

국내산 녹차 및 후발효차 추출물의 항산화 효과

손미예 · 김성희 · 남상해¹ · 박석규² · 성낙주^{*}

경상대학교 식품영양학과 농업생명과학연구소, ¹진주산업대학교 식품과학과, ²순천대학교 식품영양학과

Received November 1, 2004 / Accepted November 12, 2004

Antioxidant Activity of Korean Green and Fermented Tea Extracts. Mi-Yae Shon, Sung-Hee Kim, Sang-Hae Nam¹, Seok-Kyu Park² and Nak-Ju Sung^{*}. Dept. of Food and Nutrition, Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea, ¹Dept. of Food Science, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea, ²Dept. of Food and Nutrition, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea - The beneficial effects of green and fermented tea are generally attributed to some antioxidant activities including superoxide dismutase (SOD)-like ability and scavenging activity originated from their phenolic compounds and flavonoids. Content of total flavonoid of green tea (413.3 $\mu\text{g}/\text{g}$) was similar to those of fermented tea (405.7 $\mu\text{g}/\text{g}$). Content of total phenol of green tea (46.8 $\mu\text{g}/\text{g}$) was higher than those of fermented tea (23.5 $\mu\text{g}/\text{g}$). Major catechin compounds of hot water extract in green tea was EGCG, including EGC, GC, catechin and catechol. EGCG was not detected in fermented tea. SOD-like ability was increased in proportional to added concentration of hot water extract. The scavenging activities of hydroxyl radical at 3000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of green and fermented teas were found up to 60%. Hot water extract of green tea was more effective in scavenging activity than that of fermented tea.

Key words – Antioxidant activity, phenolic compounds and flavonoids, green and fermented tea, catechin

우리나라에서 제조되는 차의 대부분은 비 발효차인 녹차이며 미생물이 관여하는 후 발효차는 사찰을 중심으로 일부 제조되고 있으며, 이들의 상품화는 녹차에 비하여 미미한 실정이다. 수입개방에 대비한 차 산업의 발전과 더불어 차 품종의 개량, 다양한 제품개발 그리고 차를 이용한 고부가가치 상품의 개발을 위하여 다양한 국산차의 개발이 시급하다. 그리고 차는 제조방법에 따라 녹차, 반발효차, 발효차, 후발효차로 구분되는데, 가장 중요한 것은 제조할 때 발효방법과 발효 강도에 따라 차의 성분, 색, 향기, 맛 및 약리 작용 등이 변화하게 되므로 그에 따른 다양한 국산 차류의 품질평가 및 새로운 생리활성 물질과 그 활성에 관한 활발한 검색이 필요하다.

녹차는 flavanol, flavanone, flavonoid, phenolic acid를 포함한 polyphenol류를 함유하고 있어 강한 항산화력을 나타낸다. 이러한 물질들은 차 진조종량의 약 30%를 차지하며, 대부분 녹차의 polyphenol류는 catechin으로 알려진 flavanol 류이다[18-20]. Polyphenol 성 화합물인 catechin은 혈압저하 및 혈중 콜레스테롤 저하, 중금속류 제거작용[12], 항균[22], 총치억제[23], 항암, 중추 신경계 활성화[9], 항돌연변이 및 항알레르기 등의 약리작용이 있는 것으로 보고되어 있으며[24]. 특히 항산화 작용[4] 및 혈소판 응집[16]의 억제 등에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 또한 차 잎에서 유래되는 항산화성분들이 생체 내에서 DNA에 손상을 주어 발암 및

돌연변이 등의 세포 기능장해를 유발하며, 동맥경화 및 노화 등에도 관여하는 활성산소 생성을 억제한다는 보고가 있다 [2]. 또한 가열 공정에서 식품성분 변화에 관한 연구로는 녹차의 아미노산-당화합물의 변화, epigallocatechin-3-O-gallate의 변화, 녹차의 가열 중 향기성분 변화, 반발효차인 홍차의 향기 성분, 차의 정유성분에 관한 연구 등이 있다[1,10,27,28].

우리나라의 차에 관한 연구는 녹차에 대한 연구가 대부분이며, 대엽종으로 제조되는 후발효차에 대한 연구는 거의 없는 실정이며, 주로 수입된 발효차의 일부 연구가 있을 뿐이다. 따라서 본 연구에서는 항산화 효과가 있는 녹차와 미생물 효소에 의하여 제조되는 후발효차 추출물 중에 존재하는 총 flavonoid, 총 phenol 및 catechin 함량을 조사하였고, superoxide dismutase (SOD) 유사활성, 하이드록시 라디칼 소거능과 β -carotene-linoleate system을 이용한 항산화 효과와 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정하여 항산화력과 자유라디칼 소거작용을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 녹차는 볶음차이며, 후발효차는 자연 유래의 미생물 발효차로서 경남 사천시 곤명면 영봉다원에서 생산되는 친환경 유기농 차엽(6월 초순)으로 제조되는 수제품으로 차광성과 밀폐성이 강한 필름에 포장되어 1년간 실온에서 저장된 실험용 시료를 각각 사용하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-55-751-5975, Fax : +82-55-751-5974
E-mail : snakju@gsnu.ac.kr

시료제조

상기 녹차(100g)와 후발효차(100g)에 각각 20배의 증류수를 가하여 60°C에서 8시간 환류냉각하여 3회 추출 한 후 여과하였으며, 이것을 회전증발기에서 농축하였다. 농축물은 다시 동결건조한 후 포장하여 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다. 이후의 분석결과는 각 시료 당 3회 반복 실시하여 평균값으로 나타내었다.

시약 및 기기

본 실험에 사용한 주요 시약으로 (+)-catechin, (-)-allocatechin gallate, (-)-galloallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate, catechol, quercetin, caffeic acid, L-ascorbic acid, pyrogallol, butylated hydroxytoluene, potassium ferricyanide, 2-thiobarbituric acid, β-carotene 등은 Sigma사(USA)제품을 이용하였으며, 용매 및 기타 시약은 특급 또는 1급을 사용하였다.

총 플라보노이드 측정

총 플라보노이드의 정량은 Davis 변법[11]을 이용하였으며, 녹차와 후발효차 추출물의 분말 0.01 g에 증류수 60ml를 가한 후 90°C에서 30분간 추출한 다음, 다시 여과하여 100 ml로 정용하였다. 그리고 여과액을 일정량 취하여 시험관에 옮긴 후 90% diethylene glycol과 1N NaOH 0.75 ml를 혼합하여 420 nM에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선은 quercetin (Sigma Co., USA)의 농도를 0~0.5 mg 범위가 되도록 제조하였으며, 검량선으로부터 시료 추출물의 플라보노이드 함량을 계산하였다.

총 페놀 측정

총 페놀의 정량은 Folin-Denis방법[7]에 따라 시험관에 시료 0.01 g에 Folin-Denis 시약 5 ml를 넣어 혼합한 후, 증류수로 100 ml 정용한 다음 실온에서 30분간 방치하여 760 nM에서 흡광도를 측정하였다. 이때 quercetin (Sigma Co., USA)의 농도를 0~0.5 mg 범위가 되도록 제조하여 검량선으로부터 시료 추출물의 페놀 함량을 계산하였다.

Catechin 분석

Catechin 분석은 Wang 등[26]의 방법에 준하여 HPLC로 분석하였다. 즉, 시료 0.05 g을 각각 시험관에 넣고 1분 동안 sonication 시킨 증류수를 30 ml 가하여 혼합시킨 다음 10분 간 원심분리한 후 상정액을 취하였다. 이 상정액에 증류수를 가하여 50 ml로 정용하였다. 그리고 Sep-pak C₁₈ cartridge에 통과시켜 HPLC로 분석하였다. 용매는 1% phosphoric acid로 25% tetrahydrofuran (THF)을 분당 1 ml로 용출하였으며 UV detector로 210 nM에서 측정하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색원리를 이용한 Marklund와 Marklund[16]의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료 0.2 ml에 pH 8.5로 보정한 tris HCl buffer 3 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하고 25°C에서 정확히 10분간 방치한 후 1 N HCl 1 ml를 가하여 반응을 정지시켜 산화된 pyrogallol의 흡광도를 420 nM에서 측정하여, 100 - [(시료첨가구의 흡광도 / 무첨가구의 흡광도) × 100]으로 나타내었다.

Hydroxyl radical 소거 효과 측정

Hydroxyl radical (OH[·]) 소거 효과의 측정은 Halliwell과 Gutteridge 등[8]의 방법에 따라 ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (EDTA)가 포함된 Fenton 반응계에서 분석하였다. 1 mM FeCl₃, 1 mM EDTA, 20 mM H₂O₂, 1 mM ascorbic acid, 30 mM 2-deoxy-2-ribose를 28 mM KH₂PO₄ - K₂HPO₄ buffer (pH 7.4)에 녹인 후 각각 0.3 ml씩 첨가하여 37°C에서 반응시킨 후 60분간 incubation시켰다. 다시 thiobarbituric acid (TBA)와 trichloroacetic acid (TCA)를 첨가하여 끓는 물에서 20분간 반응한 다음 신속하게 냉각시켜 532 nM에서 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였으며 대조구는 butylated hydroxyanisole (BHA)를 사용하였다.

β-Carotene-linoleate system을 이용한 항산화 효과 측정

시료의 항산화력은 β-carotene-linoleate model system으로 측정하였다[6]. 즉 chloroform과 β-carotene용액에 linoleic acid 0.375 ml과 tween 40을 첨가한 후 40°C의 회전증발기에서 chloroform을 제거하였다. 잔류 emulsion에 3차 증류수 750 ml를 첨가하여 강하게 진탕한 다음 용기에 넣어 둔다. 시험관에 emulsion용액 2.5 ml에 추출물 0.3 ml에 동일한 것을 두 개 만들어 하나는 그대로 사용하고, 다른 하나는 55°C에서 105분 동안 암실에서 incubation시킨 다음 492 nM에서 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Japan)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 대조구는 L-ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{Antioxidant activity effect (\%)} = \frac{\text{Sample}_{100} - \text{Blank}_{105}}{\text{Blank}_0 - \text{Blank}_{105}} \times 100$$

결과 및 고찰

총 플라보노이드 함량과 총 페놀 함량

플라보노이드의 생리활성 작용으로 가장 주목받는 것 중의 하나는 항산화 작용이다. 플라보노이드는 유리기에 수소원자를 공여하여 생체내에서 산화 스트레스에 의해서 과잉으로 생성된 활성 산소 등의 자유 라디칼의 생성을 억제시킴으로써

항산화 작용을 발휘하게 된다[22]. 그러나 플라보노이드가 고농도로 존재할 경우 pH가 알칼리성이고, 또 철분이 존재할 때는 역으로 활성산소의 공여체로서 작용하기 때문에 일정농도 이상의 과잉섭취는 오히려 인체에 해를 초래하게 된다[3].

녹차와 후발효차의 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 1년 저장한 녹차의 열수추출물은 345.1 $\mu\text{g/g}$ 으로 가장 낮은 함량을 보였다. Kim 등과 정[13]의 보고에 의하면 녹차 열수추출물은 35.5 mg/g, ethanol 추출물은 31.3 mg/g으로 추출용매에 따라 추출되는 플라보노이드의 비율이 차이가 나타남을 알 수 있다.

페놀성 물질은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 갖는데, 특히 이 중 phenolic hydroxyl기가 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질이 강하여 항산화 등과 같은 생리활성 기능을 나타내게 된다[11]. 총 페놀 함량은 녹차 35.7~46.8 g/100 g에 비하여 발효차의 열수추출물은 23.5~23.9 g/100 g으로 낮았다. 또한 Chung [5]은 *Camellia sinensis*에서 10.3% 검출되었고, Yeo 등 [25]은 녹차의 수용성 획분은 1.7 mg/100 g, 메탄올 가용성 획분은 2.3 mg/100 g, 홍차의 수용성 획분은 0.9 mg/100 g, 메탄올 가용성 획분은 0.7 mg/100 g이라는 보고가 있다. 또한 1년 저장한 녹차와 발효차의 페놀과 플라보노이드의 함량이 감소되는 결과는 저장기간 동안 동정되지 않은 다른 물질로 변환되었을 것이라 판단된다.

Catechin 함량

Catechin은 epicatechin과 함께 마호가니 나무로부터 최초로 확인된 물질로써, 몇 가지 주요한 catechin으로는 (-)-epigallo-catechin 3-O-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin 3-O-gallate (ECG), (-)-epicatechin (EC), (+)-gallicatechin (GC), (+)-catechin (C) 등이 있다. 녹차와 후발효차 추출물의 catechin 함량은 Table 2와 같다. 녹차 추출물에서는 EGC, GC, catechin, catechol 및 EGCG로 총 5종이 검출 정량되었다. EGC는 열수추출물(29.4 mg/g) > 1년간 저장한 열수추출물(22.0 mg/g)의 순으로 그 함량이 높았다. 생리활성이 가장 많은 EGCG는 열수추출물(40.4 mg/g) > 1년간 저장한 열수추출물(36.7 mg/g)의 순이었다. 총 함량을 보면, 열수추출물(16.3 mg/g) > 1년간 저장한 열수추출물(14.2 mg/g) 순으로 많았고, 녹차추출물에서는 catechin 양이 감소함을 알 수 있었다.

후발효차 추출물은 녹차추출물과 같이 EGC, GC, catechin, catechol 및 EGCG가 검출 동정되었다. 녹차 추출물과 비교하면 GC와 catechin 양은 증가하였으나 EGC, catechol 및 EGCG의 양이 감소함을 알 수 있었다. 특히 EGCG는 열수추출물에서는 검출되지 않았으며, 총 함량은 열수추출물(140.6 mg/g) > 1년간 저장한 열수추출물(127.0 mg/g) 순으로 검출되었다.

Table 1. Total flavonoid contents of hot water extracts in green and fermented tea

Teas	Total flavonoid ($\mu\text{g/g}$)	Total phenol (g/100g)
Green tea	413.3a	46.8
Green tea stored for 1 year	345.1	35.7
Fermented tea	405.7	23.5
Fermented tea stored for 1 year	432.2	23.9

^aEach sample was analyzed in independently triplicate experiments.

Table 2. Catechin contents of hot water extracts in green tea and fermented tea (mg/g, dry base)

Catechins	Green tea	Green tea stored for 1 year	Fermented tea	Fermented tea stored for 1 year
EGC	29.4	22.0	32.3	22.5
GC	51.0	45.1	41.0	68.5
Catechin	28.9	27.3	40.5	26.3
Catecol	13.5	10.4	26.9	9.8
EGCG	40.4	36.7	NDa	ND
Total	163.2	141.5	140.7	127.1

^aNot detected

Na 등[17]의 보고에 의하면, 녹차 잎의 catechin 함량은 (+)EGC가 26.0 mg/g, (+)catechin이 1.6 mg/g, (-)EC가 7.6 mg/g, (-)ECG가 22.3 mg/g 그리고 EGCG가 78.7 mg/g으로 총 함량이 136.2 mg/g이고, 발효된 black tea bag의 catechin 함량은 (+)EGC가 6.9 mg/g, (+)catechin이 0.16 mg/g, (-)EC가 0.9 mg/g, (-)ECG가 35.7 mg/g 그리고 EGCG가 7.3 mg/g으로 총 함량이 51.1 mg/g였다.

SOD 유사 활성

자연에 존재하는 항산화 효소 중의 하나인 superoxide dismutase (SOD)는 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응($2\text{O}_2^{+} + 2\text{H}^{+} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다. 이러한 SOD는 아니지만 superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 물질의 SOD 유사활성능을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다.

녹차 추출물의 농도를 높일수록 활성이 계속 증가하여, 추출물의 농도가 100 $\mu\text{g/ml}$ 일 때는 대조구인 L-ascorbic acid와 녹차 추출물의 효과가 비슷하였다. 그러나 농도를 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 높인 결과 L-ascorbic acid는 60%, 녹차 추출물은

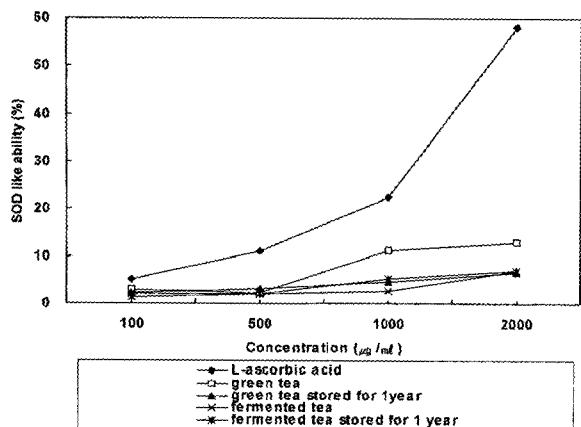


Fig. 1. Pyrogallol autoxidation activity of water extract in green and fermented tea.

10~26%의 효과를 보여 대조구로 사용한 L-ascorbic acid와는 상당한 차이를 보였다.

Pyrogallol의 자동산화 반응을 이용하여 후발효차 추출물의 SOD 유사활성을 측정한 결과, 추출물의 농도가 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때는 녹차 추출물보다 낮은 활성을 보였다. Kim 등[14]의 보고에 의하면 녹차의 열수추출물과 ethanol 추출물은 각각 85.3%, 63.5%로 높은 활성을 보인다는 보고와는 달리 본 실험에서는 추출물의 농도와 결과에 다소간 상이한 결과를 나타내었다.

Hydroxyl radical의 소거 효과

녹차와 후발효차 추출물의 hydroxyl radical에 대한 소거효과를 실험한 결과는 Fig. 2와 같다. 추출물을 500, 1000, 2000 및 3000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 첨가하여, 합성 항산화제 BHA를 대조구로 사용하여 다른 용매 추출물들과 비교한 결과, 후발효차 추출물은 hydroxyl radical 소거 작용에서 녹차 추출물과 비슷한 경향을 나타내었으며, 추출물의 농도가 3000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 녹차 추출물은 60%, 후발효차 추출물은 54%, 1년 저장한 녹차 추출물은 58% 및 1년 저장한 후발효차 추출물은 62%의 소거효과를 나타내었다. 또한 대조구인 BHA는 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 95.5%의 소거효과를 보였다.

β -Carotene-linoleate system을 이용한 항산화 효과

녹차와 후발효차를 열수로 추출하여 β -carotene-linoleate system을 이용하여 농도의 변화에 따른 항산화 효과를 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 추출물의 농도가 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 대조구인 L-ascorbic acid는 37%, 녹차 추출물은 27%, 1년 저장한 녹차 추출물은 34%, 발효차 추출물은 30%, 1년 저장한 발효차 추출물은 24%의 항산화 효과를 보였으며, 추출물의 농도가 3000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때는 녹차 추출물과 1년 저장한 녹차 추출물에서 70%와 75%의 항산화 효과를 나타내어

후발효차 추출물의 항산화 효과보다 5% 정도 높게 나타났다.

요약

국내산 녹차와 후발효차의 총 플라보노이드와 페놀 성분 및 몇 가지 항산화능을 분석하였다. 총 플라보노이드 함량은 녹차 추출물(413.3 $\mu\text{g}/\text{g}$)과 후발효차 추출물(405.7 $\mu\text{g}/\text{g}$)이 비슷하게 함유하였으며, 총 페놀 함량은 후발효차 추출물(23.5 $\mu\text{g}/\text{g}$)보다 녹차 추출물(46.8 $\mu\text{g}/\text{g}$)이 더 높게 포함되었다. 녹차 추출물의 catechin류에서는 EGC, GC, catechin, catechol 및 EGCG가 검출되었는데, 이 중 EGCG 함량이 가장 많았으며, 후발효차의 열수 추출물에서는 EGCG가 검출되지 않았다. SOD 유사활성은 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 그 활성이 증가하였다. Hydroxyl radical의 소거능은 각 추출물의 3000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 60% 이상을 나타내었고, β -carotene-linoleate system에서는 L-ascorbic acid와

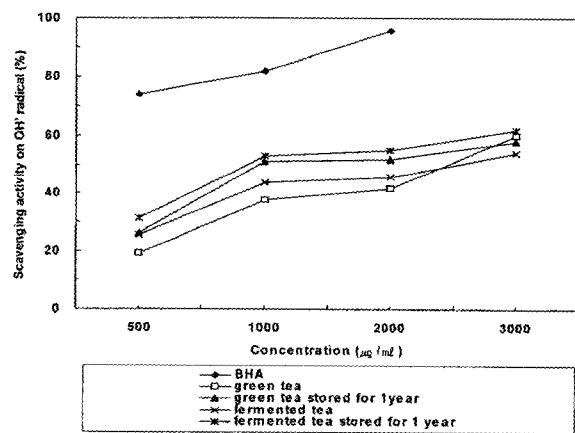


Fig. 2. The scavenging activity on hydroxyl radical of water extract in green and fermented tea.

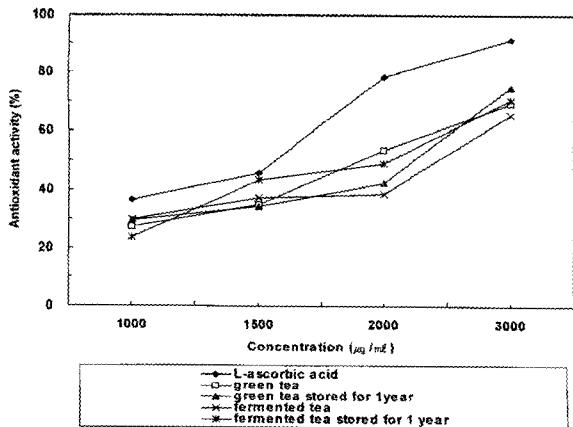


Fig. 3. Antioxidant activity of water extract in green and fermented tea.

비슷한 경향을 보였으며, 후발효차 추출물보다 녹차 추출물에서 효과적이었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Ahan, T., H. Takayanagi, K. Ikegaya and M. Nakagawa. 1981. Changes of sugar compounds of aspartic acid, threonine, serine and alanine during heating of green tea. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **28**, 578-582.
- Barry, H., I. A. Okezie and H. Ellis. 1993. DNA and Free Radical. *Ellis Horwood, West Sussex, England*, 1.
- Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 2001. Biofunctional activities of Citrus flavonoids. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 122-128.
- Cheng S. J. 1986. The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Asia Experimen. Biology* **9**, 328-334.
- Chung, H. J. 1999. Antioxidative effect of ethanolic extracts of some tea materials on red pepper seed oil. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1316-1320.
- Dapkevicius, A., T. A. Van Beek, J. P. H. Linssen and R. Venkutonis. 1998. Rapid spectroscopic screening for antioxidant activity in sage, thyme and oregano isolates with the β -carotene-linoleic acid model system. In *Natural Product Analysis* : Schreier P., Herderich M., Humpf H. V., Schwabw, V., p. 235-237.
- Folin, O. and Denis, W. 1915. A wlorimetric method for the determination of phenols (phenol derivatives) in urine. *J. Biol. Chem.*, **22**, 305-308.
- Halliwell, B., J. M. C. Gutteridge and O. I. Aruoma. 1987. The deoxyribose method : a simple 'test tube' assay for determination of rate constants for reaction of hydroxyl radicals. *Analytical Biochemistry* **165**, 215-219.
- Hayashi E, M Hayashi and H Yamazoe. 1990. Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri* **40(3)**, 351-356
- John, H. 1995. Beneficial effects of tea in chronic disease prevention. The 3rd international symposium on green tea. *Korean Soc. Food Sci. Technol.* p. 1-12.
- A. O. A. C. 1995. Official methods of analysis. 12th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C., p. 127-130.
- Kim, M. J. and S. J. Rhee. 1994. Effects of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **23**, 784-791.
- Kim S. K., H. J. Lee and M. K. Kim. 2001. Effect of water and ethanol extracts of persimmon leaf and green tea different conditions on lipid metabolism and antioxidative capacity in 12-month-old rats.. *Korean Nutrition Society* **34**, 499-512.
- Kim, S. M., Y. S. Cho and S. K. Sung. 2001. The Antioxidant Ability and Nitrite Scavenging Ability of Plant Extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 626-632.
- Marklund, S. and G. Marklund. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
- Muramatsu K., M. Fukuyo and Y. Hara. 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. *J. Nutr Sci Vitaminol.* **32**, 613-622.
- Na, H. W., S. O. Baek, S. V. Han and J. Y. Bok. 1992. Improvement of analytical method for catechins in green tea. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **35**, 276-280.
- Park, J. H., H. K. Choi and K. H. Park. 1998. Chemical components of various green teas on market. *J. Kor. Tea Soc.* **4**, 83-92.
- Park, J. H., K. S. Kim and H. K. Choi. 1997. Studies on free amino acid, organic acid and fatty acid content of Korean tea plants. *J. Kor. Tea Soc.* **3**, 73-87.
- Park, J. H., K. S. Kim, J. H. Kim, H. K. Choi and S. W. Kim. 1997. Studies on the chemical constituents of free amino acid, theanine, catechin contents in domestic tea shoots. *J. Kor. Tea Soc.* **2**, 197-207.
- Plaa, G. L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-131.
- Sakanka S., M. Kim, M. Taniguchi and T. Yamamoto. 1989. Antibacterial substance in japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*. a cariogenic bacterium. *Argic. Biol. Chem.* **53**, 2307-2311.
- Sakanka S., N. Shimura, M. Aizawa, M. Kim and T. Yamamoto. 1992. Preventive effect of green tea polyphenols against dental caries in conventional rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**, 592-594.
- Cheng, S. J. 1986. The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Asia Experimen. Biol.*, **9**, 328-334
- Wang, H., G. J. Provan and K. Helliwell., 2003. HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. *Food Chemistry* **81**, 307-312.
- Yamamoto, M., M. Sano, N. Matsuda, T. Miyase, K. Kawamoto, N. Suzuki and K. Hakamata. 2001. The change of epigallocatechin -3-O-(3-O-methyl) gallate content in tea of different varieties, tea of crop and processing method. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* **48**, 64-68.
- Yeo, S. G., C. W. Ahn, Y. W. Lee and T. G. Lee, 1995. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 299-304.
- Zeng, X. and Z. Wang. 1991. Study on the aroma of roasted green tea. Proceedings of ISTS, Shizuoka, Japan. p. 62.