

용매별 후발효차 추출물의 항산화 효과

손미예 · 김성희 · 남상해¹ · 조영숙² · 박석규² · 성낙주[†]

경상대학교 식품영양학과,

¹진주산업대학교 식품과학과, ²순천대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity of Solvent Extracts from Korean Fermented Tea

Mi-Yae Shon, Sung-Hee Kim, Sang-Hae Nam¹, Young-Sook Cho², Seok-Kyu Park² and Nak-Ju Sung[†]

*Dept. of Food and Nutrition, Institute of Agriculture & Life Science,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*

¹*Dept. of Food Science, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea*

²*Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea*

Abstract

Major components and antioxidant activity of fermented tea were investigated. Contents of total flavonoid and total phenol showed the highest score in ethanol extract (481.4 $\mu\text{g/g}$ and 33.5 g/100g), respectively. Their contents in hot water extract (405.7 $\mu\text{g/g}$ and 23.6 g/100g) were lower than those of the others extracts. However, their contents of ethyl acetate extract (495.2 $\mu\text{g/g}$, 39.5 g/100g) from fermented tea stored for 1 year had the highest amount among all tested samples. Catechins of fermented tea were found to be EGC, GC, catechin, catechol and EGCG. However, they were not detected in hot water extract. Scavenging activities of DPPH free radical of all extracts from fermented tea were increased in proportion to their concentration and were 72.4% for fermented tea and 80.9% for fermented tea stored for 1 year. Reducing power of ethanol extract at 500 $\mu\text{g/mL}$ were 0.78 as OD value of 700 nm for fermented tea and 0.88 for fermented tea stored for 1 year, respectively. Antioxidant activities of ethyl acetate extracts at 3000 $\mu\text{g/mL}$ were 86.6% for fermented tea and 73.7% for fermented tea stored for 1 year, respectively.

Key words : fermented tea, flavonoid, phenol, antioxidant and electron donating activities, reducing power

서 론

만성질환과 생체내 세포 손상의 원인이 되는 활성산소는 인체를 구성하고 있는 각종 세포의 여러 대사과정에서 생성되고 있으며, 생체방어과정에서도 활성산소가 대량발생하고 있다. 활성산소는 생체 내에서 DNA에 손상을 주어 발암 및 돌연변이 등의 세포 기능장해를 유발하며, 동맥경화 및 노화 등에도 관여하고 식품의 품질을 저하시킨다고 알려져 있다(1).

차는 flavanol, flavanone, flavonoid, phenolic acid 등을 포함한 polyphenol류를 함유하고 있어 강한 항산화력을 나타내고, 이러한 물질들은 차 건조중량의 약 30%를 차지하며, 이 중 대부분 차의 polyphenol류는 catechin으로 알려진 flavanol

류이다(2,3). Polyphenol성 화합물인 catechin은 혈압저하 및 혈소판 응집감소 및 혈중 콜레스테롤 저하, 증금속류 제거 작용, 항균, 충치억제, 항암, 중추 신경계 활성화, 항 돌연변이 및 항 알레르기 등의 약리작용이 있는 것으로 보고 되어 있으며, 특히 항산화 작용 및 혈소판 응집의 억제 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(4-9).

차는 제조방법에 따라 녹차, 반발효차, 발효차, 후발효차로 구분되는데, 가장 중요한 것은 제조할 때 발효의 정도에 따라 차의 성분, 색, 향기, 맛 및 약리 작용 등이 변화하게 된다는 점이다. 홍차나 반발효차의 발효에는 미생물이 관여하지 않고 차 잎에 들어 있는 효소 polyphenol oxidase에 의한 차의 주성분인 catechin류를 산화시켜 색깔을 변화시키는 것으로 효소에 의한 색깔 변화도 통상적으로 발효(fermentation)라는 용어를 사용하고 있으며, 대표적인 중국의 반발효차와 후발효차는 우롱차와 보이차가 있다. 국내에서도 최근 차엽에 있는 산화효소를 파괴시킨 뒤에 자연 유래

[†]Corresponding author. E-mail : snakju@gsnu.ac.kr,
Phone : 82-55-751-5975, Fax : 82-55-751-5971

의 미생물 효소를 이용하여 제조되고 있는 후발효차(後醱酵茶)는 홍차와 구별하기 위하여 일명 미생물 발효차(microbial fermented tea)라고도 하며, 최근 그에 대한 기초적인 연구가 부분적으로 진행되고 있다(10,11). 우리나라에서 제조되는 후발효차는 사찰을 중심으로 극히 일부에서 제조되고 있으며, 수입개방에 대비한 차 산업의 발전 방향으로 후발효차를 이용한 고부가가치 상품개발이 시급하다고 생각된다. 그러나 우리나라의 차에 관한 연구는 녹차에 대한 연구가 대부분이며, 대엽종으로 제조되는 일부 수입된 발효차의 일부 연구가 있을 뿐이다.

본 연구에서는 항산화 효과가 있는 polyphenol 화합물이 들어있는 후발효차 추출물 중에 존재하는 총 플라보노이드, 총 페놀 및 catechin 함량을 조사하였고, DPPH radical 소거 효과와 β -carotene-linoleate system을 이용한 항산화 효과 및 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정하였다. 또한 대조구로 사용한 ascorbic acid와 BHT의 항산화력과 비교하여 후발효차의 생체조절 물질로서의 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 후발효차는 자연 유래의 미생물에 의한 제조된 발효차로서 경남 사천시 곤명면에 위치한 영봉다원에서 차 잎을 6월초에 채취하여 수제품으로 제조하여 실험용 시료로 사용하였다.

시료제조

차 잎의 발효도가 높고 청정한 후발효차 20 g에 10배량의 증류수를 가하여 60°C에서 8시간 환류 냉각하여 3회 추출한 후 여과하여 회전증발기에서 농축시켜 열수 추출물을 얻었으며, 75% 에탄올 및 85% 에틸아세테이트 추출물은 실온에서 12시간 침지하여 열수 추출물과 동일하게 처리하였다. 이들 각각의 농축물은 다시 동결건조한 후 포장하여 -20°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

시약 및 기기

실험에 사용한 주요 시약으로 catechin(C), catechin gallate(CG), epicatechin(EC), epicatechin gallate(ECG), gallic acid(GA), gallic acid gallate(GAG), epigallocatechin(EGC), epigallocatechin gallate(EGCG), catechol, quercetin, caffeic acid, L-ascorbic acid, pyrogallol, DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), butylated hydroxytoluene, potassium ferricyanide, 2-thiobarbituric acid, β -carotene 등은 Sigma사(USA)제품을 이용하였다. 용매 및 기타 시약은 특급 또는 1급을 사용하였으며, 분석기기는

UV-visible spectrophotometer(Shimadzu UV-1601, Japan)와 HPLC (Shimadzu LC-10A, Japan)를 이용하였다.

총 플라보노이드 측정

후발효차 추출물 0.01 g을 증류수를 가한 후 90°C에서 30분간 추출하였으며, 여과하여 100 mL로 정용하였다. 여과액을 일정량 취하여 시험관에 옮긴 후 diethylene glycol과 NaOH 0.75 mL를 혼합하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다(12). 이때 표준곡선은 quercetin(Sigma Co., USA)의 농도를 0-0.5 mg범위가 되도록 제조하였으며, 검량선으로부터 추출물의 플라보노이드 함량을 계산하였다.

총 페놀 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis법(13)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.

Catechin 분석

Catechin 분석은 Wang 등(3)의 방법에 준하여 HPLC로 분석하였다. 시료 0.05 g을 시험관에 넣고 1분 동안 sonication시킨 증류수를 30 mL 가하여 혼합시킨 다음 10분간 원심분리한 후 상정액을 취하여 증류수를 가하여 50 mL로 만들었다. Sep-pak C₁₈ cartridge에 통과시켜 HPLC로 분석하였으며, 용매는 1% phosphoric acid로 25% THF를 분당 1 mL로 용출하였고, UV detector로 210 nm에서 측정하였다.

DPPH free radical 소거작용

전자공여작용은 후발효차 추출물의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여효과로 후발효차 추출물의 환원력을 측정하였다(14). 즉 DPPH 16 mg을 100 mL 무수 ethanol에 용해한 후 100 mL로 만들어 여과하였다. 이 여액에 시료 추출물 1 mL를 첨가하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 시료 대신에 에탄올 1 mL를 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

환원력 측정

환원력 측정은 Oyaizu(15)법에 따라 시험관에 다양한 농도의 시료에 sodium phosphate buffer 2.5 mL와 potassium ferricyanide 2.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분 동안 incubation시킨 후 trichloro acetic acid 2.5 mL를 첨가하고, 10분 동안 5,000 rpm으로 원심분리하였다. 상정액 5 mL에 0.1% ferric chloride 1 mL를 가한 후 spectrophotometer 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

β -Carotene-linoleate system을 이용한 항산화능 측정

시료의 항산화력은 β -carotene-linoleate model system으로 측정하였다(16). Chloroform과 β -carotene용액에 linoleic acid 0.38 mL와 tween 40을 첨가한 후 40°C 회전증발기에서 chloroform을 제거하였다. 잔류 emulsion에 3차 증류수 750 mL를 첨가하여 강하게 진탕한 다음 용기에 넣어둔다. 시험관에 emulsion용액 2.5 mL에 추출물 0.3 mL에 동일한 것을 두 개 만들어 하나는 그대로 처리하고, 다른 하나는 55°C에서 105분 동안 암실에서 incubation시킨 다음, 492 nm에서 spectrophotometer를 사용하여 흡광도를 측정하였으며, 이때 대조구는 L-ascorbic acid를 사용하였다.

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

결과 및 고찰

총 플라보노이드와 총 페놀 함량

총 플라보노이드와 총 페놀 함량을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 후발효차의 용매별(75% ethanol, hot water, 85% ethyl acetate) 함량은 481.4 μ g/g, 405.7 μ g/g 및 458.7 μ g/g으로 나타났고, 1년 저장한 후발효차의 함량은 424.6 μ g/g, 432.2 μ g/g 및 495.2 μ g/g으로 나타났다. 총 페놀 함량은 33.5 g/100 g, 23.5 g/100 g 및 30.2 g/100 g으로 나타났고, 1년 저장한 후발효차의 함량은 28.3 g/100 g, 23.9 g/100 g 및 39.5 g/100 g으로 나타났다. 용매별 총 플라보노이드 함량과 총 페놀 함량은 85% ethyl acetate를 용매로 사용하였을 경우에 추출 효율이 가장 높게 나타났다.

Table 1. Total flavonoid and phenol contents of extracts from fermented tea

Teas	Extracts	Total flavonoid (Dry base, μ g/g)	Total phenol (Dry base, g/100g)
Fermented tea	75% Ethanol	481.4 \pm 23.6	33.5 \pm 2.1
	Hot water	405.7 \pm 18.8	23.5 \pm 1.9
	85% Ethyl acetate	458.7 \pm 33.5	30.2 \pm 3.7
Fermented tea stored for 1 year	75% Ethanol	424.6 \pm 22.0	28.3 \pm 2.3
	Hot water	432.2 \pm 31.9	23.9 \pm 1.7
	85% Ethyl acetate	495.2 \pm 27.7	39.5 \pm 2.9

Data were presented as the mean \pm SD and experiment was tested in triplicate on per dose per each sample.

Kim 등(17)의 보고에 의하면 녹차의 열수 추출물은 35.5 mg, ethanol 추출물은 31.3 mg으로 추출용매에 따라 추출되는 플라보노이드 비율이 차이가 나타남을 알 수가 있다. 플라보노이드의 생리활성 작용으로 가장 주목받는 것 중의 하나는 항산화 작용으로 유리기에 수소원자를 공여하여 생체 내에서 산화 스트레스에 의해서 과잉으로 생성된 활성 산소 등의 자유라디칼의 생성(18)을 억제시킴으로써 항산화 작용을 발휘하게 된다. 그러나 플라보노이드가 고농도로 존재할 경우 pH가 알칼리성이고, 철분이 존재할 때는 역으로 활성 산소의 공여체로서 작용하기 때문에 일정농도 이상의 과잉 섭취는 오히려 인체에 해를 초래하게 된다고 한다(19).

페놀성 물질은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조를 갖는데, 특히 phenolic hydroxyl기가 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질이 강하여 항산화 등과 같은 생리활성 기능을 나타내게 된다(20). Chung(21)은 *Camellia sinensis*에서 10.3% 검출량을 보고하였고, Yeo 등(22)은 녹차의 수용성 분획물은 1.7 mg/100g, 메탄올 가용성 분획물은 2.3 mg/100g, 홍차의 수용성 분획물은 0.9 mg/100g, 메탄올 가용성 분획물은 0.7 mg/100g으로 보고하였다.

Catechin 함량

후발효차 추출물의 catechin 함량은 Table 2와 같은데, 용매별 추출물에서 EGC, GC, catechin, catechol 및 EGCG가 검출되었다. 75% ethanol 추출물에서 210.9 mg/g으로, 열수 추출물과 ethyl acetate 추출물의 140.7 mg/g과 130.1 mg/g보다 높게 측정되었다. 모든 용매 추출물에서 GC의 함량이 상대적으로 높았으며, 1년간 저장한 후발효차의 catechin 함량은 ethyl acetate 추출물에서 224.0 mg/g으로 나타났고, ethanol 추출물의 192.9 mg/g와 열수추출물의 127.1 mg/g 보다는 높았다. GC와 catechin 양은 증가하는 반면, EGC, catechol, EGCG의 양은 감소함을 알 수 있었는데, 특히 EGCG는 열수 추출물에서는 검출되지 않았다. 생리활성이 가장 높은 EGCG는 ethyl acetate 추출물과 ethanol 추출물에서 나타났고, 1년 저장한 후발효차의 ethyl acetate 추출물에서는 많은 양의 catechin이 검출되었다.

Catechin은 epicatechin과 마호가니 나무로부터 최초로 확인된 물질로서, 주요한 catechin으로는 (-)-epigallo-catechin 3-O-gallate(EGCG), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin 3-O-gallate(EGC), (-)-epicatechin(EC), (+)-gallocatechin(GC), (+)-catechin(C) 등이 있다. Na 등(23)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 및 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 및 EGCG가 7.3

mg/g으로 총 함량이 51.1 mg/g였다. 이것은 녹차나 발효차의 종류와 침출 및 실험조건의 차이에 따라서 다르게 나타나는 것으로 생각된다. 또한 녹차 중의 catechin은 동일한 품종이라도 재배지나 재배조건 및 제조방법 등에 따라서도 함량에 다소간의 차이가 있는 것으로 판단된다.

Table 2. Catechin contents of extracts from fermented tea
(Dry base, mg/g)

Catechins	Fermented tea			Fermented tea stored for 1 year		
	75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate	75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate
EGC	38.5±2.1 ¹⁾	32.3±1.7	25.4±1.5	37.1±2.0	22.5±1.2	44.4±2.1
GC	87.4±2.5	41.0±2.2	70.1±3.8	84.4±4.2	68.5±2.8	96.3±3.7
Catechin	41.8±3.6	40.5±1.9	13.7±1.4	39.1±2.7	26.3±1.4	50.8±2.8
Catechol	30.4±1.9	26.9±2.7	20.9±0.9	24.9±1.5	9.8±0.6	19.3±1.6
EGCG	12.8±1.0	ND ²⁾	ND	ND	ND	13.2±0.7

¹⁾ Data were presented as the mean±SD and experiment was tested in triplicate on per dose per each sample.

²⁾ ND : Not detected.

DPPH free radical 소거작용

전자공여능 측정은 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrodrazyl) 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 탈색되는 점을 이용하여 항산화 활성을 검정하는데 널리 사용되고 있다.

후발효차의 용매별 추출물의 농도에 따른 전자공여 작용을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 합성 항산화제인 BHT를 대조군으로 사용하였으며, 추출물 농도를 50, 100, 500 및 1000 µg/mL를 첨가하여 실험한 결과, 모든 추출물에서 그 농도의 증가에 따라 라디칼의 소거 효과도 비례적으로 증가하였다. 추출물의 농도가 500 µg/mL일 때는 40~70%의 라디칼이 소거되었으며, 1000 µg/mL일 때는 모든 추출물에서 63% 이상의 높은 전자공여 효과가 있음을 알 수 있었다.

Yeo 등(24)은 증제차, 볶음차, 오롱차 및 홍차의 DPPH 실험에서 홍차> 오롱차> 볶음차> 증제차 순으로 자유 라디칼 소거작용을 보였고, 모두 적은 농도에서 강한 자유 라디칼 소거작용을 보였으며, 전자공여능이 클수록 강한 항산화력을 나타내므로, 항산화 효과는 전자공여능과 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. Free radical은 epinephrine의 산화, 미토콘드리아, 식세포 또는 세포질 중 xanthin oxidase나 glutathione reductase 등의 flavo enzyme에 의한 정상적인 대사 과정과 같은 여러 가지 생물학적 반응에 의해 형성되며 전자공여작용은 이러한 산화성 생물활성 자유 라디칼에 전

자를 공여하여 산화를 억제하는 척도가 된 다고 한다(25). 또한 전자공여능은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성을 갖는 자유 라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제시키며, 식물 중에 존재하는 대부분의 생리활성 물질은 일반적으로 산화성 자유 라디칼과 반응하기 때문에 항산화제로서 작용한다고 한다(26).

Table 3. Scavenging activity of DPPH free radical of extracts from fermented tea

Concentration (µg/mL)	BHT	Fermented tea			Fermented tea stored for 1 year		
		75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate	75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate
50	32.0±1.3	11.1±0.8	9.4±0.5	11.7±1.2	9.97±0.4	7.3±0.9	6.6±0.3
100	48.7±2.6	19.0±1.1	10.4±1.5	17.6±2.7	13.9±0.7	10.4±1.3	9.7±0.4
500	86.2±4.0	70.0±4.2	39.2±2.3	58.7±2.4	63.1±2.8	40.0±1.2	40.1±1.5
1000	98.3±3.8	72.4±3.6	62.4±1.7	71.6±4.3	80.9±5.2	75.0±2.6	75.7±1.3

Data were presented as the mean±SD and experiment was tested in triplicate on per dose per each sample.

환원력 효과

후발효차 추출물의 환원력을 700 nm에서 흡광도로 나타낸 결과는 Table 4와 같다. 10, 50, 100 및 500 µg/mL 농도의 추출물을 첨가하여 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정할 때 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내므로 높은 흡광도 수치는 높은 환원력을 나타낸다. 표에 나타난 바와 같이 후발효차의 추출물 농도가 100 µg/mL일 때 L-ascorbic acid는 0.6이었고, 다른 추출물들은 0.23, 0.18 및 0.14로 측정되었으며, 1년 저장한 추출물의 환원력은 0.29, 0.16 및 0.31로 다소 높게 나타났다. 500 µg/mL일 때는 모든 추출물에서 0.6~0.9 범위의 환원력이 나타났다.

Table 4. Reducing power of extracts from fermented tea
(Absorbance at 700 nm)

Concentration (µg/mL)	Ascorbic acid	Fermented tea			Fermented tea stored for 1 year		
		75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate	75% Ethanol	Hot water	85% Ethyl acetate
10	0.08	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05
50	0.25	0.13	0.15	0.09	0.14	0.09	0.13
100	0.6	0.23	0.18	0.14	0.29	0.16	0.31
500	2.90	0.78	0.60	0.58	0.88	0.59	0.87

Data were presented as the mean and experiment was tested in triplicate on per dose per each sample.

한편 환원력 실험은 potassium ferricyanide reduction법을 사용한 추출물의 환원력을 평가하는 것으로서 reductone의 항산화 반응은 hydrogen atom을 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, reductone은 또한 과산화의 일정한 전구물질과 반응하여 과산화의 형성을 방해한다. flavonol 물질은 이 안정된 생성물로 그들을 전환시키기 위해 free radical과 반응하거나 전자를 제공함으로써 reductones과 같은 유사한 형태에서 반응하고 자유 라디칼 연쇄 반응이 종결된다고 보고 되어있다(27).

β-Carotene-linoleate system을 이용한 항산화 효과

후발효차 용매별 추출물의 항산화 효과를 β-carotene-linoleate system을 이용하여 조사한 결과는 Table 5에 나타내었다. 추출물 3000 μg/mL일 때, 대조구인 ascorbic acid의 항산화 효과는 91.2%로 나타났고, 저장하지 않은 후발효차의 ethyl acetate 추출물에서 87%로서 다른 용매 추출물보다 가장 높은 효과를 나타내었다. 모든 추출물의 농도가 증가되면 비례적으로 항산화 효과도 증가되는 경향을 나타내었으며, ethyl acetate 추출물이 ethanol이나 열수 추출물보다는 항산화능이 대체로 높게 나타났는데, 저장에 따른 항산화능의 변화는 동일 추출물에선 큰 차이가 나타나지 않았다.

한편 녹차의 용매별로 추출하여 β-carotene-linoleate system을 이용하여 농도의 변화에 따른 항산화 효과를 측정된 결과(결과 미제시), 추출물의 농도가 1000 μg/mL일 때 대조구인 L-ascorbic acid는 38%, ethanol 추출물은 69.7%, 열수 추출물은 65.6%, ethyl acetate 추출물은 86.6%, 1년 저장한 녹차의 ethanol 추출물은 66.6%, 열수 추출물은 70.7%, 그리고 ethyl acetate 추출물은 73.7%로, 저장한 시료에서 항산화 효과가 조금 낮게 측정되었다. 이와 같은 결과는 저장한 시료에서는 catechin의 총 함량이 감소한 결과라 생각된다.

Table 5. Antioxidant activity of extracts from fermented tea in β-carotene-linoleate system

Concentration (μg/mL)	Ascorbic acid	Fermented tea			Fermented tea stored for 1 year		
		75%	Hot	85%	75%	Hot	85%
		Ethanol	water	Ethyl acetate	Ethanol	water	Ethyl acetate
1000	36.6±2.3	31.7±1.4	30.0±2.7	24.6±2.3	28.0±1.6	23.5±2.9	27.5±4.1
1500	45.5±2.1	33.4±2.0	37.1±5.1	37.7±2.0	32.6±2.4	43.1±1.7	46.6±3.3
2000	78.8±3.7	42.0±2.1	38.6±3.4	51.5±4.6	39.4±2.1	48.8±3.0	56.6±2.6
3000	91.2±4.4	69.7±3.5	65.6±4.9	86.6±6.8	66.6±4.7	70.7±5.2	73.7±3.8

Data were presented as the mean±SD and experiment was tested in triplicate on per dose per each sample.

요 약

자연 유래의 미생물 효소를 이용하여 제조되는 후발효차의 주요성분과 항산화능을 조사하였다. 후발효차의 총 플라보노이드와 총 페놀 함량에서 각각 ethanol 추출물(481.4 μg/g, 33.5 g/100g)이 가장 높았으나, 1년 저장한 시료에서는 ethyl acetate 추출물(495.2 μg/g, 39.5 g/100g)이 다른 모든 추출물보다 가장 높았다. 후발효차의 catechin류는 EGC, GC, catechin, catechol 및 EGCG가 검출되었으며, 열수 추출물에서는 EGCG가 검출되지 않았다. DPPH free radical 소거능은 모든 추출물에서 그 농도가 증가할수록 활성이 증가하였는데, 저장하지 않은 후발효차와 1년간 저장한 것의 ethanol 추출물에서는 각각 72.4% 및 80.9%였다. 금속 화합물 형성에 대한 환원력의 효과는 에탄올 추출물 500 μg/mL에서 0.78과 0.88(1년 저장)의 환원력을 나타냈고, β-carotene-linoleate system에서 ethyl acetate 추출물 3000 μg/mL의 항산화능은 86.6%와 73.7%(1년 저장)를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Barry, H., Okezie, I.A. and Ellis, H. (1993) DNA and free radical. Ellis Horwood, West Sussex, England. p.1-7
2. Kim, S.H., Han, D.S. and Park, J.D. (2004) Changes of some chemical compounds of Korean (Posong) green tea according to harvest periods. Korean J. Food Sci. Technol., 36, 542-547
3. Wang, H., Provan, G.J. and Helliwell, K. (2003) HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. Food Chemistry, 81, 307-312
4. Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y. (1986) Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 32, 613-622
5. Kim, M.J. and Rhee, S.J. (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
6. Sakanka, S., Kim, M., Taniguchi, M. and Yamamoto, T. (1989) Antibacterial substance in japanese green tea extract against Streptococcus mutans. a cariogenic bacterium. Argic. Biol. Chem., 53, 2307-2311

7. Sakanka, S., Shimura, N., Aizawa, M., Kim, M. and Yamamoto, T. (1992) Preventive effect of green tea polyphenols against dental caries in conventional rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 592-594
8. Cheng, S.J. (1986) The preliminary study of inhibitory effects of green tea antioxidant on mutation. *Acta Experimen. Biol.*, 9, 328-334
9. Hayashi, E., Hayashi, M., and Yamazoe, H. (1990) Pharmacological action of tea extract on the central nervous system in mice. *Oyo Yakuri*, 40, 351-356
10. Choi, S.H. (2001) Volatile aroma components of Korean semi-fermented teas. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 33, 529-533
11. Yamanishi, T. (1991) Flavor characteristics of various teas. In *World tea. Proceeding of international symposium on tea science*, Shizuoka, Japan., p.1-11
12. A.O.A.C. (1995) Official methods of analysis. 12th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., p.127-130
13. Folin, O. and Denis, W. (1915) A colorimetric method for the determination of phenols(Phenol derivatives) in urine. *J. Biol. Chem.*, 22, 305-308
14. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1199-1200
15. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr.*, 44, 307-315
16. Dapkevicius, A., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H. and Venkutonis, R. (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., Braunschweig. p.235-237
17. Kim, S.K., Lee, H.J. and Kim, M.K. (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 J. Nutr.*, 34, 499-512
18. Plaa, G. L. and Witschi, H. (1976) Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 16, 125-131
19. Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (2001) Biofunctional activities of citrus flavonoids. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 44, 122-128
20. Kim, H.J., Jun, S.S., Kim, K., Cha, J.Y. and Cho, Y.S. (2000) Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower(*Carthamus tinctorius* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 29, 1127-1132
21. 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
22. Yeo, S.G., Park, Y.B. and Park, Y.H. (1995) Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 24, 154-159
23. Na, H.W., Baek, S.O., Han, S.V. and Bok, J.Y. (1992) Improvement of analytical method for catechins in green tea. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35, 276-280
24. Yeo, S.G., Ahn, C.W., Lee, Y.W. and Lee, T.G. (1995) Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24, 299-304
25. Jim, Q., Park, J.R., Kim, J.B. and Cha, M.H. (1999) Physiological activity of *Zizyphus jujaba* leaf extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 28, 593-599
26. Park, Y.K., Kim, H.M., Park, M.W., Kim, S.R. and Choi, I.O. (1999) Physicochemical and functional properties of Turnip. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 28, 333-342
27. Wettasinghe, M. and Shahdi, F. (1999) Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage(*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Chemistry*, 67, 399-414

(접수 2004년 10월 8일, 채택 2004년 11월 25일)