg/100 g)

Sample	Myricetin	Quercetin	Kaempferol	Total contents
GLT	76.62	144.21	125.03	345.86
WMT	42.35	70.95	31.34	144.64
MGT	54.52	84.39	41.42	180.33

본 연구에서 사용된 산뽕잎차에 비해 함량이 2배 정도 높게 나타났다. 그러나 볶음 및 유념처리를 한 차의 경우에는 본 연구 결과와 비슷한 함량을 나타내었다. 그리고 Huafu 등의<sup>22)</sup> 결과와 비교하면 녹차보다는 함량이 낮고 홍차와는 유사한 함량을 가지는 것으로 나타났다.

**Table 2. Flavonoid contents of water extracts of different infusion type teabag teas**

Sample <sup>1)</sup>	Myricetin	Quercetin	Kaempferol	Total contents
GLT	45.18 (58.97) <sup>2)</sup>	46.36 (32.15)	51.93 (41.53)	143.47 (41.48)
WMT	20.27 (20.89)	6.49 (9.15)	4.34 (13.84)	31.1 (21.50)
MGT	21.03 (38.57)	11.44 (13.56)	11.18 (26.99)	43.65 (24.20)

<sup>1)</sup>Water extract for 3 min. <sup>2)</sup>Extraction yield (%).

### 3. 침출차의 항산화 활성과 항산화 성분 간의 상관성

DPPH 라디칼 소거 활성 측정법 및 FRAP 방법에 의하여 측정된 침출차의 항산화 활성과 총 페놀 성분 함량과의 상관계수 값을 Table 3에 나타내었다. 총 페놀성분 함량과 FRAP 활성 간의 상관계수 값이 0.9981으로 가장 높았으며, 그 다음으로 DPPH와 총 페놀 성분 함량, 및 FRAP 활성의 순으로 상관성이 높았다. 그러므로 총 페놀 성분 함량이 산뽕잎 침출차의 항산화 활성에 크게 영향을 미칠 수 있다.

그러나 곡류, 약용식물 및 과일 등 대상이 되는 식물성 식품의 종류와 주성분에 따라서 각각의 항산화 활성과의 상관성이 다르게 나타나기도 한다.<sup>23)</sup>

**Table 3. Correlation coefficients among total phenolic contents, DPPH and FRAP values of teabag teas**

	Total Phenolic contents	DPPH	FRAP
Total Phenolic contents	-	0.8885	0.9981
DPPH	0.8885	-	0.8727
FRAP	0.9981	0.8727	-

요 약

산뽕잎, 은행잎 및 혼합차의 침출시간에 따른 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거 활성과 FRAP 방법으로 조사하였으며, 총 페놀 화합물의 함량은 Folin-Ciocalteu법, 플라보노이드 함량은 HPLC로 분석하였다. 침출시간에 따라서 DPPH 라디칼 소거활성과 FRAP 활성은 은행잎차, 혼합차, 산뽕잎차 순으로 높게 나타났다. 총 페놀 성분 함량은 은행잎차, 혼합차, 산뽕잎차 순으로 높았으며 산뽕잎에 은행잎을 2:1로 혼합하였을 때 항산화 활성이 증가하였다. 침출시간 3분 정도에서 산뽕잎차 및 혼합차는 비교적 항산화 활성이 높았으며 은행잎차는 6분 까지 활성이 증가하였다. HPLC로 분석한 플라보노이드 성분 함량은 quercetin이 모든 차에서 가장 함량이 높았으며, 은행잎차, 혼합차, 산뽕잎차 순으로 플라보노이드의 총 함량이 높게 나타났다. 제조한 침출차 들의 항산화 성분 함량과 항산화 활성의 상관계수는 0.87 이상으로 상관성이 상당히 높았다.

참고문헌

1. Sa, J. H., Jin, Y. S., Shin, I. C., Shim, T. H. and Wang, M. H. 2004. Photoprotective effect and antioxidative activity from different organs of *Morus bombycis Koidzumi*. Kor. J. Pharmacogn. 35: 207-214.
2. Kim, H. B. 2005. Antioxidative capacity analysis of water-soluble substances according to varieties and maturity stages in mulberry leaves and fruits. Korean J. Seric Sci. 47: 62-67.
3. Lee, H. S., Kim, S. Y., Jeon, H. J., Lee, S. D., Moon, J. Y., Kim, A. J. Lee, W. C. and Ryu, K. S. 2000. Growth inhibitory effect of clostridium perfringens for catechins separated from mulberry leaf. Korean J. Seric Sci. 42: 6-9.
4. Kim, S. Y. Ryu, K. S. Lee, W. C. Ku, H. O. Lee, H. S. and Lee, K. R. 1999. Hypoglycemic effect of mulberry leaves with anaerobic treatment in alloxan-induced diabetic mice. Kor. J. Pharmacogn. 30: 123-129.
5. Kim, S. Y. Lee, W. C. Kim, H. B. Kim, A. J. and Kim, S. K. 1998. Antihyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol-induced hyperlipidemia rats. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 27: 1217-1222.
6. Lee, J. M., Son, E. S., Oh, S. S. and Han, D. S. 2001. Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. Korean J. Diet. Cul. 16: 504-514.
7. Kim, N. M., Ko, S. R., Choi, K. J. and Kim, W. J. 1993. Effect of some factors on extraction of effectual components in cinnamon extract. J. Korean Agric. Chem. Soc. 36: 17-22.
8. Rice-Evans, C. 1999. Implications of the mechanisms of action of tea polyphenols as antioxidants in vitro for chemoprevention in humans. Proc. Soc. Exp. Boil. Med. 220: 262-266.
9. Cao, G., Sofic, E. and Prior, R. L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. J. Agric. Food Chem. 44: 3426-3431.
10. Richelle, M., Tavazzi, I. and Offord, E. 2001. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. J. Agric. Food Chem. 49: 3438-3442.
11. Natella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C. and Scaccini, C. 2002. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. J. Agric. Food Chem. 50: 6211-6216.
12. Lim, M. J., Bae, Y. I., Jeong, C. H., Cho, B. R. and Choi, J. S. 2007. Phytochemical components of mulberry leaf tea by different roasting processes. J. Agric. Life Sci. 41: 17-24.
13. Chung, S. H. 2009. Antimicrobial activity of ethanol extract and fractions of persimmon leaf tea. J. Kor. Tea Soc. 15: 99-106.

14. Jang, J. H., Choi, H. S., Cheong, H. S. and Kang, O. J. 2007. A comparison of the antioxidant activity of barley leaf tea and green tea according to leaching conditions in distilled water. *Korean J. Food Cookery Sci.* 23: 165-172.
15. Kang, S. S., Kim, J. S., Kwak, W. J. and Kim, K. H. 1990. Flavonoids from the leaves of *Ginkgo biloba*. *Kor. J. Pharmacogn.* 21: 111-120.
16. Blois, M. S. 1958. Antioxidants determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200.
17. Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
18. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenolic and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.
19. Park, C. O. 1996. Antioxidant activity of boiling water extracts obtained from green tea. Doctorate thesis. Pusan National University. pp 26-30.
20. Seob, U. H., Choe, H. J. Han, H. S. Park, J. H. Son, J. H. An, B. J., Son, G. M. and Choe, C. 2003. Isolation of polyphenol from green tea by HPLC and its physiological activities. *Korean J. Food Sci. Tech.* 35(6): 1199-1203.
21. Chung, S. K., Kim, M. Y., Kim, Y. C., Kuniyama, I. and Hajime, M. 2004. Antioxidant effects of Korean teabag teas by a simple and fast XYZ-dish method. *Food Sci. Biotechnol.* 13: 197-201.
22. Huaifu, W. and Keith, H. 2001. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusion by high performance liquid chromatography. *Food Res. Int.* 34: 223-227.
23. Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food. Chem.*, 46: 4113-4117.