

감 초미세 분말의 추출물을 이용한 항산화 및 항아토피 활성

허진철 · 이강열¹ · 이범구¹ · 최소영² · 이숙희² · 이상한

경북대학교 식품생물산업연구소 및 식품공학과, ¹(주)한국에너지기술, ²경북농업기술원

Anti-Allergic Activities of Ultra-fine Powder from Persimmon

Jin-Chul Heo, Kang-Yol Lee¹, Beom-Goo Lee¹, So-Young Choi²,
Sook-Hee Lee², and Sang-Han Lee

*Food & Bio-Industry Research Institute and Department of Food Science & Technology,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea*

¹*Korea Energy Technology Co., Ltd, Seoul 153-772, Korea*

²*Gyeongsangbuk-do Agricultural Research & Extension Services, Daegu 702-708, Korea*

Abstract

Ultra-fine powder (FA) extracts from persimmon were investigated as potential food materials in industrial processes because such extracts have various useful biological activities. We examined the antioxidant and anti-allergic activity of FA extracts using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric reducing activity of plasma (FRAP) models, and by measuring interleukin 4 (IL-4) expression in spleen cells and in an atopy animal model. FA extracts were prepared using solvents including distilled water and 50% (v/v) acetone. The results showed that FA extracts had potent DPPH and FRAP activities, decreased IL-4 expression in spleen cells, and inhibited ear thickness and inflammation in a mouse animal model. The data indicate that a FA extract could be used as an antioxidant and/or anti-inflammation agent, and in industrial food preparation processes.

Key words : persimmon, DPPH, FRAP, allergic dermatitis, anti-inflammation, anti-oxidant

서 론

감(persimmon)은 비타민(vitamin) A와 C가 풍부하여 고혈압과 숙취해소에 효과가 큰 것으로 알려져 있다. 다른 과일에 비해 질병에 대한 저항성을 높이며(1), 피부탄력유지와 감기예방 및 성인병에 대한 약리작용과 효능이 검증되어 이용이 확대되고 있으며(2,3), 이를 이용한 제품 또한 많이 개발 되고 있는 실정이다. 한편, 초미세 분쇄기술(ultra-fine powder technique)은 물질의 표면적을 극대화하여 난분해성물질의 용해도를 높임으로서 용해도가 매우 높아지는 장점을 가지며, 상대적으로 유용물질의 추출이 용이하고, 색이나 향기 등의 파괴를 줄이는 분쇄기술로서, 분쇄 중 저온을 유지함으로써 분쇄과정 중의 색깔이나 향기

를 최대한 유지시켜 주는 장점이 있다(4,5). 최근 출시된 초미세 분말을 이용한 음료의 경우를 보아도 목 넘김이나 복용 편이성, 건강기능성이 강조됨으로써 판매가 늘어나고 있으나, 아직 관련 제품이 상품화된 경우는 3종에 지나지 않는 실정이다. 일반적으로 음료 등에 첨가가 가능한 입자의 크기는 d_{97} 3 μm 이하인데, 이는 침강속도와 Brownian운동에 의한 전이거리의 상관관계에 따라 달라질 수 있다. 꽃감과 같이 점성이 높고 당분함량이 많은 경우에는, 기존 기술로는 초미분화가 불가능하므로 이에 관련한 기술을 확립할 필요가 있다. 그 이유는 이런 기술 개발로 농산물을 1차 가공품에서 탈피하여 용해도를 증진시키는(체내 흡수율을 높이는) 기능성 식품소재나 식의약소재 등 고부가가치 소재로의 전환이 가능할 것으로 기대되기 때문이다.

최근 국내·외 생물 산업 및 나노산업 분야에서는 식품, 한방, 또는 전통 생물산업 분야에서 사용하고 있는 재료로부터 추출하고 있으며, 효율이 우수하면서 용해도가 높은

*Corresponding author. E-mail : sang@knu.ac.kr
Phone : 82-53-950-7754, Fax : 82-53-950-6772

소재를 개발 하고 있다. 또한 타 원료와의 혼합능, 재료의 고유한 유효성분이나 색, 향, 풍미 등의 물리적 또는 화학적 성질을 최대한 보존하면서 콜로이드 용액 등을 형성 할 수 있는 5 μm 이하의 초미세분말 가공기술이 이용되고 있다. 이는 기능성 식품소재산업, 대체 의학인 한방소재 가공산업, 향장소재산업, 화공소재산업에 활발히 활용되고 있다(6).

본 연구는 이러한 초미세 분말 가공기술을 이용하여 감의 초미세 분말을 제조하였으며, 이를 활용하여 초미세 감의 분쇄정도에 대한 항산화활성 및 항알러지 활성을 알아보았다.

재료 및 방법

재 료

본 실험에 사용된 감은 청도반시(*Diospyros kaki Thunb.*)로서 경북 청도군 이서면 소재의 농가에서 청도군농업기술센터의 전문가로부터 자문을 받아서 2008년 11월 중순에 수확된 감을 실험에 사용하였다.

감 초미세 분쇄 및 분말의 추출물

초미세 분말을 만들기 위하여 한국에너지기술에서 개발한 초미세 분쇄기를 이용하였다(HKP-05, Korea Energy Tech. Co., Ltd., Seoul, Korea). 본 실험에 사용된 초미세 분쇄물은 3종으로 각각 FA1 (400 mesh), FA2 (600 mesh), FA3 (80 mesh)로 각 시료의 차이는 mesh의 크기로 분말입자의 크기로 구분을 하였다. 추출물은 100 mg/mL의 농도로 DW와 50% 아세톤에서 overnight시킨 다음, 12,000 rpm으로 10 분간 원심분리 한 후, 상층액을 실험에 사용하였다.

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 활성 측정

각 추출물의 시료에 0.2 mM DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 감 초미세 분말 추출물과 DPPH solution을 1/20의 비율로 해서 실온서 10분간 incubation한 후 517 nm (Victor3, PerkinElmer)에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성 비율 (% inhibition)은 아래와 같이 계산 하였다(7).

$$\text{Inhibition}(\%) = \left[1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

(A : Absorbance O. D 517 nm)

Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) 활성 측정

반응액으로 acetate buffer (pH 3.6, 300 mM) : 10 mM의 TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) : 20 mM의 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 10:1:1의 비율로 혼합하여 실험직전에 만들었다. 반응액과 추출물을 각각의 비율로 혼합 한 후 10분간 상온에서 보관

후 595 nm에서 흡광도를 측정하였다(8).

마우스 비장세포를 이용한 사이토카인 측정

Balb/c (male, 5~6 주령, 효창사이언스) 마우스의 비장 세포(spleen cell)를 분리하여 이를 primary culture하면서 IL-4 (interleukin-4)의 cytokine의 발현 양을 측정하였다. Spleen primary cell culture는 먼저, 마우스의 복부를 해부하여 좌측 복부부분의 spleen을 절취하여 bench로 옮긴 다음, spleen을 완전히 분쇄하여 clump로부터 fat 등을 제거한 후, RBC를 제거하고, RPMI 1640 배지를 이용하여 3회 수세하였다. Concanavalin A (Con A)를 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하여 cell을 48시간 배양하면서 세포를 활성화시켰다. 감 초미세 분말 추출물을 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하고, 24시간 배양 후, ELISA 방법을 이용하여 IL-4의 발현량을 culture media로부터 측정하였다.

마우스 동물모델을 이용한 항알러지 측정

마우스 동물모델을 이용한 anti-allergic activity 실험은 다음과 같이 실시하였다. 알러지의 대표적인 실험방법은 chemical을 이용한 알러지성 피부염모델이므로 이를 적용하였다. 면역반응 유도물질은 DNFB (dinitrofluorobenzene)를 처리하여 마우스의 귀 부분에 염증반응을 유도한 다음, 감 초미세 분말 추출물을 처리하여 귀에서의 염증반응 (inflammation)의 완화 정도를 확인하였다. 마우스는 샘타코(주)에서 5주령의 Balb/c 수컷을 구입하여 사육장 내에서 약 일주일간 순화과정을 거쳤다. 실험 0일째 0.5% DNFB 50 μL 를 복강에 감작 한 후, 일주일 후 1일 간격으로 3회 0.2% DNFB를 마우스의 귀에 처리하여 알러지를 유도하였다. 감 초미세 분말 FA(37, 41, 80)를 50% 아세톤(acetone)에 100 mg/mL의 농도로 추출과정을 거친 후, 원심분리기를 이용하여 상층액을 3회씩 5일간 20 μL 를 각각의 귀에 처리하였다. 마우스 귀를 절취한 다음 10% formalin을 이용하여 고정하였으며, 수세, 탈수, 파라핀 고정 등을 거쳐 약 6~7 μm 의 두께로 절편을 만들었다. Hematoxyline (H), eosin (E)을 이용하여 HE 염색과정을 거쳐 현미경을 이용하여 관찰 하였다(10).

통계처리

각 실험에 이용된 그룹 간 통계처리결과는 엑셀프로그램을 사용하여 SD (standard deviation) 값을 구하여 산정하여 error bar로 산정하였으며, student t-test의 검정에 값으로 $p < 0.05$ 수준의 값을 산정하였다(9).

결과 및 고찰

감은 예로부터 숙취해소, 피부미용, 면역력강화 등에 좋

은 효과를 나타내는 과실로, 특히 청도반시는 탁월한 라디칼 소거 활성능(radical scavenging activity)과 자가면역반응(immune response)을 유도하는 사이토카인 IL-4를 억제하는 것으로 나타난 바 있다(1). 초미세 분쇄법을 적용하여, 물질을 음용할 수 있는 범위까지 아주 작은 미립으로 만들어서 이를 식품가공 및 식품생물산업에 응용하는 것은 기존의 식품을 자연적으로 섭취하여 소장에서 소화/흡수되는 방식과는 다른 차원에서 효용성을 평가할 수 있다. 기존의 미세 방법에 따른 입자의 크기는 섭취시 거친 느낌을 줄 수 있어 심감을 저해하고 섭취에 다소 불편을 느끼는데, 이의 입자를 더 작게 하는 초미세 방법을 이용하며 이를 극복할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 입자의 감소는 각종 유효성분의 추출을 쉽게 할 수 있게 한다(6). 본 연구는 감의 유용 성분이나 효능에 기반하여 이의 활용범위를 높이는 방법으로서 감의 초미세 분말을 제조하여 이의 항산화(anti-oxidant) 활성 및 항알러지(anti-allergic) 활성을 검증해보는 것은 의미 있는 시도라 할 수 있다.

초미세 감 추출물의 항산화 활성

청도반시는 미숙과에서 수확기로 갈수록 과실이 커지면서 항산화 활성은 낮게 나타난다. 이는 감의 유용물질 중의 하나인 탄닌(tannin)에 의한 것으로 보이는데 성숙과로 되면서 탄닌의 양이 감소하는 것으로 알려져 있다 (1). 하지만 감 자체의 항산화 활성은 잘 알려진 바 있어서(11-14), 감 초미세 추출물을 이용하여 항산화 활성 측정법인 DPPH와 FRAP을 이용한 활성 실험을 수행하였다. 감 초미세 분말을 이용한 추출물의 항산화 활성은 추출물의 농도에 따라 증가하는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 1). FA1 추출물의 농도를 1, 3, 10 µl/mL의 농도로 처리한 결과, DPPH 활성이 약 18%, 25%, 70%로 농도에 따라 활성이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. FA2와 FA3 또한 비슷한 결과를 확인할 수 있었으며, mesh의 종류에 따른 활성의 차이는 크게 나타나

지 않는 것을 알 수 있었다.

FRAP을 이용한 실험 또한 농도에 따른 활성 증가를 알 수 있었는데, DPPH 활성과는 달리 mesh에 따른 활성의 차이가 다소 나타나는 것을 알 수 있었다. FA1, FA2, FA3 모두 농도에 따른 활성증가를 나타내었으나, FA2의 경우 다른 2종에 비해 활성이 더욱 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. DPPH 활성과는 달리 mesh가 가장 큰 FA2가 가장 높은 활성을 나타내었는데 이는 입자의 크기가 작을수록 활성이 다소 높게 나타나는 것으로 보이는데, 작은 입자의 경우 상대적으로 큰 입자에 비해 같은 양을 녹일 경우 접촉 면적이 커지게 되고 이에 따른 용해도의 증가로 활성물질이 더욱 쉽게 녹아나오는 것으로 사료된다.

감나무과의 일종인 곶감나무 (*Diospyros lotus* L.) 추출물 내에서는 gallic acid, methylgallate, ellagic acid, kaempferol, quercetin, myricetin, myricetin 3-O-beta-glucuronide, and myricetin-3-O-alpha-rhamnoside 등이 유효성분으로 검출되었으며, DPPH와 FRAP 항산화 활성이 뛰어난 것을 알 수 있었다(11). 또한 감나무(*Diospyros kaki* Thunb.)의 proanthocyanidin 이 항산화 활성을 가지며, 과실에 중요한 성분으로 알려져 있다(12). 본 실험에서 감 초미세 분말의 항산화 활성이 농도에 따른 증가양상을 나타내었으며, 특히 초미세 분말 과정 중 항산화 활성능이 유지되는 것을 알 수 있었다. 본 연구에 사용된 초미세 분말법은 저온을 유지하여 분쇄과정 중에 색깔이나 향기를 최대한 보존하는 효과를 가지고 있는데 항산화 활성이 유지되는 것은 분쇄방법에 따른 효과로 판단되는 바 이에 대한 효과는 다양한 방법을 이용한 연구가 필요하다.

초미세 감 추출물의 IL-4 억제활성

자가면역반응(auto-immune response)은 신체 내 과민반응으로 대표적으로 천식(asthma), 아토피(atopy), 비염(rhinitis) 등이 알려져 있다(15,16). 이에 대한 정확한 메커니

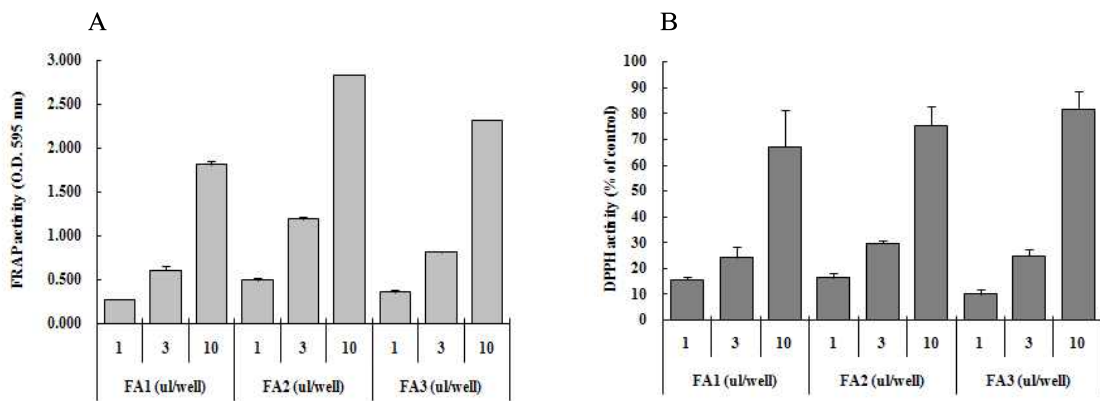


Fig. 1. Radical scavenging activity of persimmon ultra particular power (FA1, 400 mesh; FA2, 600 mesh; FA3, 80 mesh) extracts by DPPH (A) and FRAP (B) assay.

Data are denoted as means + (SD) of triplicate determinations.

증은 알려져 있지 않지만 많은 경우 사이토카인 IL-4, IL-13 및 IgE 등이 관여하는 것으로 알려져 있다. 비장은 면역세포가 성숙하는 곳으로 다량의 면역세포를 얻을 수 있는 부분이다. 감 초미세 추출물이 면역세포의 IL-4의 발현을 억제하는 지를 확인하기 위해 비장세포를 이용하여 IL-4의 발현을 확인하여 보았다. 마우스 비장세포에서의 IL-4의 발현은 무처리군에 비해 Con A를 처리한 군에서 약 1.6배 증가하는 것을 알 수 있었다. 반면, 감 초미세 추출물을 처리한 실험군

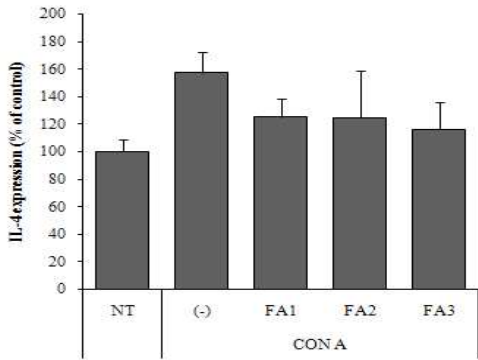


Fig. 2. Inhibition effects of persimmon ultra particular power extracts on mouse spleen cells (NT, no treatment; FA1, 400 mesh; FA2, 600 mesh; FA3, 80 mesh).

Data are denoted as means + (SD) of triplicate determinations.

에서 IL-4의 발현이 감소되는 것을 ELISA를 이용해 알 수 있었다(Fig. 2). 발현량의 감소 정도는 Con A에 의해 증가된 부분의 약50%를 감소하는 것으로 나타났으며, mesh의 종류에 따른 차이는 나타나지 않았다. 감잎 추출물은 아토피 유도 마우스인 NC/Nga 마우스에서 IgE의 발현과 아토피를 억제하는 것으로 알려져 있으며, 이를 이용한 마우스의 혈장에서 IgE가 감소되는 것을 확인할 수 있었다(17,18). 마우스 비장세포를 이용한 실험 결과, 자가면역반응을 유도하는 IL-4의 발현을 감소시킨다는 것을 재확인할 수 있었으며, 이에 추가하여 감의 초미세 분말을 이용하여 이의 추출물이 아토피에 억제 효과가 있는지를 마우스 모델을 이용하여 실험을 하였다.

초미세 감 추출물의 항아토피 활성

감 초미세 분말을 이용한 항아토피 실험 결과는 다음과 같다. 아토피를 유도한 귀의 염증유도 반응을 유도하면 귀의 미세부분이 팽창하며 여러 가지 면역반응으로 인하여, 귀의 형태가 정상 대조군에 비해 매끄럽지 않으며, 손상이 일어나는 것을 알 수 있었다. Mesh별 3개 그룹을 이용한 실험 결과, FA3이 FA1과 FA2에 비해 귀의 손상 정도가 적은 것을 알 수 있었다(Fig. 3). 마우스 아토피 동물모델을 이용한 실험모델에 대한 HE염색 결과 아토피를 유도한 경우 마우스의 귀에 비후(ear thickness)가 일어나 두꺼워지

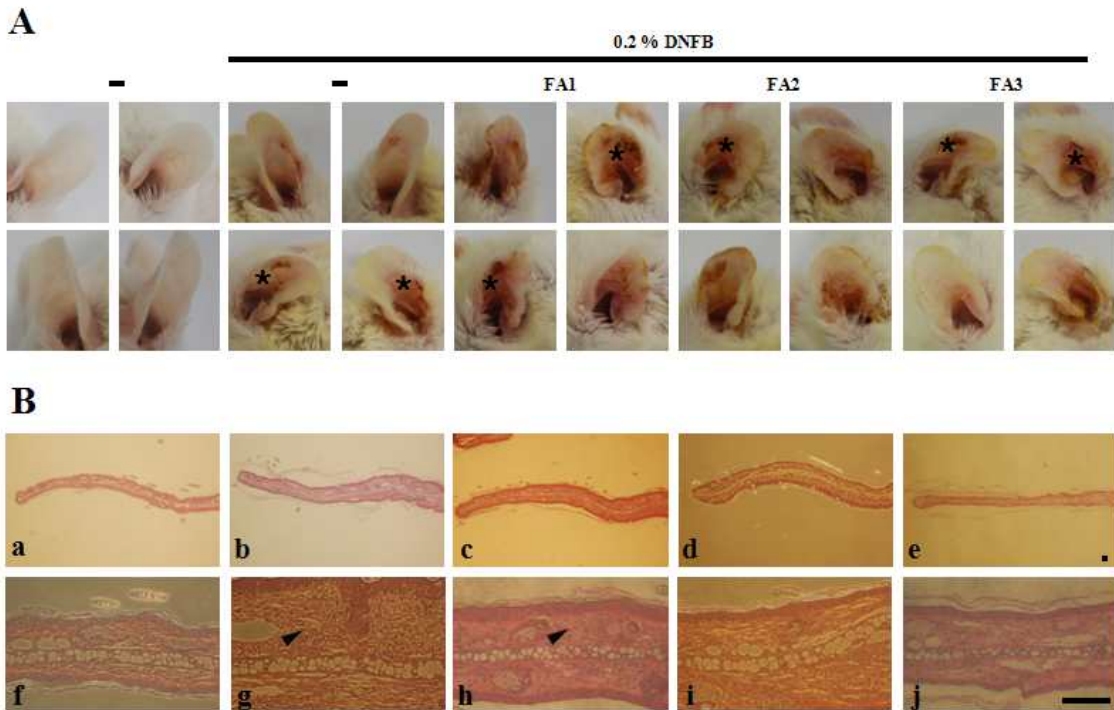


Fig. 3. Persimmon ultra particular power (FA; FA1, 400 mesh; FA2, 600 mesh; FA3, 80 mesh) extracts inhibits the dermatitis in mouse atopic models.

DNFB atopic models were inhibited ear damages (*) by FA extracts (A), and the ear tissues of atopic animals hematoxyline and eosin (HE) stained (B) were showed cell infiltration (arrowhead in g and h). (scale bar = 100 μm)

는 것을 알 수 있었다. 이러한 현상은 근육조직이 느슨해지면서 염증과 관련된 면역세포들의 이동을 자유롭게 하기 위해 일어나는 반응으로 무처리군에 비해 아토피 유도군이 약 1.7배 정도 두꺼워진 것을 알 수 있었으며, 이에 감 초미세 추출물 FA 시료를 처리한 결과 FA3이 다른 두 그룹보다 귀에 비후정도가 약 50% 내외로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 시료별 비후 감소 정도는 mesh에 따라 약간 차이를 보이고 있으나 FA3에서 약간 더 감소하는 경향을 나타내는 것을 알 수 있었다(Fig. 4). FA3은 FA1, FA2에 비해 80 mesh로 가장 큰 입자를 가지고 있다. 반면 FA1과 FA2는 FA3에 비해 더 작은 분쇄과정을 거친 것으로 이 과정에서 활성 물질의 손실이 다소 발생 할 수 있으리라는 가정을 할 수 있다. 하지만 FRAP 활성의 경우 입자가 상대적으로 작은 FA2에서 가장 높은 활성을 나타내었기에 쉽게 정의하기는 힘들 것으로 보인다. 다만 초미세 분쇄과정 중의 활성물질에 대한 소실여부는 앞으로 더 연구가 필요하다고 사료된다. 염증 부위로의 면역세포의 침투를 알아본 결과, 아토피를 유도한 군에서 약 7배 정도 증가하는 것을 알 수 있었다. 반면 감 초미세 추출물을 처리한 경우 면역세포의 침투정도가 50% 이상 크게 감소하는 것을 알 수 있었는데 FA1 > FA2 > FA3의 순으로 나타났다.

감에는 다양한 종류의 생리활성 물질을 가지고 있으며 (11,19), 이는 항산화 활성 뿐 아니라 당뇨 등에도 좋은 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 초미세 분쇄법은 식품의 가공에 있어 음료 및 여러 가지 가공 분야에 적용을 할 수 있는 기술로 본 실험 결과, 감이 가지고 있는 여러 특성을 그대로 보유하면서 감의 기능성에 용해도를 증가시켜 주는 점에서 매우 매력적인 기술이라 판단된다. 이는 새로운 가공식품이나 고부가가치의 소재산업으로 개발하는데 효과적으로 이용되리라 판단된다.

요 약

초미세 분쇄법은 식품의 가공방법 중 하나로 특히 이를 이용하여 응용으로 활용범위를 넓힐 수 있다. 본 연구는 이에 착안하여 감을 이용한 초미세 분말을 이용하여 항산화 활성과 자가면역질환인 아토피에 효과가 있는지를 확인하여 보았다. 감 초미세 분말을 이용하여 DPPH와 FRAP 항산화 활성 실험을 수행 하였으며, 마우스 동물모델을 이용한 항알리지 피부염 동물모델을 이용하여 확인하였다. 항산화 활성 실험 결과 감 초미세 추출물은 농도에 따른 활성 증가를 나타내었다. DNFB (dinitrofluorobenzene)를 이용한 아토피 유도 후 이의 억제 활성은 아토피 유도군에서 염증의 유도와 함께 약 1.7배 정도 귀의 두께가 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한, 감 초미세 추출물 FA 1, 2, 3 추출물을 처리한 결과, FA3이 다른 두 그룹 보다 귀에 비후정도가 감소하는 것으로 나타났다. 또한, 귀의 표피나 진피에서 발견되는 면역관련 세포는 대조군에 비해 아토피를 유도한 군에서 약 7배 정도의 세포수가 증가하는 것을 알 수 있었으며, 감 초미세 분말 추출물을 처리한 경우, 수적으로 감소하는 결과를 얻을 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림기술관리센터의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다 (과제번호: 108027-03-2-WT011).

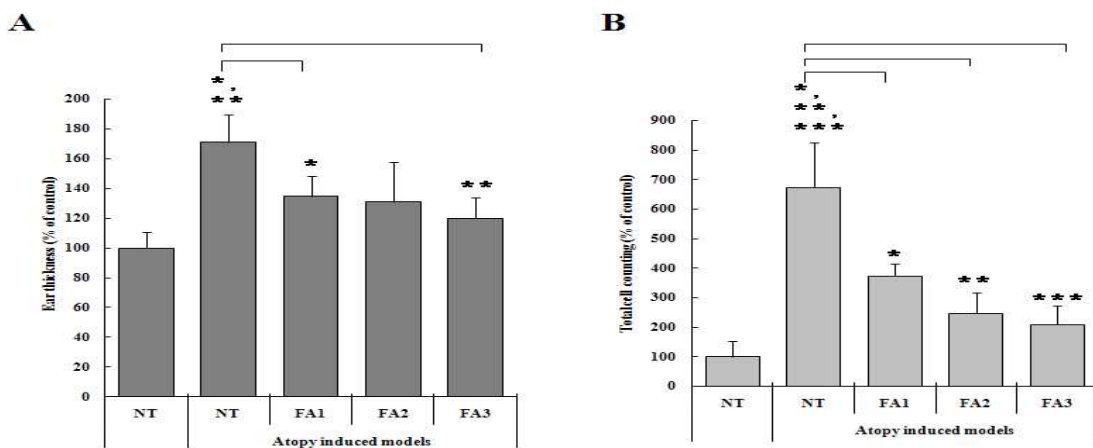


Fig. 4. Inhibition effects of persimmon ultra particular power extracts ear thickness (A) and cell infiltration (B) in DNFB-induced atopic models (NT, no treatment; FA1, 400 mesh; FA2, 600 mesh; FA3, 80 mesh).

*, **, ***P < 0.05 compared with only DNFB-induced group.

참고문헌

1. Heo, J.C., Chae, J.H., Lee, S.H., Lee, Y.R., Moon, K.D., Chung and S.K., Lee, S.H. (2008) Comparison of radical scavenging and immunomodulatory activities exhibited by an aqueous extract of *Diospyros kaki* Thunb. fruit (persimmon). Korean J. Food Preserv. 15, 749-753
2. Bae, S.M., Park, K.J., Shin, D.J., Hwang, Y.I. and Lee, S.C. (2001) Preparation and characterization of jochung with sweet persimmons. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 44, 88-91
3. Bae, S.M., Park, K.J., Kim, J.M., Shin, D.J., Hwang, Y.I. and Lee, S.C. (2002) Preparation and characterization of sweet persimmon wine. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 45, 66-70
4. Kang, W. S. (2004) Application of Nano Technology in Food Industry. Food Engineering Progress, 8(4), 211-223
5. Keck, C. M. (2004) Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs-a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. J. Biotechnol., 113(1-3), 151-170
6. Desai, M. P., Labhassetwar, V., Amidon, G. L. and Levy, R. J. (1996) Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. Pharm. Res., 13, 1838-1845
7. Heo, J.C., Park, J.Y., Hwang, J.S., Park, H.C., Kang, S.W., Hwang, S.J., Yun, C.Y., Kwon, T.K. and Lee, S.H. (2006) Comparison of in vitro antioxidant activity and cyclooxygenase-2 promoter inhibitory activity in *Harmonia axyridis* Pallas and *Coccinella septempunctata* Linne. Korean J. Food Preserv., 13, 513-518
8. Heo, J.C., Park, J.Y., Kwon, T.K., Chung, S.K., Kim, S.U. and Lee, S.H., (2005) Development of high throughput screening techniques using food-borne library against anti-asthma agents. Korean J. Food Preserv., 12, 267-274
9. Heo, J.C., Nam, S.H., Lee, K.G., Yeo, J.H., Yoon, C.S., Park, C.H., Nam, S.H., Son, M.S., Chung, S.K. and Lee, S.H. (2009) Anti-immunomodulating activities in mycelial filtrates and culture broth of *Cordyceps ochraceostromat*. Korean J. Food Preserv., 16, 253-258
10. Yanagisawa, R., Takano, H., Inoue, K., Koike, E., Sadakane, K. and Ichinose, T. (2008) Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring. Environ. Health Perspect., 116, 1136-1141
11. Loizzo, M.R., Said, A., Tundis, R., Hawas, U.W., Rashed, K., Menichini, F., Frega, N.G. and Menichini, F. (2009) Antioxidant and Antiproliferative Activity of *Diospyros lotus* L. extract and isolated compounds. Plant Foods Hum. Nutr., 64, 264 - 270
12. Akagi, T., Ikegami, A., Suzuki, Y., Yoshida, J., Yamada, M., Sato, A. and Yonemori, K. (2009) Expression balances of structural genes in shikimate and flavonoid biosynthesis cause a difference in proanthocyanidin accumulation in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) fruit. Planta, 230, 899-915.
13. Dewanjee, S., Das, A.K., Sahu, R. and Gangopadhyay, M. (2009) Antidiabetic activity of *Diospyros peregrina* fruit: effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. Food Chem. Toxicol., 47, 2679-2685
14. Ikegami, A., Akagi, T., Potter, D., Yamada, M., Sato, A., Yonemori, K., Kitajima, A. and Inoue, K. (2009) Molecular identification of 1-Cys peroxiredoxin and anthocyanidin/flavonol 3-O-galactosyltransferase from proanthocyanidin-rich young fruits of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). Planta, 230, 841-855
15. Kvarnström, M., Jenmalm, M.C. and Ekerfelt, C. (2004) Effect of cryopreservation on expression of Th1 and Th2 cytokines in blood mononuclear cells from patients with different cytokine profiles, analysed with three common assays: an overall decrease of interleukin-4. Cryobiology, 49, 157-168
16. Schneider, S., Bruns, A., Moewes, B., Holzknacht, B., Hausdorf, G., Riemekasten, G., Radbruch, A., Hiepe, F. and Thiel, A. (2002) Simultaneous cytometric analysis of (auto)antigen-reactive T and B cell proliferation. Immunobiology, 206, 484-495
17. Kotani, M., Matsumoto, M., Fujita, A., Higa, S., Wang, W., Suemura, M., Kishimoto, T. and Tanaka, T. (2000) Persimmon leaf extract and astragalol inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. J. Allergy Clin. Immunol., 106, 159-166
18. Matsumoto, M., Kotani, M., Fujita, A., Higa, S., Kishimoto, T., Suemura, M. and Tanaka, T. (2002) Oral administration of persimmon leaf extract ameliorates skin symptoms and transepidermal water loss in atopic dermatitis model mice, NC/Nga. Br. J. Dermatol., 146, 221-227
19. Fukai, S., Tanimoto, S., Maeda, A., Fukuda, H., Okada, Y. and Nomura, M. (2009) Pharmacological activity of compounds extracted from persimmon peel (*Diospyros kaki* THUNB.). J. Oleo. Sci., 58, 213-219

(접수 2009년 11월 4일, 채택 2010년 1월 29일)