

국내 시판 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 폴리페놀 함량, 항산화 및 아세틸콜린에스터레이스 저해 효과

정창호 · 강수태¹ · 주옥수² · 이승철³ · 신영희 · 심기환 · 조성환 · 최성길 · 허호진[†]
경상대학교 대학원 응용생명과학부 · 농업생명과학연구원, ¹부경대학교 식품생명공학부
²진주산업대학교 식품과학과, ³경남대학교 식품생명학과

Phenolic Content, Antioxidant Effect and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Korean Commercial Green, Puer, Oolong, and Black Teas

Chang-Ho Jeong, Su-Tae Kang¹, Ok-Soo Joo², Seung-Cheol Lee³, Young-Hee Shin,
Ki-Hwan Shim, Sung-Hwan Cho, Sung-Gil Choi and Ho Jin Heo[†]

*Division of Applied Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*

¹*Department of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

²*Department of Food Science and Technology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea*

³*Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea*

Abstract

The phenolic contents, antioxidant effects, and acetylcholinesterase inhibitory activities of hot water extracts prepared from various Korean commercial teas (green tea, puer tea, oolong tea, and black tea) were investigated. Total phenolic contents were in the range 72.03-85.62 mg/g. Flavonol contents of hot water extracts from green tea, puer tea, oolong tea, and black tea were 350.96, 254.17, 334.48, and 240.23 mg/100 g, respectively. Catechin contents were 2,920.35 mg/100 g in green tea, 1,016.23 mg/100 g in puer tea, 2,824.22 mg/100 g in oolong tea, and 1,006.51 mg/100 g in black tea. The highest caffeine content was in the green tea extract. All four extracts scavenged ABTS^{·+} radicals in a concentration-dependent manner, and the green tea extract was the most potent in this regard. The highest reducing power was observed in the green tea extract. All four extracts exhibited considerable antioxidative activities in linoleic acid autoxidation, β -carotene bleaching, and acetylcholinesterase inhibition assays; the effects were concentration-dependent and decreased in the order green tea > oolong tea > puer tea > black tea.

Key words : phenolics, antioxidative activities, acetylcholinesterase, Korean commercial various tea

서 론

차나무(*Camellia sinensis* L)는 동백과(Theaceae)에 속하는 다년생 상록 관목수로 북위 35° 이하 지방에서 주로 재배되고 있으며, 우리나라에서는 신라 27대 선덕여왕(A.D 632~647년)때에 당나라에서 차를 가져와 마셨으며, 200년 후인 42대 흥덕왕 3대(A.D 828년) 지리산에 차를 심어 재배

하기 시작했다(1,2). 현재 차는 커피, 카카오와 함께 세계 3대 기호음료로서 세계 각국에서 음용되어 왔고, 특히 국내에서 재배되고 있는 녹차의 음용인구가 매년 증가하는 추세이다. 차가 중요한 기호음료로서 발전해 온 가장 큰 이유는 여러 민족의 구미에 맞는 대중적인 기호성을 가지고 있을 뿐만 아니라 생체의 복잡한 생명활동을 조절하는 식품의 3차 기능으로서 생체리듬의 조절, 면역력의 증진, 질병의 예방이나, 회복, 노화 억제 등의 신체조절 기능을 갖는 기능성 식품으로서 중요성이 새삼 강조되고 있기 때문이다(3).

[†]Corresponding author. E-mail : hjher@gnu.ac.kr,
Phone : 82-55-751-5476, Fax : 82-55-753-4630

차에는 비타민과 무기질의 영양소를 공급하는 기능과 맛과 향 등의 기호를 충족시키는 기능이 있는 것으로 알려져 있으며, 떫은 맛의 주성분인 catechin류 등은 그 유도체에 따라 epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate 및 epigallocatechin gallate 등으로 분류할 수 있다. 그리고, 쓴맛은 주로 각성작용, 이뇨작용, 피로회복작용 등이 있는 것으로 알려진 caffeine에 의한 것이며, 특유의 독특한 맛을 내는 성분은 theanine 성분으로서 이 중 glutamic acid의 ethylamide가 약 절반을 차지하고 이 외에 20여 종류의 아미노산이 함유되어 있다(4,5). 이들은 항암효과(6), 항혈전(7), 혈압강하(8), 중금속 제거작용(9), 항돌연변이(10), 혈소판 응집억제작용(11), 심장병 발생억제효과(12), 충치예방효과(13), 항산화작용(14), 차 향기성분의 기능성(15), 항당뇨(16), 중추신경활성화(17), 항천식 활성(18) 등 여러 가지 생리활성을 나타낸다고 보고되고 있다. 특히 non-gallate화합물인 epicatechin 및 epigallocatechin보다 gallate가 결합된 epicatechin gallate와 epigallocatechin gallate가 강한 항균작용이 있으며, epigallocatechin gallate는 또한 가장 강한 항산화력을 가지고 있다고 보고되고 있다. 이와 같이 차의 다양한 생리적 기능성 효과가 알려지면서 차 소비가 세계적으로 증가 추세에 있으며, 우리나라에서도 소득 향상과 더불어 건강에 대한 관심이 높아지면서 녹차 음용 인구가 증가하고 있고, 이에 따라 차 소비도 빠른 속도로 증가하고 있다. 연간 차 소비량은 1인당 50 g, 중국의 300 g, 일본의 900 g, 대만의 1,000 g에 비하면 미약하지만 이처럼 약리효과가 속속 밝혀지면서 연 15% 정도씩 꾸준히 늘고 있다. 그러나 국내에서 시판되고 있는 각종 차 열수추출물에 대한 폴리페놀, 항산화 활성 및 퇴행성 뇌신경질환효소 저해활성 연관성에 관하여 연구한 논문은 부족한 편이다.

따라서 본 연구에서는 국내 시판중인 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차에 함유되어 있는 flavonol 및 catechin류와 같은 폴리페놀화합물의 함량을 비교하고, 또한 열수 추출물을 이용하여 항산화 특성 및 acetylcholinesterase 저해활성에 관하여 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출액의 제조

본 실험에 사용된 4종의 잎차는 2008년 2월에 차를 전문으로 판매하는 온라인 판매처(Interpark Co. Korea)에서 구매하였으며, 녹차는 (주)햇차원에서 생산된 우전녹차, 보이차와 우롱차는 중국에서 생산된 팔덕명차 및 홍차는 스리랑카에서 생산된 akbar제품을 각각 사용하였다. 또한 추출물의 제조는 증류수 200 mL에 시료 10 g을 넣어(5%, v/w) 2시간 환류냉각 추출한 후 filter pape(Whatman No. 2. UK)로 여과 및 동결건조하여 항산화 및 퇴행성 뇌신경질환효소

저해 실험에 사용하였다.

총 페놀화합물 정량

차 추출물의 총 페놀 함량을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's 방법을 이용하였다(19). 추출 시료 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 7% Na₂CO₃ 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합 용액을 23°C에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm에서 absorbance를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 표준곡선을 이용하여 검량선을 작성하여 총 페놀 함량을 계산하였다.

Flavonol 분석

각종 차에 함유되어 있는 flavonol들을 분석하기 위하여 시료 2 g에 60% ethanol 40 mL와 6N-HCl 5 mL를 첨가하여 95°C 수욕상에서 환류 냉각 하에 2시간 동안 추출하였다. 이 추출물을 60% ethanol로 50 mL가 되도록 정용한 후 0.45 µm syringe filter로 여과하여 HPLC (Agilent 1100 series, USA)로 분석하였다. 표준품으로는 myricetin, quercetin 및 kaempferol을 사용하였다(20).

카테킨 및 카페인 분석

각종 차에 함유되어 있는 카테킨 및 카페인을 분석하기 위하여 시료 5 g에 증류수 100 mL를 첨가하여 95°C 수욕상에서 환류 냉각 하에 2시간 동안 추출하였다. 이 추출물에 동량의 ethyl acetate를 첨가, 혼합한 후 ethyl acetate층의 분리, 추출을 3회 반복하였다. 이 추출물을 감압농축한 후 시액 {0.2 M 인산완충액 (pH 3) : 메탄올 : D.W = 2 : 3 : 15, v/v} 10 mL에 완전히 용해시킨 후 0.45 µm membrane filter로 여과하여 HPLC (Agilent 1100 series, USA)를 이용하여 측정하였다. 사용한 HPLC 분석조건은 다음과 같다. 검출기는 DAD로 280 nm, 컬럼은 ODS (25 mm × 4.9 mm, 5 µm), 이동상은 methanol : acetic acid : acetonitrile : ddH₂O (20 : 5 : 113 : 862 = v/v/v/v) 및 유속은 1 mL/min로 분석하였다(21).

ABTS^{•+} 라디칼 소거활성

7 mM ABTS^{•+} 5 mL와 140 mM K₂S₂O₈ 88 µL를 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol 과 약 1 : 88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 조절한 ABTS^{•+} solution을 사용하였다. 시료용액 20 µL와 ABTS^{•+} solution 0.98 mL를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다(22).

Superoxide anion 라디칼 소거활성

Superoxide anion 라디칼 소거활성은 비효소적인 방법으로 생성시킨 라디칼을 시료가 제거하는 정도를 측정하였다(23). 0.1 M phosphate buffer 용액 (pH 7.4)에 용해하여 제조한 100 μ M nitroblue tetrazolium (NBT) 용액 1 mL, 468 μ M dihydro- nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 용액 1 mL, 시료용액 1 mL 및 60 μ M phenazine methosulfate (PMS) 용액 0.1 mL씩 혼합하여 30°C에서 15분간 반응시킨 뒤 560 nm에서의 흡광도 값을 측정하였다.

환원력

각종 차 열수추출물 2.5 mL에 sodium phosphate buffer (2.5 mL, 200 mM, pH 6.6)와 1% potassium ferricyanide (2.5 mL)를 혼합시킨 후 혼합물을 50°C에서 20분 동안 incubation 시킨 다음 trichloroacetic acid (2.5 mL, 10%, w/v)를 첨가하여 650 \times g에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리한 상정액 (5 mL)에 탈이온수 (5 mL)와 1% ferric chloride 1 mL를 첨가시킨 후 UV-spectrophotometer (Shimadzu UV- 1601, Japan)를 이용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다(24).

β -carotene bleaching activity

β -carotene linoleate system을 이용한 항산화 효과의 측정 은 Elzaawely 등의 방법을 변형하여 측정하였다(25). Chloroform 50 mL에 β -carotene 50 mg을 용해하여 β -carotene용액을 만든 후 β -carotene 용액 10 mL를 100 mL round bottom flask에 취하고 40°C rotary evaporator에서 진공상태로 하여 chloroform을 제거하였다. Chloroform을 제거한 100 mL round flask에 linoleic acid 40 mg, tween 40 400 mg 및 증류수 100 mL를 첨가하여 격렬히 진탕하여 emulsion용액을 제조하였다. 이 emulsion용액 4 mL에 추출물 (시료첨가구), 에탄올 (대조구) 및 positive control인 α -tocopherol과 BHA 용액 0.2 mL를 첨가하여 50°C incubator에서 저장하였다. 저장기간 중 0분에서 120분 동안 15분 간격으로 470 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = 1 - \left(\frac{A_0 - A_t}{A_0' - A_t'} \right) \times 100$$

A₀ : 시료첨가 후 최초 emulsion용액의 흡광도

A₀' : 시료대신 에탄올 첨가 후 최초 emulsion용액의 흡광도

A_t : 시료첨가 후 120분 경과한 emulsion용액의 흡광도

A_t' : 시료대신 에탄올 첨가 후 120분 경과한 emulsion용액의 흡광도

자동산화 억제활성

Cap test tube에 차 열수 추출물 (1 mL), linoleic acid (0.13 mL), 99.9% 에탄올 용액 (10 mL) 및 0.2 M phosphate buffer 용액 (pH 7.0, 10 mL)을 첨가한 뒤 증류수를 이용하여 총

부피가 25 mL가 되도록 조정하여 반응용액으로 사용하였다. 각 반응용액은 40°C에서 배양시킨 뒤 0.2 mL를 취하여 75% 에탄올 용액 (9.4 mL), 30% ammonium thiocyanate 용액 (0.2 mL) 및 20 mM ferrous chloride-3.5% HCl용액 (0.2 mL)을 가하고 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다(26).

Acetylcholinesterase저해 활성

Acetylcholinesterase저해 활성 측정은 acetylcholine iodide를 기질로 사용하는 Ellman법으로 측정하였다(27). 효소는 PC12 세포배양액 1 mL에 균질화를 위한 buffer (1 M NaCl, 50 mM MgCl₂, 1% Triton X-100 혼합액에 10 mM Tris-HCl로 pH 7.2로 조정) 5 mL를 첨가하여 Glass-Col homogenizer로 균질화한 후 균질화 된 세포배양액을 10,000 rpm에서 30분 동안 원심 분리하였으며, 그 상정액을 효소실험을 위하여 사용하였다. 모든 추출공정은 4°C에서 수행하였으며, 추출한 효소액의 단백질함량을 측정하기 위하여 BCA kit (bicin-choninic acid; Sigma Co., St. Louis, Mo, USA)를 이용하였고, bovine serum albumin으로 작성한 검량곡선에 준하여 함량을 환산하였다. 정제효소 (단백질 함량: 2.38 mg/mL) 10 μ L에 추출물 10 μ L를 넣어 37°C에서 15분간 반응시켰으며, 반응 혼합물에 50 mM sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 용해시킨 Ellman's reaction mixture [0.5 mM acetylthiocholine, 1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitro benzoic acid)] 70 μ L를 첨가한 후 405 nm에서 10분 동안 2분 간격으로 흡광도를 측정하였다.

통계처리

통계처리는 Window 용 SAS 8.0 version을 이용하여 분산 분석 (analysis of variance)을 실시하였으며, Duncan의 다중 범위검정법 (Duncan's multiple range test)으로 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

총 페놀화합물 함량

페놀성 화합물은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로 이들의 주요 역할은 자유 라디칼을 소거하는 것이라는 연구가 많이 보고되고 있으며, 또한 이러한 페놀성 화합물인 플라보노이드나 페놀산 및 안토시아닌 등의 총량인 총 페놀 화합물은 DPPH 라디칼 소거활성과 같은 항산화 활성에 매우 중요한 인자로 작용을 한다. 국내시판 중인 4종의 차 열수추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 녹차에서 85.62 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, 우롱차, 보이차 및 홍차 열수추출물에서 각각 83.52, 75.95 및 72.03 mg/g순으로 나타나 발효가 진행됨에 따라 총 폴리페놀 함량이 감소하는 경향을 보였다. Shon 등(28)

은 국내산 녹차와 후발효차 추출물의 총페놀 함량을 측정된 결과 녹차 열수추출물 35.7~46.8 g/100 g에 비하여 발효차 열수추출물에서 23.5~23.9 g/100 g으로 발효차의 총페놀 함량이 낮았다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

Table 1. Total phenolics content of hot water extracts from various tea

	Green tea	Puer tea	Oolong tea	Black tea
Total phenolics	85.62±0.32 ^{1)a2)}	75.95±0.83 ^c	83.52±0.24 ^{ab}	72.03±0.56 ^d

¹⁾The values are mean±SD of three experimental data.
²⁾Each value with different superscripts within the same row are significantly difference at p<0.05 by Duncan's multiple test.

Flavonol 함량

국내시판 중인 4종의 차 열수추출물의 플라보놀 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 국내 시판 차 열수추출물에 가장 많이 함유되어 있는 플라보놀 성분은 차의 종류에 관계없이 quercetin이었고, 그 함량은 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 추출물에서 각각 162.99, 113.97, 194.80 및 115.59 mg/100 g으로 우롱차에서 가장 높은 함량을 보였다. 총 플라보놀 함량에서는 녹차 열수추출물에 가장 많이 함유되어 있었으며, 우롱차, 보이차 및 홍차 열수 추출물 순이었다. Wang 등(20)은 녹차와 홍차의 플라보놀 함량을 측정하기 위하여 에탄올, 메탄올 및 아세톤과 같은 추출용매의 종류에 따른 추출수율을 측정된 결과 60% 에탄올 추출물에서 가장 높은 추출수율을 보였으며, 홍차에 비하여 녹차 추출물에서 플라보놀 함량이 높게 나타났고, 또한 추출횟수는 첫 번째 추출물에서 가장 높은 함량을 나타내었다고 보고하였다.

Table 2. Flavonols contents of hot water extracts from various tea

	Green tea	Puer tea	Oolong tea	Black tea
Myricetin	79.75±7.18 ^{1)a2)}	54.45±9.24 ^c	48.19±10.81 ^d	70.31±12.01 ^b
Quercetin	162.99±11.47 ^b	113.97±21.26 ^c	194.80±23.62 ^a	115.59±12.04 ^c
Kaempferol	108.22±12.10 ^a	85.75±21.69 ^{bc}	91.49±15.53 ^b	54.33±10.78 ^d
Total flavonols	242.74±34.28 ^a	168.42±53.94 ^c	242.99±55.89 ^b	185.9±33.17 ^d

¹⁾The values are mean±SD of three experimental data.
²⁾Each value with different superscripts within the same row are significantly difference at p<0.05 by Duncan's multiple test.

카테킨 및 카페인 함량

카테킨은 차 전체 가용성 성분의 절반을 차지하며, 맛, 색 및 향기 등에 큰 영향을 줄 뿐만 아니라 항산화 작용과 매우 깊은 상관관계를 나타내고 있다고 알려져 있다(29). 국내시판 중인 4종의 차 열수추출물의 카테킨 및 카페인 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 비발효차와 반발효차인 녹차와 우롱차에서는 epigallocatechin gallate가 각각 1,079.49와 1,157.84 mg/100 g으로 가장 많은 함량을 보였으며, 발효차인 보이차와 홍차에서는 epigallocatechin이 각각 337.54와 545.58 mg/100 g으로 가장 높았다. 위의 결과와 같이 발효의 진행 정도에 따라 주된 카테킨의 조성이 변화되는 현상을 보였으며, 또한 그 함량도 발효가 진행되면 진행될수록 카테킨류의 함량이 감소되는 경향을 보여 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물의 총 카테킨 함량은 각각 2,920.35, 1,016.23, 2,824.22 및 1,006.51 mg/100 g으로 녹차에서 가장 높은 함량을 보였다. Choi 등(30)은 국내산 야생차인 녹차, 반발효차 및 홍차의 카테킨 함량을 측정된 결과 EGCG의 함량이 가장 높았으며, ECG, EC, EGC 순으로 낮았으며, 중발효차와 강발효차의 총 카테킨 함량은 각각 9.14%와 7.84%로 녹차보다 현저하게 감소하였다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 결과를 보였다. 카페인 함량은 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차에서 각각 357.72, 304.06, 333.25 및 283.46 mg/100 g으로 발효가 진행될수록 카페인의 함량이 감소하는 경향을 보였다. Pilar Almajano 등(29)은 각종 차 추출물의 카페인 함량을 분석한 결과 홍차와 녹차 열수추출물의 카페인 함량은 각각 447±14.5와 515±20.1 mg/100 g로 홍차보다 녹차 열수추출물에서 높은 함량을 보여 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

Table 3. Catechins and caffeine contents of hot water extracts from various tea

	Green tea	Puer tea	Oolong tea	Black tea
Catechin	629.55±19.17 ^{5)a6)}	249.05±29.18 ^c	331.29±18.78 ^b	75.01±4.18 ^d
EC ¹⁾	335.68±21.73 ^b	188.47±16.51 ^c	253.25±19.90 ^b	102.59±8.46 ^d
ECG ²⁾	135.10±8.35 ^a	72.80±5.29 ^d	130.08±16.74 ^a	98.71±9.19 ^c
EGC ³⁾	740.53±28.94 ^b	337.54±19.72 ^d	951.76±32.88 ^a	545.58±27.65 ^c
EGCG ⁴⁾	1,079.49±69.86 ^{ab}	168.37±18.96 ^d	1,157.84±82.19 ^a	184.62±21.58 ^{cd}
Caffeine	357.72±10.28 ^a	304.06±10.83 ^{bc}	333.25±23.45 ^b	283.46±25.19 ^d
Total	3,278.07±131.27 ^a	1,320.29±86.48 ^{cd}	3,157.47±224.86 ^b	1,289.97±96.91 ^d

¹⁾Epicatechin. ²⁾Epicatechin gallate. ³⁾Epigallocatechin. ⁴⁾Epigallocatechin gallate.
⁵⁾The values are mean±SD of three experimental data.
⁶⁾Each value with different superscripts within the same row are significantly difference at p<0.05 by Duncan's multiple test.

ABTS^{•+} 라디칼 소거활성

국내시판 중인 4종의 차 열수추출물을 이용하여 ABTS^{•+} 라디칼 소거활성을 측정된 결과 Fig. 1과 같이 차 열수추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성과 유사하게 농도 의존적인 경향이였다. ABTS^{•+} 라디칼 소거활성 경향도 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물 순이었으며, 250 µg/mL의 농도에서 각각 92.09, 80.29, 82.67, 48.07%의 소거활성을 보였다. Lee(31)는 HPLC on-line ABTS^{•+} antioxidant screening 시스템을 이용하여 녹차의 항산화 활성을 분석한 결과 25°C에서 3분 추출한 시료에서는 EGCG, ECG, EGC 및 EC의 순으로 나타났으며, 추출효율 및 항산화효과가 높은 60°C에서 3분간 추출한 시료에서는 EGCG와 EGC순으로 항산화 활성이 나타났다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하게 EGCG와 EGC의 함량이 높은 시료인 녹차와 우롱차 추출물에서 높은 라디칼 소거활성을 나타내었다.

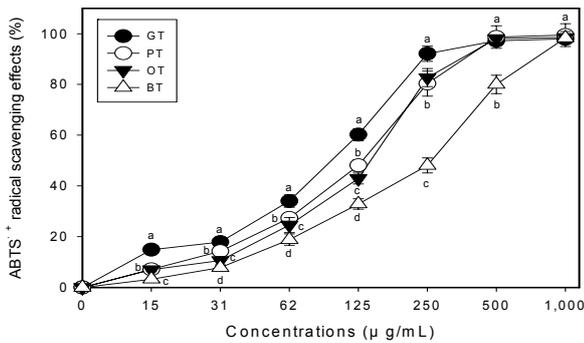


Fig. 1. ABTS^{•+} radical scavenging activities of hot water extracts from various tea.

GT ; Hot water extract of green tea, PT ; Hot water extract of puer tea, OT ; Hot water extract of oolong tea, BT ; Hot water extract of black tea.

Superoxide anion 라디칼 소거활성

국내시판 중인 4종의 차 열수추출물을 이용하여 superoxide anion 라디칼 소거활성을 측정된 결과 Fig. 2와 같이 차 열수추출물의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적인 경향이였으며, DPPH 및 ABTS^{•+} 라디칼 소거활성과 같은 250 µg/mL의 농도에서 각각 86.70, 75.48, 73.09 및 46.50%의 소거활성을 보여 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물 순이었으나 500 µg/mL의 농도 이상에서는 큰 차이를 보이지 않았다. Von-Gadow 등(32)은 다양한 실험방법에 의해 볶음차, 발효차, 반발효차인 녹차, 우롱차 및 홍차 열수추출물의 항산화 효과를 측정된 결과 녹차는 발효차나 반발효차보다 항산화작용이 우수하다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 결과를 보였다.

환원력

국내시판 중인 4종의 차 열수추출물의 농도를 달리하여 첨가한 후 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정된 결과는

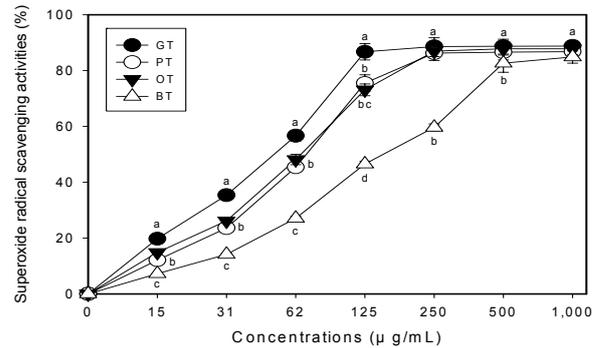


Fig. 2. Superoxide radical scavenging activities of hot water extracts from various tea.

Refer to the comment in Fig. 1.

Fig. 3과 같다. 환원력에서의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 항산화 활성을 가지는 물질은 흡광도의 수치가 높게 나타났다. 추출물의 농도가 점차적으로 증가함에 따라 환원력이 증가하는 경향을 보였으며, 녹차와 우롱차 열수추출물에서 가장 강한 환원력을 나타내었고, 다음으로 보이차 및 홍차 열수추출물 순이었다. 모든 농도에서 녹차, 우롱차 및 보이차 열수추출물에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 가장 많이 발효가 된 홍차에서 낮은 환원력을 나타내었다. Yen 등(33)은 녹차, 푸총차, 우롱차 및 홍차 4가지 차 열수추출물을 이용하여 환원력을 측정된 결과 농도 1 mg/mL에서 각각 2.47, 2.38, 2.75 및 1.32로 우롱차에서 가장 높은 환원력을 나타내었으며, 홍차에서 가장 낮은 환원력을 보였다고 보고하였다.

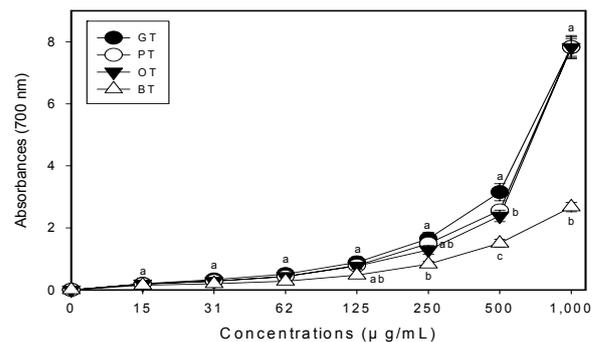


Fig. 3. Reducing power of hot water extracts from various tea.

Refer to the comment in Fig. 1.

β-carotene bleaching 저해활성

국내시판 중인 4종의 차를 열수로 추출하여 β-carotene linoleate system을 이용하여 추출물의 항산화 효과를 측정된 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 국내 시판차 열수추출물의 농도가 증가함에 따라 β-carotene 변색 방지효과도 점차적으로 증가하는 경향을 보였으며, 특히 1 mg/mL의 농도에서 positive control로 사용한 BHA와 α-tocopherol은 88.41%

와 87.55%의 활성을 보였고, 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물에서 각각 79.33, 77.20, 73.25 및 66.26% 순이었다. Von-Gadow 등(32)은 녹차, 우롱차 및 홍차 열수추출물의 β -carotene을 이용한 항산화 실험결과 녹차, 홍차 및 우롱차 순으로 항산화 활성을 나타내었다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다.

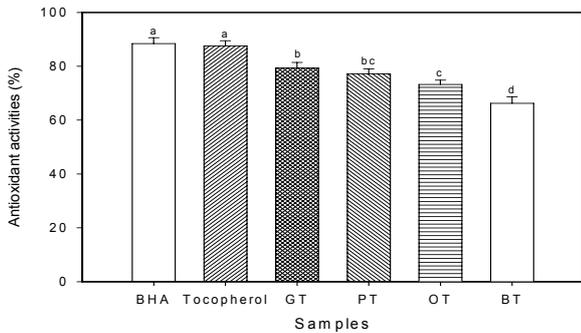


Fig. 4. Antioxidant activities of hot water extracts from various tea against β -carotene bleaching system.

Refer to the comment in Fig. 1.

Autoxidation 저해활성

국내 시판 차 4종의 열수추출물을 농도 1 mg/mL로 linoleic acid에 첨가하여 과산화지질의 생성억제효과를 측정한 결과 대조구에 비하여 모든 시판 차 열수추출물에서 과산화지질의 생성을 억제하는 효과를 나타내었으며, 또한 국내 시판 차 열수추출물의 종류에 따른 과산화지질 생성 억제 효과의 차이는 크게 보이지 않았다 (Fig. 5). Yen 등(33)은 녹차, 푸총차, 우롱차 및 홍차 4가지 차 열수추출물을 이용하여 linoleic acid의 산화억제활성을 측정한 결과 우롱차, 녹차, 푸총차 및 홍차 순으로 그 활성이 높게 나타났다고 보고하였으며, 이와 같은 항산화 활성은 차에 함유되어 있는 카테킨과 같은 폴리페놀 화합물의 함량과 매우 깊은 관련성을 가진다고 보고하였다.

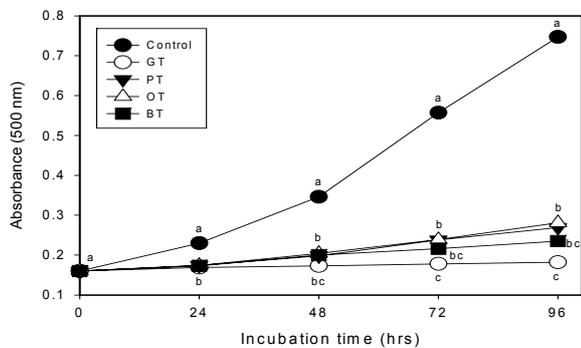


Fig. 5. Antioxidant activities of hot water extracts from various tea on the autoxidation of linoleic acid.

Refer to the comment in Fig. 1.

Acetylcholinesterase저해 활성

뇌조직의 모든 신경세포에서 발견되는 신경전달물질로서 acetylcholine (ACh)은 시냅스 (synapse)와 시냅스 사이의 신경전달에 관계하는 중요한 신경전달물질로 알려져 있다. 뇌신경계의 특정부위에서 ACh이 시냅스 전 말단에서 분비되면 그것이 시냅스 후 수용체와 결합하여 신경세포 사이의 자극을 전달한다. 그러나 제 2의 자극이 시냅스를 통해 전달하기 전에 제 1의 자극 시에 분비된 ACh은 acetylcholinesterase (AChE)에 의하여 가수분해 되어야한다. 그런데 ACh의 함량과 합성효소로서 choline acetyltransferase (ChAT)의 활성이 대부분의 사람 및 설치동물에서 연령과 함께 감소하는 것으로 알려져 있다. 또한 AChE의 활성도 ACh와 마찬가지로 감소한다는 사실도 밝혀지고 있다(34). 국내시판 차 4종의 열수추출물을 이용하여 AChE의 저해 활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 차 열수추출물의 농도가 증가함에 따라 AChE에 대한 저해활성도 비례적으로 증가하는 경향을 보였으며, 특히 1,000 μ g/mL의 농도에서 녹차 열수추출물이 73.75%의 높은 저해 활성을 보였고, 우롱차 (56.25%), 보이차 (48.75%) 및 홍차 열수추출물 (41.25%) 순이었다. 따라서 AChE의 저해활성도 역시 플라보놀 및 카테킨의 함량과 비례하는 결과를 보여 차에 함유되어 있는 개별 플라보놀 및 카테킨류를 이용한 AChE저해활성 평가도 필요할 것으로 생각된다.

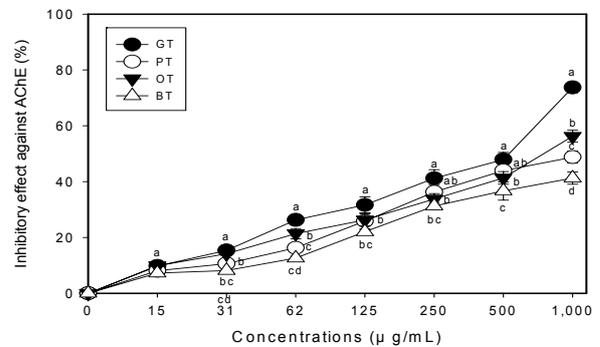


Fig. 6. Inhibitory effects against AChE of hot water extracts from various tea.

Refer to the comment in Fig. 1.

요 약

본 연구에서는 국내에서 시판되고 있는 4종류의 차 즉, 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물의 페놀성 화합물, 항산화 및 퇴행성 뇌신경질환 저해활성에 대하여 조사하였다. 시판 차 열수추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 72.03~85.62 mg/g이었으며, 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차 열수추출물의 총 플라보놀 함량은 각각 350.96, 254.17, 334.48 및 240.23 mg/100 g이었다. 녹차, 보이차, 우롱차

및 홍차 열수추출물의 총 카테킨 함량은 각각 2,920.35, 1,016.23, 2,824.22 및 1,006.51 mg/100 g이었으며, 카페인함량은 녹차 열수추출물에서 가장 높은 함량을 보였다. ABTS + 라디칼 소거활성도 농도 의존적인 경향을 보였으며, FRAP은 다른 차 열수추출물에 비하여 녹차 열수추출물에서 가장 높게 나타났다. β -carotene과 linoleic acid system을 이용하여 측정된 항산화 활성 및 퇴행성 뇌신경질환효소 억제활성도 녹차 열수추출물에서 가장 높은 효과를 보였다. 따라서 시판 차 4종의 열수추출물을 이용하여 항산화 및 퇴행성 뇌신경질환효소 억제활성을 측정한 결과 녹차 열수추출물이 가장 높은 활성을 보였으며, 홍차 열수추출물이 가장 낮게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2007년 농림수산식품부 농림기술개발사업과 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-521-F00074) 결과로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Kim, D.Y. (1989) The status and prospect of Korean green tea. *Food Science Ind.*, 22, 2-12
- Lee, S.U. (1984) The history of Korean food. Gyomunsa, p.240
- Kim, S.H., Park, J.D., Lee, L.S. and Han, D.S. (1999) Effect of pH on the green tea extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 31, 1024-1028
- Kang, S.T., Yoo, U.H., Nam, K.H., Kang, J.Y. and Oh, K.S. (2007) Antioxidative effects of green tea extract on the oxidation of Anchovy oil. *J. Agric. Life Sci.*, 41, 47-53
- Rah, H.H., Baik, S.O., Han, S.B. and Bock, J.Y. (1992) Improvement of analytical method for catechins in green tea. *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, 35, 276-280
- Chung, F.L., Schwartz, J., Herzog, C.R. and Yang, Y.M. (2003) Tea and cancer prevention, Studies in animals and humans. *J. Nutr.*, 133, 3268S-3274S
- Hodgson, J.M., Puddy, I.b., Burke, V., Beilin, L.J., Mori, T.A. and Chan, S.Y. (2002) Acute effects of ingestion of black tea on post prandial platelet aggregation in human subjects. *Br. J. Nutr.*, 87, 141-145
- Abe, Y., Umemura, S., Sugimoto, K.I., Kirawa, N., Kato, Y., Yokoyama, N., Yokoyama, T., Iwai, J. and Ishii, M. (1995) Effect of green tea rich in γ -aminobutyric acid on blood pressure of dahl salt-sensitive rats. *American J. Hypertension*, 8, 74-79d
- 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
- Feng, Q., Torii, Y., Uchida, K., Nakamura, Y., Hara, Y. and Osawa, T. (2002) Black tea polyphenols, theaflavins, prevent cellular DNA damage by inhibiting oxidative stress and suppressing cytochrome p450 1A1 in cell culture. *J. Agric. Food Chem.*, 1, 213-220
- Muramatsu, K., Fukuyo, M. and Hara, Y. (1986) Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitamonol.*, 32, 613-622
- Ishikawa, T., Suzukawa, M., Ito, T., Yoshida, H., Ayaori, M., Nishiwaki, M., Yonemura, A., Hara, Y. and Nakamura, H. (1997) Effect of tea flavonoid supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66, 261-266
- Sakanaka, S., Kim, M., Taniguchi, M. and T, Yamamoto. (1989) Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2307-2311
- Rhi, J.W and Shin, H.S. (1993) Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25, 759-763
- Kubo, I., Muroi, H. and M. Himejima. (1992) Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 245-248
- Lee, B.R., Koh, K.O. and Park, P.S. (2007) Antihyperglycemic effects of green tea extract on alloxan-induced diabetic and OLETF rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 36, 696-702
- Mandel, S.A., Avramovich-Tirosh, Y., Reznichenko, L., Zheng, H., Weinreb, O., Amit, T. and Youdim, M.B. (2005) Multifunctional activities of green tea catechins in neuroprotection. Modulation of cell survival genes, iron-dependent oxidative stress and PKC signalling pathway. *Neurosignals*, 14, 46-60
- Shiral, T., Reshad, K., Yoshitomi, A., Chida, K., Nakamura, H. and Taniguchi, M. (2003) Green tea-induced asthma: relationship between immunological reactivity, specific and non-specific bronchial responsiveness. *Clin. Exp. Allergy*, 33, 1252-1255
- Kim, D.O., Jeong, S.W. and Lee, C.Y. (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. *Food Chem.*, 81, 321-326

20. Wang, H. and Helliwell, K. (2001) Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography. *Food Res. Int.*, 34, 223-227
21. Bae, S.K., Lee, Y.C. and Kim, H.W. (2001) The browning reaction and inhibition of apple concentrated juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30, 6-13
22. Fellegrini, N., Ke, R., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.*, 299, 379-389
23. Nishimiki, M., Rao, N.A. and Yagi, K. (1972) The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. *Bioch. Biophys. Res. Comm.*, 46, 849-853
24. Oyaizu, M. (1986) Studies on products of browning reaction: antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315
25. Elzaawely, A.A., Xuan, T.D. and Tawata, S. (2005) Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* HOUTT. aerial parts. *Biol. Pharm. Bull.*, 28, 2225-2230
26. Lee, J.Y., Hwang, W.I. and Lim, S.T. (2004) Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. *J. Ethnopharmacol.*, 93, 409-415
27. Ellman, G.L., Doustney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88-95
28. Shon, M.Y., Kim, S.H., Nam, S.H., Park, S.K. and Sung, N.J. (2004) Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. *J. Life Science*, 14, 920-924
29. Pilar Almajano, M., Rosa Carbó, Angel López Jiménez J., Gordon, M.H. (2008) Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem.*, 108, 55-63
30. Choi, O.J. and Choi, K.H. (2003) The physicochemical properties of Korean wild teas (Green tea, Semi-fermented tea, and Black tea) according to degree of fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 356-362
31. Lee, K.J. (2008) Antioxidant activity analysis of catechin compounds in Korean green tea using HPLC on-line ABTS⁺ antioxidant screening system. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 23, 96-100
32. Von-Gadow, A., Joubert, E. and Hansmann, C.F. (1997) Comparison of the antioxidant activity of roibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem.*, 60, 73-77
33. Yen, G.C. and Chen, H.Y. (1995) Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 27-32
34. Choi, J.H., Kim, D.I., Park, S.H., Baek, S.J., Kim, N.J., Cho, W.K., Kim, K.J. and Kim, H.S. (2004) Effects of pine needle ethyl acetate fraction on acetylcholine(ACh) and its related enzymes in brain of rats. *Korean J. Nutr.*, 37, 95-99

(접수 2008년 12월 2일, 채택 2009년 3월 13일)