효소를 이용한 녹차 생엽에서 고품질 녹차 추출물 생산

이란숙·차환수·박종대·이성훈·김상희[†] 한국식품연구원

High Quality Green Tea Extract Production from Enzyme Treated Fresh Green Tea Leaves

Lan-Sook Lee, Hwan-Soo Cha, Jong-Dae Park, Sung-Hun Yi, and Sang-Hee Kim[†]

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

Fresh green tea leaf extracts were prepared by different enzyme treatment conditions, such as concentration, treating time and treating temperature using complex enzyme, Rapidase TF, and then extracted for 30 min at 80°C to investigate their physicochemical properties. The results showed that free sugar content in every sample tended to increase, especially glucose content was increased up to 7.25 times compared to the control. Total amino acid was barely affected by the enzyme treatment and caffeine content was increased with reaction temperature. Total polyphenol and total catechin content was increased according to the amount of enzyme added and reaction temperature. Regardless of enzyme treatment conditions, composition of catechins were epigallocatechin, epicatechin, epicatechin gallate and epigallocatechin gallate by descending order of the content. Gallic acid content increased up to 0.04% and 45°C with no further significant changes thereafter. From the results above, we could conclude that a simple and new method to extract green tea materials directly from fresh green tea leaves with improved extract ratio may be introduced by adding 0.08~0.1% of Rapidase TF to heat treated fresh green tea leaves and keeping temperature at 37~45°C for 180~240 min in order to skip existing complicated procedures.

Key words: fresh tea leaf, extract, physicochemical properties, enzyme, Rapidase TF

서 론

차는 산차과(Theaceae)에 속하는 차나무(Camellia sinensis O, Kuntze)의 싹이나 잎을 가공한 기호 및 보건성 음료로서, 각 민족의 기호 및 기술에 맞게 다양하게 가공되 어 왔으며 카테킨, 카페인, 아미노산, 섬유소, 펙틴 등과 엽록 소 플라보놀 유도체, 안토시안 등의 식물색소 그리고 지질, 수지류, 정유, 비타민 등 다양한 성분이 함유되어 있다(1,2). 이들 성분 중 카페인에 의한 흥분, 강심, 이뇨, 해열, 수렴 등의 작용과, 카테킨류에 의한 콜레스테롤 상승 억제, 아밀 라아제 활성 저해 작용, 혈당 상승 저해 작용, 동맥경화방지 작용, 항산화 작용, 항균 작용, 항궤양 작용 및 돌연변이 억제 작용 등의 생리활성 효능이 보고되고 있다(3-10). 최근 차를 단순히 마시는 음료뿐만 아니라 차엽으로부터 기능성 성분 을 추출하여 음식, 의약품, 건강식품, 화장품 등의 첨가제로 서 그 이용영역이 확대되고 있으며 특히 고품질의 녹차 추출 물은 식품 첨가소재 또는 직접 음료로 희석 사용 등으로 활 용이 계속 증대되고 있다(11-13). 이와 같은 용도로 사용하 기 위한 차 추출물은 차의 생엽을 증제식 또는 덖음식 공정으로 가공하여 건조 차를 만든 후 열수추출 하여 추출액을 제조하여 왔으나 여러 가공단계를 거침으로써 공정이 복잡하고 에너지가 많이 소비되는 등의 원가상승 요인이 크다는 문제점이 있었으며 녹차엽을 건조하기 위한 과도한 열처리로 녹차엽이 갈변되어 추출액의 색이 갈변되는 등 품질이 떨어지는 또 다른 문제점이 있었다.

따라서 본 연구에서는 이와 같은 문제점을 해결하고 녹차 성분 추출률이 향상된 고품질의 추출물을 얻기 위해 효소처 리 조건에 따라 녹차 추출물을 얻은 후 유리당 함량, 총아미 노산 함량, 총폴리페놀 함량, 카테킨, 카페인 및 gallic acid 함량 등을 분석하여 새로운 형태의 차 추출물 제조를 위한 기초를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 녹차는 전남 보성에서 7월말에 채취한

[†]Corresponding author. E-mail: kimsh@kfri.re.kr Phone: 82-31-780-9062, Fax: 82-31-780-9073 녹차 생엽으로서 채엽 후 100°C에서 80초간 증열처리 한 후 Hobart chopper로 평균 입자 크기 3 mm 내외로 마쇄한 후 실험에 사용하였다. 녹차 추출 시 사용한 효소는 pectinase, hemicellulase 및 cellulase가 혼합된 Rapidase TF(activity: 100,000 AVJP/g, origin: *Aspergillus niger*, 제조사: DSM Food Specialties, The Netherlands)를 사용하였다.

녹차 추출물 제조

증열 처리된 녹차 생엽 마쇄물 10 g에 탈이온수 50 mL를 가하여 효소처리를 하였다. 이때 효소처리를 위한 변수로서 효소처리 온도에 따른 영향을 보기 위해 효소처리 농도 0.1% 와 효소처리 시간 120 min을 일정하게 유지하고 효소처리 온도를 25, 30, 37, 45 및 50℃로 달리하여 실험하였으며, 효소처리 시간에 따른 영향은 효소처리 농도 0.1%와 효소처리 온도 45℃를 일정하게 유지하고 효소처리 시간을 60, 120, 180, 240 및 300 min으로 하여 실험하였다. 또한 효소처리 농도에 따른 영향은 효소처리 시간 120 min, 효소처리 온도 45℃로 유지하고 효소처리 농도를 0.01, 0.04, 0.08, 0.1 및 0.12%로 하여 실험하였다. 효소 처리한 녹차엽은 효소 불활성화와 추출률의 향상을 위해 80℃에서 30분간 가열하였으며 조여과 후 10,000 g에서 20분간 원심분리 하여 효소처리에 의한 녹차추출물의 이화학적 성분 분석용 시료로 사용하였다.

녹차 추출물의 이화학적 성분분석

효소처리에 의해 생산된 녹차 생엽 추출물의 유리당 분석을 위한 시료 조제 및 HPLC는 Wang의 방법(14)을 변형하여 사용하였다. 즉 녹차 추출물에 diethyl ether와 1-butanol을 사용하여 순차적으로 용매분획 한 후 수층을 농축하여당분석을 위한 시료로 하였으며, HPLC 분석 조건은 JASCO HPLC system(JASCO Co., Japan)을 이용하여 Carbohydrate high performance column(4 μm, 4.6×250 mm, Waters, USA)으로 75% CH₃CN을 사용하여 35°C에서 유속 1.4 mL/min으로 검출하였다.

총아미노산 함량은 차의 분석법(15)에 따라 시료 여액에 polyvinylpolypyrrolidone을 가해 진탕한 후 여과한 여액 1 mL에 ninhydrin 용액 0.5 mL와 $SnCl_2$ 용액 0.5 mL를 가해 잘 혼합한 후 80° C에서 30분간 가온처리 하여 신속히 냉각하였다. 여기에 50% isoprophylalcohol 5 mL를 가해 잘 흔들어준 후 570 nm에서 흡광도를 측정하여 glutamic acid로 환산하여 총아미노산 함량으로 하였다.

카테킨, 카페인 및 gallic acid 함량은 원심분리 하여 얻은 녹차 추출물을 membrane filter 후 희석하여 Lee 등(16)의 방법으로 분석하였다. 즉 카테킨, 카페인 및 gallic acid 분석은 JASCO HPLC system을 이용하여 μBondapak C₁₈ column(125Å, 3.9×300 mm, Waters, USA)으로 A용액(H₂O: CH₃CN:85% H₃PO₄, 94.95:5:0.05, v/v/v)과 B용액(H₂O: CH₃CN:85% H₃PO₄, 49.95:50:0.05, v/v/v)의 농도구배에 의해 40°C에서 유속 1 mL/min으로 하여 231 nm에서 검출하였다.

총폴리페놀 함량은 시료 0.1 mL에 증류수 6 mL, Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 가하여 혼합하고 8분 후에 15% Na₂CO₃ 2 mL를 가한 후 10 mL로 정용하고 2시간 방치 후에 765 nm에서 흡광도를 측정하여 (+)catechin으로 환산하여 정량하였다. 모든 실험은 3번 반복 실험하여 그 결과는 SAS program을 통해 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, p<0.05수준에서 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였다(17).

결과 및 고찰

효소처리가 유리당에 미치는 영향

녹차 생엽으로부터 고품질의 녹차 추출물을 얻기 위해 복합효소 Rapidase TF를 이용하여 녹차 추출물을 제조하여효소처리 조건에 따라 제조된 추출물 중의 유리당 변화를알아 본 결과 Table 1과 같다. 모든 처리구에서 효소 첨가량이 증가하고 효소처리 시간이 경과함에 따라 그리고 효소처리 온도가 높아짐에 따라 그 함량이 증가하는 경향을 보였다. 특히 검출된 유리당 중 glucose가 효소처리에 대한 영향을 가장 많이 받는 것으로 나타났으며 효소 무첨가구인 대조구는 7.29 mg/100 mL로 0.12% 첨가구에서는 44.66 mg/100 mL의 함량을 보여 6.13배 증가하는 것으로 나타났고 효소처

Table 1. Contents of fructose, glucose and sucrose in green tea extract according to enzyme treatment conditions

	Free sugar content (mg/100 mL)			
	Fructose	Glucose	Sucrose	
Control	2.01 ± 0.11	7.29 ± 0.08	0.71 ± 0.18	
Concentration (%)				
0.01	$2.12 \pm 0.07^{\mathrm{b1}}$	$17.95 \pm 0.12^{\rm e}$	$1.06 \pm 0.05^{\mathrm{d}}$	
0.04	$2.24 \pm 0.22^{\rm b}$	19.58 ± 0.15^{d}	1.76 ± 0.15^{c}	
0.08	2.67 ± 0.06^{a}	$36.94 \pm 0.54^{\circ}$	$2.37 \pm 0.16^{\rm b}$	
0.10	2.69 ± 0.09^{a}	$40.97 \pm 0.69^{\mathrm{b}}$	2.83 ± 0.02^{a}	
0.12	2.93 ± 0.16^{a}	44.66 ± 1.27^{a}	2.87 ± 0.22^{a}	
Temperature (°C)				
25	2.10 ± 0.22	30.73 ± 0.19^{c}	1.34 ± 0.15^{d}	
30	2.45 ± 0.01	$36.28 \pm 0.67^{\mathrm{b}}$	2.09 ± 0.12^{c}	
37	2.47 ± 0.25	41.03 ± 0.13^{a}	$2.50 \pm 0.03^{\mathrm{b}}$	
45	2.56 ± 0.11	44.65 ± 0.11^{a}	2.47 ± 0.01^{a}	
50	2.41 ± 0.18	48.47 ± 0.13^{a}	2.69 ± 0.23^{a}	
Time (min)				
60	2.36 ± 0.57	30.59 ± 0.22^{d}	$1.89 \pm 0.15^{\rm e}$	
120	2.34 ± 0.20	40.85 ± 0.14^{c}	$2.78 \pm 0.07^{\rm d}$	
180	2.75 ± 0.12	$45.57 \pm 0.35^{\mathrm{b}}$	3.33 ± 0.09^{c}	
240	2.79 ± 0.10	52.66 ± 0.40^{a}	$3.62 \pm 0.12^{\rm b}$	
300	2.61 ± 0.08	52.82 ± 0.58^{a}	3.88 ± 0.09^{a}	
300C ²⁾	2.28 ± 0.54	20.13 ± 1.27	1.23 ± 0.79	

 $^{^{1)}}$ Data expressed as green tea extract basis and presented as means of three replicates \pm standard deviations. Means with the same superscript in each column were not significantly different (p<0.05).

²⁾300C: control, no added enzyme, but reacted for 300 min at 45°C.

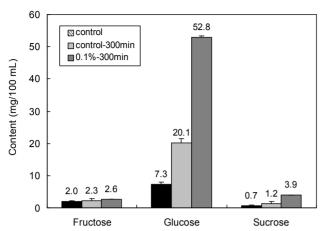


Fig. 1. Effect of enzyme treatment on sugar contents in green tea extract. Control, no added enzyme; Control-300 min, no added enzyme, but reacted for 300 min at 45°C; 0.1%-300 min, 0.1% added with enzyme, reacted for 300 min at 45°C.

리 시간에 따른 영향에서는 300 min 처리 시 52.82 mg/100 mL로 약 7.25배 증가하는 것으로 나타났다. 이때 유리당 함 량의 증가가 순수한 효소의 첨가에 의한 영향인지 알아보기 위해 대조구를 45℃에서 300 min 동안 반응시킨 후 효소 첨가구와 함께 비교하여 실험한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 반응 후 대조구의 유리당 함량은 fructose 2.28 mg/100 mL, glucose 20.13 mg/100 mL, sucrose 1.23 mg/100 mL로 반응시간 경과에 따른 영향을 고려하더라도 효소처리에 의 해 glucose가 다량 생성되었음을 알 수 있었다. 본 실험에서 는 Kim 등(18)이 녹차 생엽에서 분석 정량한 유리당 중 raffinose와 stachvose의 존재는 확인할 수 없었으며 대조구를 포함한 모든 처리구에서 glucose가 전체 유리당의 72.8~ 90.5%를 차지하였다. 이는 Kim 등(18)이 보고한 52.3%와는 차이가 있었지만 채엽시기, 채엽장소 및 분석방법과 측정방 법 등의 차이에 의한 것으로 생각된다. 또한 효소처리에 의 해 tannin이나 gallic acid ester 등이 가수분해 되어 glucose 가 다량 생성된 것으로 사료된다. 이는 Lu와 Chen(19)이 보 고한 녹차 추출물에 tannase 처리 시 glucose가 증가하였다 는 보고와도 일치하였다.

효소처리가 총아미노산 함량에 미치는 영향

녹차 생엽으로부터 효소처리에 의해 제조된 추출물 중의 총아미노산 함량에 대한 영향을 알아보기 위해 효소처리 농도, 효소처리 시간 및 효소처리 온도를 달리하여 실험한 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 효소처리 농도나 효소처리 온도에 의한 영향은 거의 없는 것으로 나타났으며 효소처리시간이 경과함에 따라 약간 증가하는 것으로 나타났다. 효소무참가구를 45°C에서 300 min 동안 반응시킨 후의 총아미노산 함량은 12.07 mg/100 mL로 반응전의 대조구 12.01 mg/100 mL와 유의적 차이가 없는 것으로 보아 반응시간 경과에따른 총아미노산 함량의 증가는 효소 첨가에 의한 영향임을 유추할 수 있었다. 아미노산은 수용성으로서 녹차 침출액에

Table 2. Contents of total amino acid and caffeine in green tea extract according to enzyme treatment conditions

Content (mg	/100 mL)
Total amino acid	Caffeine
12.01 ± 0.18	62.14 ± 1.50
12.23 ± 1.07	$76.32 \pm 0.92^{\mathrm{b1}}$
12.48 ± 1.05	84.76 ± 0.86^{a}
11.94 ± 0.86	89.47 ± 0.32^{a}
12.17 ± 0.75	90.12 ± 1.19^{a}
12.21 ± 0.62	90.44 ± 1.38^a
11.68 ± 0.84	72.61 ± 2.05^{d}
12.73 ± 0.97	$76.87 \pm 0.68^{\circ}$
12.45 ± 0.54	85.63 ± 1.39^{b}
12.98 ± 0.85	91.84 ± 1.66^{a}
12.56 ± 1.08	92.47 ± 1.59^{a}
11.94 ± 0.77	91.89 ± 1.54
12.53 ± 0.94	92.28 ± 3.05
13.42 ± 1.04	92.39 ± 0.93
13.38 ± 0.80	92.76 ± 0.34
13.46 ± 0.89	92.43 ± 1.08
12.07 ± 0.75	63.14 ± 1.29
	12.01 ± 0.18 12.23 ± 1.07 12.48 ± 1.05 11.94 ± 0.86 12.17 ± 0.75 12.21 ± 0.62 11.68 ± 0.84 12.73 ± 0.97 12.45 ± 0.54 12.98 ± 0.85 12.56 ± 1.08 11.94 ± 0.77 12.53 ± 0.94 13.42 ± 1.04 13.38 ± 0.80 13.46 ± 0.89

¹⁾Data expressed as green tea extract basis and presented as means of three replicates±standard deviations. Means with the same superscript in each column were not significantly different (p<0.05).

용출되어 카페인의 쓴맛, 카테킨의 떫은맛과 더불어 차의 맛에 크게 관여하는 성분으로서 채엽시기가 늦을수록 아미 노산 함량은 크게 감소한다고 알려져 있다(20).

효소처리가 caffeine 함량에 미치는 영향

녹차 생엽으로부터 효소처리에 의해 제조된 추출물 중의 caffeine 함량에 대한 영향을 알아본 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 효소 첨가량이 증가하고 효소처리 온도가 높아짐 에 따라 증가하였으나 효소처리 온도에 따른 영향은 거의 없는 것으로 나타났다. 효소첨가 농도에 따른 영향은 대조구 62.14 mg/100 mL에 비해 0.12% 첨가 시 90.44 mg/100 mL로 약 1.46배 증가하였고 0.1% 이상에서는 거의 변화가 없었다. 효소처리 온도에 따른 영향은 25°C에서 72.61 mg/100 mL인 것이 50°C에서는 92.47 mg/100 mL로 약 1.27배 증가하였으 며, 대조구를 45°C에서 300 min 동안 반응시킨 후의 카페인 함량은 63.14 mg/100 mL로 반응전의 대조구 62.14 mg/100 mL와 비교하여 거의 차이가 없는 것으로 미루어 효소처리 에 의해 카페인 용출량이 증가하였음을 알 수 있었다. 카페 인은 알칼로이드의 일종으로 카페인 함량이 높을수록 녹차 의 맛에 대한 기호도가 증가하고 녹차에 함유된 카테킨이나 theanine 등과 분자화합물을 이루고 있기 때문에 흡수작용 이 서서히 일어나 카페인을 과잉 섭취했을 때 나타나는 정신 불안 등의 부작용이 나타나지 않는다고 알려져 있다(21).

²⁾300C: control, no added enzyme, but reacted for 300 min at 45°C.

효소처리가 폴리페놀류 함량에 미치는 영향

녹차 생엽으로부터 녹차성분 추출률 향상 및 고품질의 녹 차 추출물을 얻기 위해 효소처리 조건을 달리하여 제조한 녹차 추출물의 폴리페놀류 함량에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. 총폴리페놀 함량은 효소 첨가량이 증가하고 효 소처리 온도가 높아짐에 따라 그리고 효소처리 시간이 경과 함에 따라 증가하였으나 효소처리 농도 0.08% 이상, 효소처 리 온도 45°C 그리고 효소처리 시간 180 min 이상에서는 더 이상 증가하지 않음을 알 수 있었다. 총카테킨 함량 또한 총폴리페놀과 유사한 경향을 보였으며 효소처리 온도 25°C 에서 159.06 mg/100 mL, 45°C에서 220.63 mg/100 mL 함유 되어 약 1.39배 정도 증가하였고, 효소처리 시간 120 min까 지 증가하다 120 min 이상에서는 214 mg/100 mL로 거의 증가하지 않았다. 녹차에 함유된 free phenolic acid의 주요 성분인 gallic acid 함량은 대조구에 32.51 g/100 mL 함유되 어 있었으며 효소처리 농도 0.04%까지 증가하다 그 이상에 서는 44.16~45.28 mg/100 mL로 거의 변화가 없었다. 효소 처리 온도에 따른 영향은 25°C 36.78 mg/100 mL에서 50°C 45.99 mg/100 mL로 온도가 높아짐에 따라 gallic acid의 함량 도 증가하였고, 효소처리 시간 60 min 이후에서는 45.12~ 46.78 mg/100 mL로 60 min 이내에 gallic acid가 모두 용출되 었음을 알 수 있었다. 또한 대조구를 45°C에서 300 min 동안 반응시킨 후의 gallic acid 함량은 34.90 mg/100 mL로 반응전 의 대조구 32.51 mg/100 mL와 큰 차이가 없는 것으로 보아 효소처리에 의해 gallic acid 함량이 증가하였음을 알 수 있었 다. 이는 카테킨류 중 gallovl moiety를 가지고 있는 epigallocatechin gallate(EGCg)와 epicatechin gallate(ECg)의

Table 3. Contents of total polyphenol, total catechins and gallic acid in green tea extract according to enzyme treatment conditions

ment conditions				
	Content (mg/100 mL)			
	Total polyphenol	Total catechins	Gallic acid	
Control	252.42 ± 1.92	136.92 ± 2.50	32.51 ± 0.98	
Concentration (%)				
0.01	$297.82 \pm 1.67^{\text{d1}}$	178.61 ± 1.18^{d}	39.29 ± 1.12^{b}	
0.04	303.15 ± 1.49^{c}	$192.34 \pm 1.62^{\circ}$	44.77 ± 1.09^{a}	
0.08	313.23 ± 1.12^{a}	$200.72 \pm 2.57^{\mathrm{b}}$	44.16 ± 0.42^{a}	
0.10	313.97 ± 1.72^{a}	214.46 ± 2.26^{a}	45.28 ± 1.12^{a}	
0.12	$308.62 \pm 1.27^{\rm b}$	215.17 ± 1.51^{a}	44.98 ± 1.25^{a}	
Temperature (°C)				
25	288.23 ± 1.95^{d}	$159.06 \pm 1.98^{\rm e}$	36.78 ± 0.10^{d}	
30	294.47 ± 2.77^{c}	$165.05 \pm 1.04^{\rm d}$	39.61 ± 1.14^{c}	
37	$330.65 \pm 1.94^{\rm b}$	199.96 ± 2.48^{c}	43.06 ± 1.20^{b}	
45	340.12 ± 1.46^{a}	$220.63 \pm 1.64^{\mathrm{b}}$	44.65 ± 0.92^{a}	
50	340.09 ± 1.98^a	229.85 ± 1.71^{a}	45.99 ± 0.46^{a}	
Time (min)				
60	310.62 ± 1.85^{b}	203.63 ± 2.08^{b}	45.12 ± 1.20	
120	313.95 ± 2.05^{b}	214.40 ± 1.20^{a}	45.53 ± 0.87	
180	321.51 ± 2.15^{a}	214.91 ± 2.50^{a}	46.18 ± 0.95	
240	321.42 ± 1.95^{a}	214.61 ± 2.27^{a}	46.15 ± 0.57	
300	320.35 ± 2.21^a	215.88 ± 2.62^{a}	46.78 ± 1.21	

¹⁾Data expressed as green tea extract basis and presented as means of three replicates±standard deviations. Means with the same superscript in each column were not significantly different (p<0.05).

효소가수분해에 의해 gallic acid가 생성된 것으로 판단되며 Battestin 등(22)이 표준품 EGCg를 tannase 처리시 EGCg는 감소하고 gallic acid는 증가하였다는 보고와도 일치하였다. 녹차 카테킨의 주요성분인 유리형 epicatechin(EC), epi-

Table 4. Changes of major catechin contents in green tea extract according to enzyme treatment conditions

	Content (mg/100 mL)				
	EGC	EC	ECg	EGCg	
Control	90.56 ± 2.77	10.93 ± 3.02	9.66 ± 0.67	6.07 ± 1.35	
Concentration (%)					
0.01	$102.25 \pm 0.20^{\text{cl}}$	24.46 ± 0.15^{c}	$14.96 \pm 0.78^{\mathrm{b}}$	$11.77 \pm 0.82^{\mathrm{b}}$	
0.04	$109.17 \pm 1.03^{\rm b}$	27.63 ± 0.59^{b}	$16.00 \pm 0.52^{\mathrm{ab}}$	12.79 ± 0.66^{ab}	
0.08	$110.94 \pm 1.50^{\mathrm{b}}$	$28.17 \pm 0.59^{\mathrm{ab}}$	$17.91 \pm 0.94^{\rm a}$	14.90 ± 1.12^{a}	
0.10	115.32 ± 1.28^{a}	30.03 ± 1.09^{a}	17.86 ± 0.89^{a}	15.01 ± 1.24^{a}	
0.12	$102.08 \pm 2.48^{\circ}$	$24.39 \pm 0.92^{\circ}$	$15.91 \pm 1.28^{\mathrm{ab}}$	$13.68 \pm 1.46^{\mathrm{ab}}$	
Temperature (°C)					
25	$93.94 \pm 0.83^{\circ}$	21.83 ± 0.89^{b}	$12.15 \pm 1.25^{\rm d}$	$6.69 \pm 1.23^{\mathrm{bc}}$	
30	$101.58 \pm 1.82^{\mathrm{b}}$	$23.88 \pm 0.67^{\mathrm{b}}$	$11.42 \pm 0.80^{\rm cd}$	6.02 ± 0.43^{c}	
37	$119.13 \pm 1.14^{\mathrm{a}}$	31.24 ± 1.13^{a}	$14.95 \pm 1.12^{\mathrm{bc}}$	7.28 ± 1.18^{bc}	
45	116.13 ± 1.98^{a}	31.25 ± 0.91^{a}	$16.63 \pm 1.35^{\mathrm{b}}$	$9.16 \pm 1.05^{\mathrm{b}}$	
50	117.19 ± 0.62^{a}	32.17 ± 0.13^{a}	23.96 ± 1.26^{a}	24.76 ± 1.57^{a}	
Time (min)					
60	114.62 ± 1.51	30.08 ± 1.15	17.46 ± 0.75	$12.43 \pm 0.84^{\mathrm{b}}$	
120	117.32 ± 1.72	31.43 ± 1.54	18.86 ± 1.06	16.09 ± 1.06^{a}	
180	116.65 ± 1.55	31.67 ± 0.69	19.86 ± 1.34	16.51 ± 1.12^{a}	
240	114.09 ± 2.90	32.84 ± 1.09	19.81 ± 1.03	16.83 ± 1.12^{a}	
300	113.36 ± 1.47	29.76 ± 1.58	20.01 ± 1.29	13.41 ± 2.02^{ab}	

¹⁾Data expressed as green tea extract basis and presented as means of three replicates \pm standard deviations. Means with the same superscript in each column were not significantly different (p<0.05).

gallocatechin(EGC)와 ester형 EGCg, ECg 등 4종류 카테킨 에 대한 분석 결과는 Table 4에 나타낸 바와 같이 모든 시험 구에서 EGC, EC, EGg 및 EGCg의 순으로 함유되어 있었고 온화한 떫은맛과 음용 시 후미에 감미를 나타내는 성분으로 알려져 있으며 항산화력이 매우 강한 것으로 보고(23)되어 있는 EGC가 전체의 60% 이상을 차지한 것으로 나타났다. Lekha와 Lonsane(24)에 의하면 1 mole의 ECg나 EGCg가 tannase 처리에 의해 각각 1 mole의 EC, EGC와 1 mole의 gallic acid로 분해되어 EC, EGC 및 gallic acid의 함량은 증 가하고 ECg와 EGCg의 함량은 감소된다고 보고하였으나 본 실험에서 사용한 복합효소 Rapidase TF 처리에 의한 개별 카테킨의 영향을 살펴보면 효소 무처리구 또한 EGC와 EC 의 함량이 높고 ECg와 EGCg의 함량이 상대적으로 매우 낮 은 것으로 보아 효소 이외의 다른 영향이 있는 것으로 판단 되며 이에 대한 명확한 규명을 위해서는 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

요 약

녹차 생엽으로부터 고품질의 녹차 추출물을 얻기 위해 복 합효소 Rapidase TF를 이용하여 효소처리 농도, 효소처리 시간 및 효소처리 온도를 달리하여 실시한 후 80°C에서 30 min 간 가열한 추출액의 이화학적 성분 특성을 조사하였다. 효소처리에 의해 유리당 함량은 모든 처리구에서 증가하는 경향을 보였으며 특히 glucose의 함량은 대조구에 비하여 최대 7.25배 증가하는 것으로 나타났다. 총아미노산은 효소 처리에 의한 영향이 거의 없었으며, 카페인 함량은 효소처리 온도가 높아짐에 따라 증가하였다. 총폴리페놀 및 총카테킨 함량은 효소 첨가량이 증가하고 효소처리 온도가 높아짐에 따라 증가하였으며, 카테킨 조성은 효소처리 조건에 관계없 이 EGC, EC, ECg 및 EGCg의 순으로 함유되어 있었다. Gallic acid 함량은 효소처리 농도 0.04%, 효소처리 온도 45℃까지 증가하다 그 이상에서는 변화가 거의 없었다. 이상 의 결과로부터 증열 처리된 녹차 생엽에 복합효소 Rapitase TF를 0.08~0.1% 첨가 후 37~45℃로 180~240 min 처리함 에 의해 기존의 복잡한 가공공정을 거치지 않고 생엽에서 바로 추출이 가능하도록 함에 따라 공정이 간단하고 녹차성 분 추출률이 향상된 새로운 형태의 차 추출물 제조방법이 될 수 있을 것으로 사료되었다.

문 헌

- 1. Kim JT. 1996. Science and culture of tea. Borimsa Publishing Co., Seoul, Korea.
- Nakabayashi T, Ina K, Sakata K. 1994. Chemistry and function of green, black and oolong tea. Kogagu Press, Kawasaki, Japan.
- 3. Miao YL, Shi LH, Lei ZL, Huang JC, Yang JW, Yang YC, Sun QY, Chen DY. 2007. Effect of caffeine on in vivo and in vitro oocyte maturation in mice. *Theriogenology* 68: 640–645.

- Higgins GA, Grzelak ME, Pond AJ, Cohen-Williams ME, Hodgson RA, Varty GB. 2007. The effect of caffeine to increase reaction time in the rat during a test of attention is mediated through antagonism of adenosine A_{2A} receptors. Behav Brain Res 185: 32–42.
- 5. Keast RS, Riddell LJ. 2007. Caffeine as flavor additive in soft-drinks. *Appetite* 49: 255–259.
- Matsuzaki TL, Hara Y. 1985. Antioxidative activity of the leaf catechins. J Agric Chem Soc Japan 59: 129-134.
- 7. Yoshioka H, Sugiura K, Kawahara R, Hujita T, Makino M, Kamiya M, Tsuyumu S. 1991. Formation of radicals and chemiluminescence during the autoxidation of the catechins. *Agric Biol Chem* 55: 2717–2723.
- 8. Song JM, Park KD, Lee KH, Byun YH, Park JH, Kim SH, Kim JH, Seong BL. 2007. Biological evaluation of anti-influenza viral activity of semi-synthetic catechin derivatives. *Antivir Res* 76: 178–185.
- Khan SM, Kour G. 2007. Subacute oral toxicity of chlorpyriphos and protective effect of green tea extract. *Pestic Biochem Phys* 89: 118–123.
- Mohan KV, Gunasekaran P, Varalakshmi E, Hara Y, Nagini S. 2007. In vitro evaluation of the anticancer effect of lactoferrin and tea polyphenol combination on oral carcinoma cells. *Cell Biol Int* 31: 599–608.
- 11. Higdon JV, Frei B. 2003. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43: 89–143.
- Tang S, Kerry JP, Sheehan D, Buckley DJ, Morrissey PA. 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Food Res Int* 34: 651–657.
- Lee JW, Do JH. 2005. Market trend of health functional food and prospect of ginseng market. J Ginseng Res 29: 206– 214.
- Wang L-F. 2000. Effects of processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *PhD Dissertation*. Cornell University, NY. p 13–14.
- Ikegaya K, Takayanagi H, Anan T. 1990. Quantitative analysis of tea constituents. Bull Natl Res Tea 71: 43-74.
- Lee LS, Cha HS, Park JD, Jang DJ, Kim SH. 2008. Physicochemical properties of mushroom (*Flammulina ve-lutipes*) cultivated with green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 190–194.
- 17. SAS/STATTM User's Guide Release. 1988. SAS Institute, Carv, NC, USA.
- Kim CM, Choi JH, Oh SK. 1983. Chemical change of major tea constituents during tea manufacture. J Korean Soc Food Nutr 12: 99–104.
- 19. Lu MJ, Chen C. 2008. Enzymatic modification by tannase increases the antioxidant activity of green tea. *Food Res Int* 41: 130–137.
- Kim SH, Han DS, Park JD. 2004. Changes of some chamical compounds of Korean (Posong) green tea according to harvest periods. Korean J Food Sci Technol 36: 542-546.
- 21. Kirishnamurthi KK. 1993. Proceedings of international seminar on green tea. Korean Society of Food Science and Technology. Seoul, Korea.
- Battestin V, Macedo GA, De Freitas VAP. 2008. Hydrolysis of epigallocatechin gallate using a tannase from *Paecilo-myces variotii*. Food Chem 108: 228–233.
- 23. Chen ZY, Chan PT. 1996. Antioxidant activity of green tea catechins in canola oil. *Chem Phys Lipids* 82: 163–172.
- Lekha PK, Lonsane BK. 1997. Production and application of tannin acyl hydrolase. Adv Appl Microbiol 44: 215–260.

(2008년 6월 3일 접수; 2008년 8월 8일 채택)