

시판 단감 와인농축물의 항산화 활성 및 신경세포 보호효과

서혜경 · 장선영 · 김현정 · 박해룡 · 박중협¹ · 안광환² · 이승철[†]

경남대학교 식품생명학과, ¹(주)맑은내일, ²경남농업기술원 단감연구소

Antioxidant Activity and Neuroprotective Effect of Concentrates from Commercial Sweet Persimmon Wine

Hye-Kyung Seo, Sun-Young Jang, Hyun-Jung Kim, Hae-Ryong Park,
Joong-Hyeop Park¹, Gwang-Hwan Ahn² and Seung-Cheol Lee[†]

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, ¹Malgeunnaeil Co.

²Sweet Persimmon Research Institute, Gyungsangnamdo Agricultural Research & Extension Services

Abstract

The antioxidant activity of commercial sweet persimmon wine concentrate (SPWC) was evaluated by determining the total phenol content (TPC), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, reducing power (RP), and 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activities. TPC in the SPWC was 9.29 ± 0.11 mg gallic acid equivalents (GAE)/g, which corresponds to 31.59 mg GAE/100 mL of the wine. The IC₅₀ for the DPPH radical scavenging activity, RP, and ABTS radical scavenging activity of SPWC were 2.96, 1.44, and 0.48 mg/mL, respectively. The neuroprotective effect of SPWC against glutamate-induced neurotoxicity in N18-RE-105 cells was investigated. Treatment of N18-RE-105 cells with various SPWC concentrations under glutamate resulted in the induction of a protective effect in a dose-dependent manner, as determined by the MTT reduction assay. These results suggest that SPWC exhibits considerable antioxidant and neuroprotective activity.

Key words: sweet persimmon wine, concentrate, antioxidant, neuroprotective effect, MTT assay

I. 서 론

우리나라의 감 재배면적은 2만 8,812 ha(1997년)로서, 사과 다음으로 많은 면적을 차지하고 있다. 감은 크게 단감(*Diospyros kaki*, L)과 떫은 감(*Diospyros kaki*, T)으로 분류되며, 그 중 단감 재배면적은 2만 3,500 ha(1998년)로 주로 남부지역에 분포하며, 특히 경남지역이 전국의 50%를 차지하고 있다. 현재 재배면적이 가장 많은 단감 품종은 부유, 차랑, 서촌조생, 대안단감 순이며 이들 중 부유, 차랑 품종은 단감 전체 면적의 92%를 차지하고 있다. 단감은 떫은 감에 비해 추위에 약하여 따뜻한 남부지방에서 경제적 재배가 이루어지고 있으며, 비타민과 무기질이 풍부하며, 특히 구연산이 풍부하여 피로회복, 감기예방, 치질예방 등의 효과가 있어 생식으로 널리 이용되는 과실이다(Kim IS 등 2008). 특히 비타민 A와 비타민 C

의 함유량이 다른 과실에 비하여 매우 높아 당뇨병이나 고혈압과 같은 성인병에 좋은 것으로 알려져 있다(Kim IS 등 2008). 최근, 단감의 소비 확대를 위해 조청(Bae SM 등 2001), 와인(Bae SM 등 2002), 식초(Hong JH 등 1996, Kim IH 등 1998) 등의 가공품이 개발되어 보고된 바 있다. 경상남도에서는 단감 와인이 단감의 소비에 유용할 것으로 판단하여 단감수출연구사업단과 단감특화작목사업단과 연계하여 산업화를 추진하고 있다.

인간을 비롯한 모든 생물체들은 산소를 이용하여 생명유지에 필요한 에너지를 생성하는 과정에서 유해한 활성 산소를 생성한다(Freeman BA와 Grapo JD 1982). 이 활성산소들은 효소 불활성화, 지질산화, DNA 변성, 세포노화 등을 초래함으로써 암을 비롯한 뇌질환, 심장질환, 동맥경화, 염증, 자가면역질환 등의 심각한 생리적 장애를 일으키는 원인으로 지목되고 있다(McCord JM 1987). 따라서 산화적 스트레스의 직접적인 원인이 되는 활성 산소를 억제하고 각종 질병과 노화로부터 예방하기 위하여 항산화제의 섭취에 대한 관심이 증가하고 있다(Yoo JH 등 2004).

[†]Corresponding author: Seung-Cheol Lee, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University
Tel: 055-249-2684
Fax: 055-999-2171
E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr

본 연구에서는 단감의 이용성 다양화와 부가가치 제고를 위해 부유 품종의 단감으로부터 제조된 시판 단감 와인으로부터 농축물을 제조하여 총 페놀함량, DPPH 라디칼 소거능, 환원력, ABTS 라디칼 소거능 등의 항산화 활성을 조사하였고, glutamate에 의한 신경세포 손상에 대한 단감 와인 농축물의 보호효과를 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 단감 와인은 (주)맑은내일(창원, 한국)에서 2008년에 출고한 시월애 제품이었으며, 부유 품종의 단감을 이용하여 제조한 것이다. 항산화력 측정에 사용된 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), gallic acid, L-ascorbic acid, glutamate, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)는 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 potassium ferricyanide, trichloroacetic acid(TCA), ferric chloride, dimethyl sulfoxide(DMSO) 등 분석에 사용된 시약 및 용매는 모두 일급 이상의 등급을 사용하였으며, 세포주 배양을 위해 필요한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fatal bovine serum(FBS), horse serum(HS) 및 HAT(hypoxanthine, aminopterine and thymidine) supplement 등은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였다.

2. 단감 와인 농축물 제조

단감 와인을 회전진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C에서 감압 농축하였다. 농축물은 desiccator를 이용하여 3일간 더 건조한 후, 50 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 4°C에서 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 분석에 사용하였다.

3. 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger(1981)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 단감 와인 농축물(1 mg/mL) 1 mL를 취하여 2% Na₂CO₃용액 1 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 첨가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400 × g에서 원심분리한 후, 상정액 1 mL를 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25 μM을 이용하여 작성한 표준곡선으로 μM gallic acid equivalents(GAE) 단위로 나타내었다.

4. DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등(2004)의 방법에 준하

여 시료(50, 100, 500, 1,000 μg/mL) 0.1 mL에 4.1×10⁻⁵ M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 ascorbic acid 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 μg/mL을 같은 방법으로 처리하여 분석하였다. 각 시료와 양성대조군의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 전자 공여능으로 계산하여 IC₅₀값으로 나타내었다. IC₅₀값은 첨가한 DPPH 라디칼의 50%를 소거하는 추출물의 농도를 의미한다.

$$\text{전자 공여능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

5. 환원력

환원력은 Meir 등(1995)의 방법에 따라 측정하였으며, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정한 것이다. 즉, 1 mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 단감 와인 농축물(50, 100, 500, 1,000 μg/mL)과 1% potassium ferricyanide 용액 1 mL을 가하고 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응을 시킨 후, 10% trichloroacetic acid 용액 1 mL을 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 12,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 상정액 1 mL과 중류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군 ascorbic acid도 같은 방법으로 처리하여 700 nm에서 분석하였다.

6. ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 Muller(1985)의 방법에 따라 측정하였다. 농도가 다른 시료 (50, 100, 500, 1,000 μg/mL) 0.1 mL에 0.1 M의 Phosphate buffer(pH 5.0) 0.1 mL과 10 mM의 hydrogen peroxide 20 μL을 가하고 이 혼합물을 37°C에서 5분간 예비반응을 시켰다. 이 반응물에 1.25 mM의 ABTS와 peroxidase(1 U/mL)를 0.03 mL씩 넣고 다시 37°C에서 10분간 반응을 시킨 후, 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한, 양성대조군 ascorbic acid를 같은 방법으로 처리하여 분석하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

7. 세포주 및 배양

본 실험에 사용된 세포주는 hybridoma N18-RE-105 cell로써 한국생명공학연구원(대전)에서 분양받아 사용하였다. 사용된 배지는 DMEM medium에 10% FBS, 5% HS 및 HAT supplement를 첨가하여 사용하였고, 95%의 습도가 유지되는 37°C, 5% CO₂ incubator(MCO-18AIC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 배양하였다.

8. MTT reduction assay

단감 와인 농축물의 신경세포 보호효과를 측정하기 위하여 MTT reduction assay를 실시하였다. 세포주를 5×10^4 cells/mL 맞추고 96 well plate에 각각 100 μL 씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후, DMSO에 녹인 단감 와인 농축물을 농도별 (10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 처리하였다. 그리고 30분 동안 배양한 후 20 mM의 glutamate를 처리하여 24시간 배양하고 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT(5 mg/mL) 용액을 10 μL 씩 첨가하여 MTT의 최종농도가 50 μg 되도록 처리하여 1시간 동안 다시 배양하였다. 반응 후 well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상징액을 제거하고 DMSO 100 μL 첨가하여 녹이고 ELISA reader(Model 680, BioRad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구 세포수를 100%로 하였을 때 상대적인 세포성장 억제율(%)을 구하였다.

9. 통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성($P<0.05$)을 검정하였다(SAS, 1993).

III. 결과 및 고찰

1. 총 페놀 함량

단감 와인을 농축한 결과, 3.4%의 수율로 농축물을 얻을 수 있었다. Gallic acid를 표준물질로 하여 검정곡선을 작성한 후, 농축물의 총 페놀 함량을 정량한 결과 9.29±0.11 mg/g의 값을 구하였다. 단감 와인으로부터의 수율을 고려하면 단감 와인 100 mL에는 평균 31.59 mg의 페놀이 함유되어 있음을 알 수 있었다. 단감에는 tannin,

catechin류 등과 같은 기능성 phenolics가 다량 함유되어 있다(Achiwa 등 1997). 이러한 페놀성 화합물은 식물의 2차 대사산물의 주요 물질로서, 수산기를 가지는 방향족 화합물을 충칭하며, phenolic hydroxyl기는 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 및 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다(Lee SO 등 2005). 국내 논문에서는 단감 또는 떫은 감을 가공하여 제조한 와인과 식초의 페놀 함량에 대한 정보를 수집할 수 없었으며, Sakanaka 등(2008)이 보고한 연구에서 Saijo 품종(떫은 감)으로 제조한 감식초의 총 페놀 함량은 79.9±11.3 mg GAE/100 mL로 본 단감 와인에 비하여 약 2.52배 높게 나타내었다. 이는 감 품종 간의 페놀 함량의 차이, 그리고 제조 시 감의 비율, 제조 공정 등에 대한 차이에 기인하며, Suzuki 등(2005)은 떫은 감은 단감보다 페놀 함량이 4~6배 높다고 보고하였다. 한편, 국내에서 시판되는 국내 외 포도주 17종의 폴리페놀 함량을 조사한 결과 25.0~230.0 mg GAE/100 mL이 검출되었다고 보고되어 본 연구의 단감 와인과 비교되었다(Choi Y 등 2006).

2. DPPH 라디칼 소거능

단감 와인 농축물의 항산화력을 측정하기 위해 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)로 계산하여 Table 1에 나타내었으며, 양성대조군으로 L-ascorbic acid를 사용하였다. 단감 와인 농축물에 대한 DPPH radical 소거효과에 의한 항산화 활성을 측정한 결과, 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 17.69%로 가장 높은 활성을 보였다. 또 활성이 낮지만, 농도가 증가할수록 높은 활성을 나타내는 것도 알 수 있었다. IC₅₀값으로 비교해보면, 2958.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 L-ascorbic acid보다 약 100배 낮은 활성을 보였다. Sakanaka 등(2008)이 보고한 연구에서 떫은 감 식초의 DPPH 라디칼 소거능이 84.2±1.2%였다고 보고하였으며, Katsume 등(2004)은 같은 농도에서 떫은 감의 70%

Table 1. DPPH radical scavenging activity (RSA), Reducing power (RP), and ABTS RSA of sweet persimmon wine concentrate (SPWC)

| SPWC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | DPPH RSA (%) | RP (OD ¹⁾) | ABTS RSA (%) |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| 50 | 1.97±0.44 ^a | 0.086±0.002 ^a | 13.57±0.40 ^a |
| 100 | 3.62±0.20 ^b | 0.103±0.004 ^b | 19.15±1.48 ^b |
| 500 | 10.70±0.27 ^c | 0.241±0.003 ^c | 51.27±0.09 ^c |
| 1000 | 17.69±0.77 ^d | 0.412±0.006 ^d | 81.64±1.37 ^d |
| IC ₅₀ ²⁾ | 2958.78±97.99 | 1436.676±14.291 ³⁾ | 484.21±3.01 |
| Vitamin C (IC ₅₀) | 27.96±0.10 | 32.333±0.075 | 42.90±1.33 |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication.

¹⁾ OD means optical density.

²⁾ IC₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) : Concentration for scavenging 50% of radicals.

³⁾ IC₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) : Concentration for scavenging 0.500 value in OD.

^{a-d} Different letters within a column are significantly different ($p<0.05$), n=3.

에탄올 추출물의 항산화 활성이 단감의 것보다 40배 이상 높다고 보고하였다. 전자공여능은 Lee 등(2002)이 보고한 연구의 0.1% 눈꽃동충하초 민속주 11.2% 보다 높았지만 1% 민들레 민속주 84.9%(Kim JH 등 2000)와 15% 아카시아꽃 전통주 23.4%(Seo SB 등 2002) 보다는 낮았다.

3. 환원력

단감 와인 농축물의 환원력을 반응 용액의 흡광도 수치가 0.500이 되는 농도(IC_{50})로 Table 2에 나타내었다. 단감 와인의 IC_{50} 값은 1436.67 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, 양성대조군인 L-ascorbic acid의 IC_{50} 값은 32.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 측정되었다. IC_{50} 값으로 환원력을 비교하면 ascorbic acid에 비해 약 44배 정도 낮은 활성을 나타내었다. 환원력은 항산화 성분의 수소공여능에 의한 것이므로 단감 와인 농축물에는 전자 또는 수소원자를 공여하여 유리 라디칼을 안정화시키는 항산화물질이 존재함을 의미한다. 한편, Choi 등(2006)은 시판 포도주 와인의 환원력이 0.353~0.977의 범위에 있다고 보고하였으나, 본 연구에서는 단감 와인의 농축물을 이용하였으므로 직접 비교하기는 어려웠다.

4. ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼은 유리기들(hydroxyl, peroxy, alkoxy, inorganic radical)과 반응하여 안정한 ABTS⁺를 형성한다(Lee SO 등 2005). 단감 와인 농축물에 대한 ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 Table 3과 같이, 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하였다. IC_{50} 값은 484.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 L-ascorbic acid(42.90 $\mu\text{g}/\text{mL}$)보다 약 10배 낮은 활성을 보였다. ABTS 라디칼 소거능 측정법은 카로테

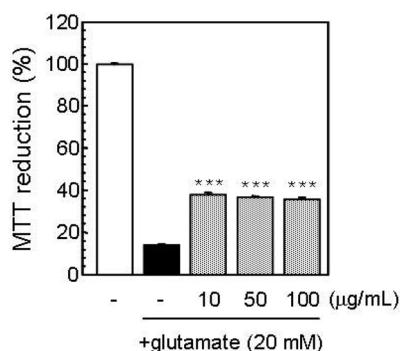


Fig. 1. Sweet persimmon wine concentrate (SPWC) protected N18-RE-105 cells from glutamate-induced cytotoxicity. The cells pretreated for 30 min with various concentrations (10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) of SPWC. The cells were then treated with 20 mM of glutamate for 24 h. After MTT assay, the MTT reduction rate (mean \pm SD of triplicate determination) were calculated by setting each of control survival rate. ***significant vs. glutamate-treated control group ($p<0.001$).

노이드 및 소수성 화합물 등의 지용성 항산화물질의 측정에 적합하다고 보고되어 있다(Pellegrini 등 1999). 본 실험에 이용한 시료는 β -카로틴이 많이 함유되어 있는 단감으로부터 제조된 와인의 농축물이므로 DPPH 라디칼 소거능과 비교하였을 때 높은 활성이 측정되었다.

이상의 항산화능 분석 결과에서 단감 와인 농축물은 분석 방법에 따라 대조구인 L-ascorbic acid에 비해 10배에서 100배까지 낮은 항산화 활성을 나타내었다. 단감에는 L-ascorbic acid, β -carotene, tannin 등의 폴리페놀 화합물이 다량 함유되어 있지만 제조 과정에서 단감의 첨가 비율과 제조 공정에 따라 단감 와인에서의 함량의 차이가 있으며, 또한 조추출물이기 때문에 순수한 단일 천연 항산화물질인 L-ascorbic acid에 비해 낮게 검출된 것으로 생각된다.

5. 단감와인의 신경세포 보호효과

현대사회의 눈부신 발달과 더불어 생체조직의 노화를 비롯한 퇴행성 신경질환이 사회적 문제로까지 크게 대두되고 있으며, glutamate와 같은 산화적 스트레스가 중추신경계의 퇴행성 뇌 질환의 중요한 요인으로 밝혀졌다. 본 연구에서는 단감 와인의 항산화활성 기전 연구를 위하여 뇌신경계 세포주 hybridoma N18-RE-105를 이용하여 glutamate로 유도된 세포독성으로부터 신경세포를 보호하는 활성이 있는지를 확인하기 위하여 MTT reduction assay를 실시하였다. 단감 와인 농축물을 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 N18-RE-105 세포주에 처리하여 glutamate에 의해 유도된 스트레스 상태에서 신경세포 보호효과를 확인하였다(Fig. 1). Glutamate를 단독으로 처리한 세포주는 15%의 세포생존율을 보여 glutamate에 의한 신경세포주의 강력한 세포독성을 확인할 수 있었다. 그러나 단감 와인 농축물과 glutamate를 같이 처리한 세포주는 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 37%의 세포생존율을 나타내었으며, 그 이상의 농도에서도 일정한 신경세포 보호효과를 나타내어 농도 의존적으로 활성이 증가하지 않았다. 이 결과는 단감 와인 농축물이 glutamate와 결합하여 무해화하거나 신경세포에 직접 작용하여 glutamate에 의한 스트레스를 보호하는 두 가지 가능성으로 생각할 수 있다. 농도 의존적이지 않는 것은 천연추출물에서 흔히 있는 현상이며(Yoon MY 등 2007) 단감 와인 농축물의 최대 활성은 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 생각된다. 이상의 결과로부터 glutamate가 유도하는 세포독성으로부터 신경세포를 보호하고 있다는 것을 확인할 수 있었다.

IV. 요약

단감 와인을 농축한 후, 농도별로 녹여 추출물을 얻었다. 이 추출물을 이용하여 단감 와인의 항산화 활성을

조사하였다. 단감 와인의 총 폐놀 함량(TPC)을 조사한 결과 9.29 ± 0.11 mg/g의 폐놀을 함유하였다. DPPH 라디칼 소거능과 환원력 그리고 ABTS 라디칼 소거능은 농도의 준적으로 활성을 보였으며, IC_{50} 값이 각각 2.959 mg/mL, 1.437 mg/mL 그리고 0.484 mg/mL으로 L-ascorbic acid 보다 낮은 활성을 보였다. 그리고, 단감 와인 농축물은 10 μ g/mL의 농도에서 무처리구에 비해 glutamate 독성으로부터 뇌신경계 세포주 hybridoma N18-RE-105세포를 22% 이상 보호하는 효과를 나타내었다.

V. 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 단감 수출연구사업단의 지원에 의해 이루어졌습니다.

참고문헌

- Achiwa Y, Hibashi H, Katsuzaki H, Iami K, Komiya T. 1997. Inhibitory effects of persimmon (*Diospyros kaki*) extract and related polyphenol compounds on growth of human lymphoid leukemicells. Bio sci Biotechnol Biochem 61(7):1099-1101
- Bae SM, Park KJ, Kim JM, Shin DJ, hwang YI, Lee SC. 2002. Preparation and characterization of sweet persimmon wine. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 45(2):66-70
- Bae SM, Park KJ, Shin DJ, Hwang YI, Lee SC. 2001. Preparation and characterization of *jochung* with sweet persimmons. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol 44(2):88-91
- Choi Y, Yu KW, Han NS, Koh JH, Lee JS. 2006. Antioxidant activities and antioxidant compounds of commercial red wines. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(9):1286-1290
- Freeman BA, Grapo JD. 1982. Biology of disease; free radicals and tissue injury. Lab Invest 47(5):412-426
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. J Am oil Chem Soc 58(11):966-968
- Hong JH, Lee GM, Hur SH. 1996. Production of vinegar using deteriorated deastringent persimmon during low temperature storage. J Korean Soc Food Nutr 25(1):123-128
- Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of extracts from Citrus unshiu peels. J Korean Soc Food Sci Nutr 33(9):1580-1583
- Katsube T, Tabata H, Ohta Y, Yamasaki Y, Anuurad E, Shiwaku K, Yamane Y. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. J Agric Food Chem 52(8):2391-2396
- Kim IH, Ahn KH, Ro CW, Seo KK, Shin WK. 1998. Improvement of fermentation process of fruit vinegar using sweet persimmon. RDA J Hort Sci 40(1):24-28
- Kim IS, Jin SK, Ha CJ. 2008. Effects of sweet persimmon powder type on quality properties of low salted pork patties during cold storage. J Anim Sci Technol 50(1):133-144
- Kim JH, Lee SH, Kim NM, Choi SY, Yoo JY, Lee JS. 2000. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using dandelion (*Taraxacum platycarpum*). Kor J Appl Microbiol Biotechnol 28(6):367-371
- Lee DH, Kim JH, Kim NM, Pack JS, Lee JS. 2002. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using *Paecilomyces japonica*. Korean Soc Mycol 30(2):142-146
- Lee SO, Kim MJ, Kim DG, Choi HJ. 2005. Antioxidative activities of temperature-stepwise water extracts from *Inonotus obliquus*. J Korean Soc Food Sci Nutr 34(2):139-147
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Korean J Food Sci Technol 37(2):233-240
- McCord JM. 1987. Oxygen-derived radicals; a link between reperfusion injury and inflammation. Fed Proc 46(7):2402-2406
- Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. J Agric Food Chem 43(7):1813-1819
- Muller HE. 1985. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg 259(2):151-158
- Pellegrini N, Re R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Method Enzymol 299:379-389
- Sakanaka S, Ishihara Y. 2008. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. Food Chem 107(2):739-744
- SAS Institute, Inc. 1993. SAS user's guide. statistical analysis system institute, 6th ed. Cary NC USA
- Seo SB, Kim JH, Kim NM, Choi SY, Lee JS. 2002. Effect of acasia (*Robinia pseudo-acacia*) flower on the physiological functionality of Korean traditional rice wine. Kor J Microbiol Biotechnol 30(4):410-414
- Suzuki T, Someya S, Hu F, Tanokura M. 2005. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). Food Chem 93(1):149-152
- Yoon MY, Lee BB, Kim JY, Kim Y, Park E, Lee SC, Park HR. 2007. Antioxidant activity and neuroprotective effect of *Psoralea corylifolia* Linne extracts. Kor J Pharmacogn 38(1):84-89
- Yoo JH, Cha JY, Jeong YK, Chung KT, Cho YS. 2004. Antioxidative effects of pine (*Pinus densiflora*) needle extracts. J Life Sci 14(5):863-867