

## 분말녹차 추출물의 항산화 활성에 미치는 수분활성도 및 저장온도의 효과

최귀남 · 정창호 · 김지혜 · 광지현 · 신영희 · 이승철<sup>1</sup> · 조성환 · 최성길 · 허호진<sup>†</sup>  
경상대학교 대학원 응용생명과학부 · 농업생명과학연구원, <sup>1</sup>경남대학교 식품생명학과

### Effect of Storage Temperature and Water Activity on Antioxidant Activities of Powdered Green Tea Extracts

Gwi-Nam Choi, Chang-Ho Jeong, Ji-Hye Kim, Ji-Hyun Kwak, Young-Hee Shin,  
Seung-Cheol Lee<sup>1</sup>, Sung-Hwan Cho, Sung-Gil Choi and Ho-Jin Heo<sup>†</sup>

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

<sup>1</sup>*Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea*

#### Abstract

The antioxidant properties of green tea leaves and powder extracts were determined using several tests including estimation of reducing power, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical-scavenging activity, and FRAP(Ferric reducing/antioxidant power) assay. All tests indicated that extracts of green tea powder had higher antioxidant activities than extracts of green tea leaves, and the activities were concentration-dependent. However, each test yielded somewhat different results with respect to storage conditions. The reducing power of green tea leaves was highest at 1,000 µg/mL, storage at 4°C, and an Aw(water activity) value of 0.23. However, the reducing power of green tea powder, assayed at 1,000 µg/mL, was high under all storage conditions(with variations in temperature and Aw), and was about 1.5 - 2-fold greater than that of green tea leaves. Radical-scavenging activity, as assessed by the DPPH assay, increased in a dose-dependent manner over the range 15~125 µg/mL. At higher concentrations, activities were 80~90% of maximal were attained. The FRAP activity of green tea extract also increased with rising concentration. Particularly in the case of green tea leaves, antioxidant activity was most greatest with storage at -20°C and Aw values of 0.69 and 0.23 when assayed at a concentration of 1,000 µg/mL. These results indicate that the most important factor during storage of green tea is not the Aw value but rather temperature, and that use of refrigeration(4°C) is preferable to increase or maintain the antioxidant activities of biological components in green tea.

**Key words** : green tea, antioxidant activities, storing conditions

#### 서 론

유산소 호흡을 하는 모든 생명체는 정상적인 대사과정에 서 라디칼과 활성 산소를 생성한다. 즉, 미토콘드리아 내의 호흡이나 단핵 세포의 작용, 여러 효소들의 반응에 의해 자연적으로 발생하게 되며 이러한 활성 산소는 그 자체로 화학적 친화력이 크기 때문에 모든 세포 성분과 반응하여 세포의 구조적, 기능적 변화를 가져온다(1-4). 생물학적 반

응으로 생성된 free radical을 제거시켜 생체를 보호하는 생리적 항산화 효소로는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione-peroxidase(GSHpx) 및 glutathione S-transferase(GST) 등이 있으며, 저분자로써 항산화제 혹은 free radical scavenger 역할을 하는 것으로 tocopherol, β-carotene, ascorbic acid 및 glutathione 등이 알려져 있다(5). 이와 같이 인체는 식이로 섭취하는 항산화 식품이나 인체 내의 항산화 효소로서 활성산소의 유리를 제거하여 산화-항산화 균형을 유지하여 산화적 스트레스로부터 인체를 보호하고 있다(6).

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : hjher@gnu.ac.kr,  
Phone : 82-55-751-5476, Fax : 82-55-753-4630

최근 자연계에 존재하는 다양한 동식물 및 미생물로부터 얻어지는 각종 유용성분들 중에서 특히 인체의 생리 기능 조절이나 항상성 유지에 관여하여 질병예방과 노화억제 등 건강을 유지하는데 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀진 각종 식품소재를 찾는 것이 식품산업의 새로운 연구목표로 부각되고 있다(7). 특히 다류 소비가 급증하고 식물류 중에 들어 있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아지면서 국내·외적으로 이들 생리활성 성분을 함유한 신소재 식물들을 다류의 원료로 사용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다(8).

녹차나무(*Camellia sinensis* L.)는 다년생 상록 관목수로 좋은 영양성분과 약리적 성분을 함유하고 있을 뿐 아니라 기호성이 뛰어나 오랜 식용의 역사와 함께 문화생활의 한 부분이 되어왔으며(9), 국내에서 재배되고 있는 녹차의 음용인구는 매년 20% 이상 증가하여 우리 전통차의 계승, 발전과 외래차의 유입에 따른 외화소비를 막고자 차에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(10). 녹차는 polyphenol, 섬유질, 단백질, 탄수화물, 유리당, 지방, 유리아미노산, peptide, caffeine, 무기질 및 유기산 등으로 구성되어 있고(11) 녹차의 성분 중 가장 많이 함유되어 있는 성분으로 polyphenol은 건량의 20~35%를 차지하고 있으며, 종류로는 flavonoid와 이의 유도체인 flavanol, flavanones, anthocyanidins, flavones, flavonols 그리고 polyphenolic acid 등이 있다. 특히 polyphenol의 90% 이상이 flavonoid의 유도체 중 단량체인 flavan 3-ol로 가장 많은 양을 차지하며, 이 단량체 flavan 3-ol을 catechin류라고 명명한다. 주요 catechin류로는 EC((-)-Epicatechin), ECG((-)-Epicatechingallate), EGC((-)-Epigallocatechin), EGCG((-)-Epigallocatechin gallate), GC(gallocatechin) 등이 있다(12). 이 중 함량이 많은 EGCG 및 ECG는 떫은맛이 강하고 단백질과의 결합을 지표로 할 때 활성치가 크다. 이들 성분들은 품종, 기온, 일조량 등에 따라 차이가 있어 여름철에 채취한 녹차에서 함량이 높다고 알려지고 있으며(13) 특히 EGCG는 암 증식효과 억제 및 항산화 효과가 좋은 것으로 알려져 있다(14).

녹차의 생리활성에 관한 연구로는 항산화작용(8), 아밀로이드베타 펩타이드 유도성 신경세포독성 보호효과(10), 혈중콜레스테롤저하(15), 항암작용(16) 등이 있다. 물리화학적 영향에 의한 녹차의 안정성에 대한 연구로는 변온 조건 하에서 녹차를 저장하였을 때 수분활성이 높고 저장온도가 높을수록 비효소적 갈변이 빠르게 진행되고(17), 분말 녹차의 저장 중 습도와 온도가 품질에 미치는 영향에 대해 조사된 바 있다(18). 이와 같이 수분 및 온도에 대하여 녹차의 유효성분 및 품질변화에 대한 연구가 이루어지고 있으나 잎녹차, 분말녹차로 구분하여 다양한 저장조건에 따른 항산화 활성의 차이를 조사한 체계적인 연구는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 잎녹차, 분말녹차를 수분활성도 0.81, 0.69 및 0.23 조건에서 각각 상온, 냉장 및 냉동(25°C, 4°C 및 -20°C)상태로 3개월 동안 저장하면서

잎과 분말녹차 열수추출물의 항산화 활성 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 잎녹차와 분말녹차는 경남 하동군 약양면 소재 (주)햇차원에서 제조하였으며(2008년 4월 중순 채취), 분말녹차는 녹차 잎을 분쇄하여 100 mesh sieve를 통과시켜 제조하였다. 항산화 실험을 위한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), potassium ferricyanide, trichloroacetic acid, ferric chloride, 2,4,6-tripyridyl-S-triazine(TPTZ)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 그 외의 시약들은 모두 분석용 등급을 사용하였다.

### 저장조건 및 추출물의 제조

수분활성도 0.81, 0.69 및 0.23 조건을 맞추기 위해 밀폐용기(1.4 L)에서 KCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>, KI, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 비율을 조정한 포화염 용액(650 mL)을 만들었으며, 잎녹차 분말녹차 20 g을 넣어 3개월 동안 상온, 냉장 및 냉동(25°C, 4°C, -20°C) 조건에서 각각 저장하였다. 녹차 열수추출물은 잎녹차, 분말녹차 2 g에 70°C의 증류수 100 mL를 첨가하여 5분간 추출한 후 No. 2 여과지(Whatman plc., Kent, UK)로 여과한 다음 진공농축기(EYELA Co., Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조(IIShin Lab Co., Ltd., Yangju, Korea)하여 사용하였다. 동결 건조된 추출물은 -20°C 냉동고에서 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

### 환원력 측정

농도별(15~1,000 mg/mL) 추출물 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 20 분 동안 배양시킨 다음 trichloroacetic acid(2.5 mL, 10%, w/v)를 첨가하여 650 × g에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리한 상정액(5 mL)에 탈이온수(5 mL)와 1% ferric chloride 1 mL를 첨가시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다(19).

### DPPH radical 소거활성 측정

DPPH radical 소거활성은 Blois(20)의 방법을 변형하여 사용하였다. 농도별 추출물 1 mL에 에탄올로 용해시킨 1.5×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액 4 mL를 가한 후 vortex mixer로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 UV-spectrophotometer(UV-1201, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도(optical density, OD)를 측정하

였다. Free radical 소거활성은 다음의 식에 의해서 구하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = 1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

**FRAP (Ferric reducing/antioxidant power) 측정**

FRAP assay는 Benzie와 Strain(21)에 의해 고안된 방법이다. 실험을 위해 먼저 0.3 M Sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution, 그리고 20 mM FeCl<sub>3</sub> solution을 제조하였다. 미리 제조된 Sodium acetate buffer, TPTZ solution 및 FeCl<sub>3</sub> solution을 10:1:1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10~15분간 incubation 시켜 FRAP reagent를 준비하였다. 농도별 추출물 50 µL에 FRAP reagent 1.5 mL를 혼합하여 vortex하고 실온에서 30분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**통계처리**

모든 실험은 3회 반복 실시하여 mean ± SD로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검증은 SAS(Statistical Analysis System, ver. 6.12)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다.

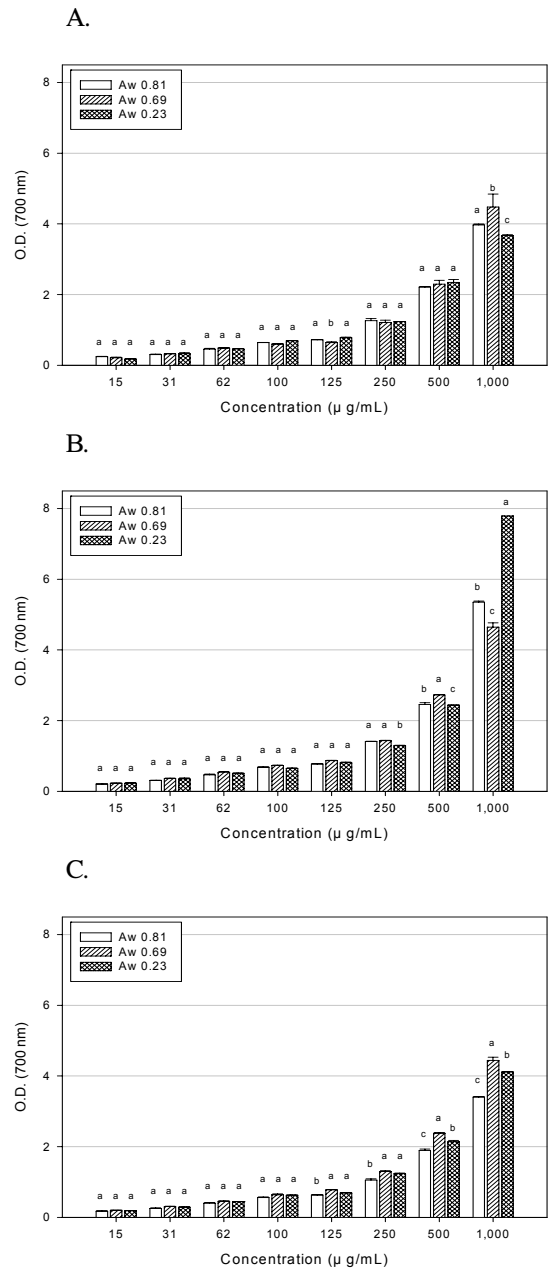
**결과 및 고찰**

**환원력 측정**

환원력은 철 이온의 환원력(Fe<sup>3+</sup>가 Fe<sup>2+</sup>로 변화)에 대한 대상 물질의 항산화력을 측정하는 것으로서 항산화 능력의 중요한 지표가 된다(22).

3개월간 상온(25°C), 냉장(4°C), 그리고 냉동(-20°C)에서 저장한 잎녹차 추출물의 농도를 각각 달리하여 첨가한 후 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 환원력에서의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 항산화 활성을 가질수록 흡광도의 수치가 높게 나타난다. 세 가지 저장온도에 관계없이 15~250 µg/mL까지는 추출물의 농도가 점진적으로 증가함에 따라 환원력이 증가하는 경향을 보였으며, 500 µg/mL 이상의 농도에서는 환원력의 증가 정도가 매우 현저하게 높아졌고, 특히 1,000 µg/mL에서는 가장 높은 항산화 활성으로서의 환원력이 나타남을 알 수 있었다. 저장온도 조건을 비교하였을 때 1,000 µg/mL에서 냉장저장이 가장 항산화 활성이 높았으며 특히 수분활성도 0.23의 열수 추출물이 상대적으로 가장 우수한 환원력을 나타내는 것으로 보인다. 그러나 상온과 냉동 조건에서는 1,000 µg/mL에서 유사한 pattern

을 보이고 있으며, 가장 높은 환원력의 수분활성도 조건은 0.69로 나타났다. Lee 등(18)은 3개월 간 저장한 녹차의 총 페놀 및 플라바놀 함량이 23% 상대습도, 4°C 저장조건을 제외한 다른 조건에서는 저장 초기에 비하여 감소하는 경향을 보였고, 카테킨 함량은 20°C에서 저장한 경우 상대습도 23%, 4°C에서는 EGCG의 함량이 36.5 mg/g이었으나, 상대습도 81%, 20°C에서는 11.9 mg/g로 매우 감소하였는데 이러한 결과는 잎녹차의 상대습도와 저장 온도가 catechin류



**Fig. 1. Reducing power of 70°C distilled water extracts from green tea leaves.**

(A) The reducing power was performed after 3 months storing at room temperature (25°C). (B) The reducing power was performed after 3 months storing at 4°C. (C) The reducing power was performed after 3 months storing at -20°C. Values represent the means ± S.D. (n = 3).

및 caffeine의 함량에 매우 민감한 영향을 미치며, 낮은 습도에서 냉장 상태로 저장하는 것이 녹차의 품질 유지에 유리함을 의미한다고 설명하고 있다. 따라서 본 연구의 환원력 실험 결과 또한 생리활성 성분들의 함량변화에 기인한 항산화 활성의 변화로 설명할 수 있다.

분말녹차 추출물도 잎녹차의 경우와 같이 동일한 저장조건(저장기간, 저장온도, 그리고 수분활성도)을 갖고 실험 결과를 도출하였으며, 추출물의 농도를 15~1,000 µg/mL까지 다양하게 준비하여 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정하였다(Fig. 2). 초기농도부터 125 µg/mL까지는 잎녹차

추출물의 결과와 유사한 pattern을 보였다. 저장온도와 수분활성도에 크게 영향을 받지 않고, 농도에 비례한 환원력의 증가를 보여주었다. 그러나 잎녹차 추출물에 비해 250 µg/mL 농도 이상에서는 극적인 환원력의 상승 곡선을 나타냈다. 특히 1,000 µg/mL에서는 잎녹차 추출물 대비 약 1.5~2배에 해당하는 환원력 상승이 있었고, 더불어 수분활성도의 차이에 따른 결과를 보여주지는 못했다.

결과를 종합해보면, 잎녹차 추출물에 비해 분말녹차 추출물에서의 환원력 증가가 상대적으로 우수하게 나타났고 그 차이는 500 µg/mL 이상에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 녹차의 유용 물질은 가공방법에 따라 추출 효율이 달라지며 (23,24) 식물체에 존재하는 항산화성 페놀 화합물은 유리되어 있는 형태보다는 대부분이 불용성 고분자 폴리머에 공유 결합되어 존재하고 있기 때문에(25) 식물유래 유용 항산화 물질을 추출하기 위해서는 고분자 물질로부터 유리 활성화시키는 것이 필요하다고 제안하고 있다(12). 즉, 환원력 결과는 추출 조건에서 분말녹차가 추출 용매(70°C distilled water)와 반응할 수 있는 면적이 상대적으로 우수하여 생리활성 물질로서의 phenolic compounds(catechin류 포함) 용출량이 많은 것에서 기인된 것으로 추측된다. 물론 잎녹차 추출물의 실험결과 중 냉장 저장조건의 결과(Fig. 1. B)에서 1,000 µg/mL의 수분활성도의 영향에 대한 정확한 기작을 살피기 위해서는 추출물에 포함된 생리활성성분의 동정과 냉장 조건에서의 그 구조적 변화와의 관계를 살피는 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 그러나 이 결과도 분말 녹차 추출물의 냉장조건의 결과와 비교해볼 때 큰 의미를 갖지는 못할 것으로 사료된다.

#### DPPH radical 소거활성 측정

DPPH는 분자 내에 안정한 라디칼을 함유하지만 cysteine, glutathione과 같은 함유황 아미노산과 ascorbic acid, tocopherol, hydroquinone, pyrogallol과 같은 polyhydroxy aromatic compounds, aminophenol과 같은 aromatic amine 등의 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 환원되어 짙은 보라빛이 탈색되어 안정한 화합물로 변화하여 노란빛을 띄게 된다. 이러한 반응의 정도는 항산화제의 수소 공여능에 의존한다(20,26,27).

잎녹차 추출물을 이용하여 DPPH radical 소거활성을 측정한 결과는 다음 Fig. 3과 같다. DPPH radical 소거활성 측정을 위한 조건은 농도별 처리 조건을 포함하여 상기한 것과 동일하다. 저장온도 및 수분활성도에 관계없이 125 µg/mL까지는 농도 의존적으로 radical 소거활성이 증가하는 것으로 보였고, 그 이상의 농도(250~1,000 µg/mL)에서는 약 80~90%정도의 최대 radical 소거활성을 나타냈지만 더 이상 농도 의존적인 활성 증가 pattern을 보이지는 않았다. 또한 최대 활성 범위에서 수분활성도에 따른 차이는 통계적 유의차가 없는 범위에 있는 것으로 나타났다.

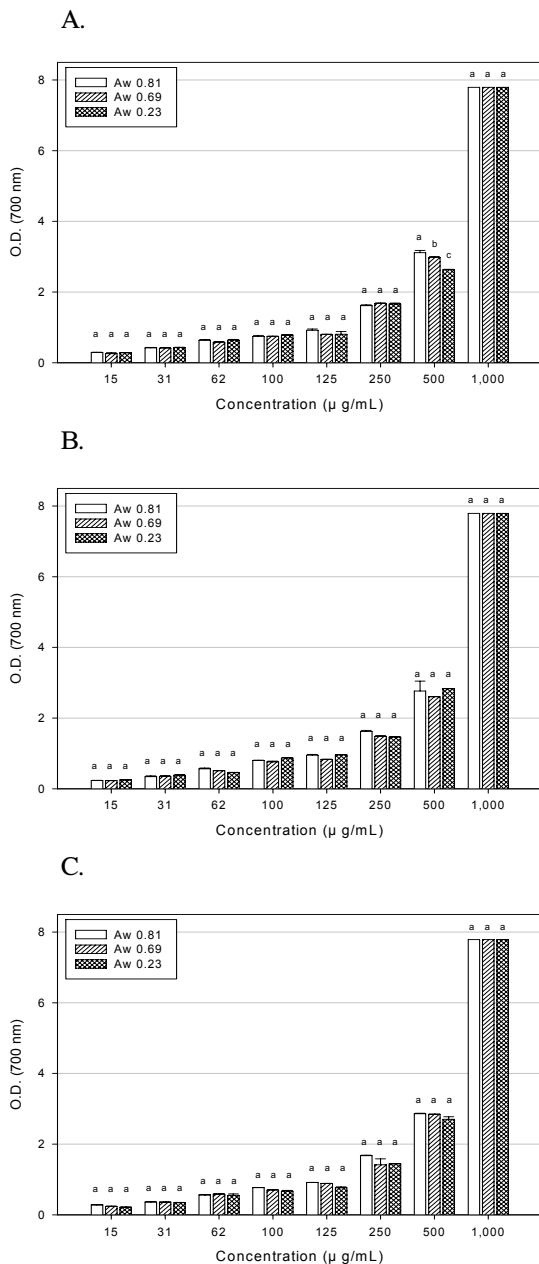


Fig. 2. Reducing power of 70°C distilled water extracts from green tea powder.

(A), (B), (C) showed in Fig. 1. Values represent the means  $\pm$  S.D. (n = 3).

분말녹차 추출물도 동일한 조건에서 DPPH radical 소거 활성을 측정하여 Fig. 4에 나타냈다. 초기 설정 농도인 15 µg/mL부터 100 µg/mL까지는 저장온도와 수분활성도의 조건과 관계없이 일정한 농도 의존적 관계를 보여주었다. 다만 100 µg/mL 이상의 농도인 125~1,000 µg/mL에서 최대 radical scavenging activity를 보임과 동시에 더 이상의 라디칼 소거능의 증가는 보이지 않았다. 이는 잎녹차 추출물의 결과와 유사한 pattern으로 보인다.

그러나 분말녹차 추출물의 결과는 잎녹차 추출물의 결과

와 비교하였을 때 몇 가지 차이점을 보이고 있다. 우선 DPPH radical 소거활성이 상대적으로 저 농도 처리군에서 나타난다는 것이다. 잎녹차 추출물의 경우는, 저 농도인 15~62 µg/mL에서 10~50% 내외의 활성 증가를 보인 반면, 분말녹차 추출물의 동일한 저 농도 처리군에서는 18~63%의 활성 증가율을 보였다. 또한 잎녹차 추출물은 125 µg/mL 농도 처리군 부터 최대 활성과 함께 활성의 threshold를 보인 반면, 분말녹차 추출물의 경우는 100 µg/mL 농도 처리군 부터 최대 활성과 radical 소거활성에 대한 threshold를 보여

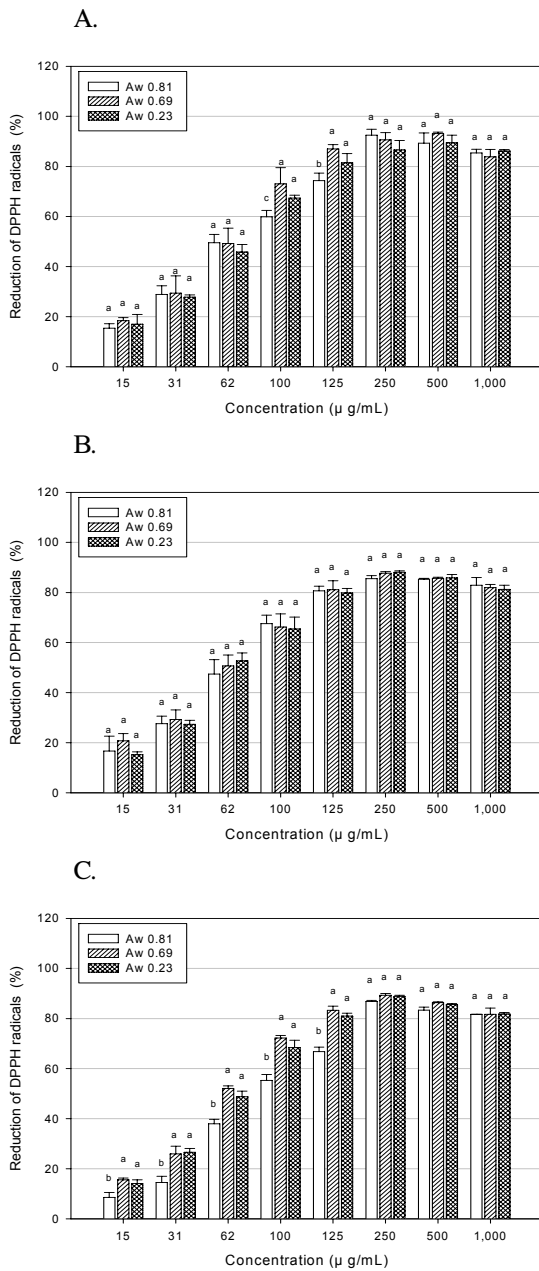


Fig. 3. DPPH radical scavenging activities of 70°C distilled water extracts from green tea leaves.

(A), (B), (C) showed in Fig. 1. Values represent the means ± S.D. (n = 3).

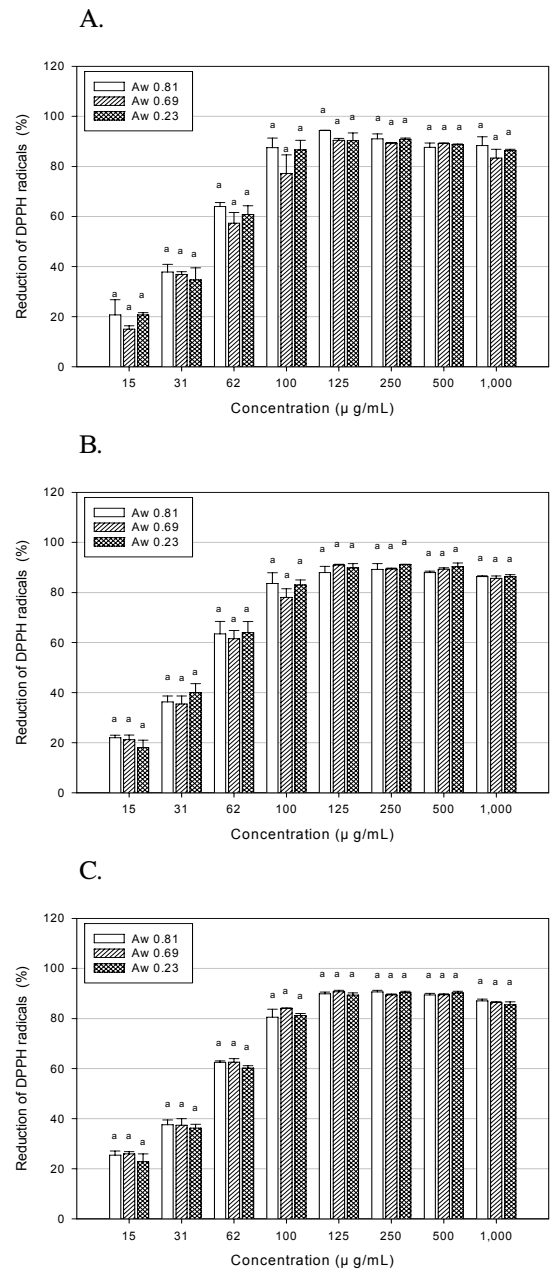


Fig. 4. DPPH radical scavenging activities of 70°C distilled water extracts from green tea powder.

(A), (B), (C) showed in Fig. 1. Values represent the means ± S.D. (n = 3).

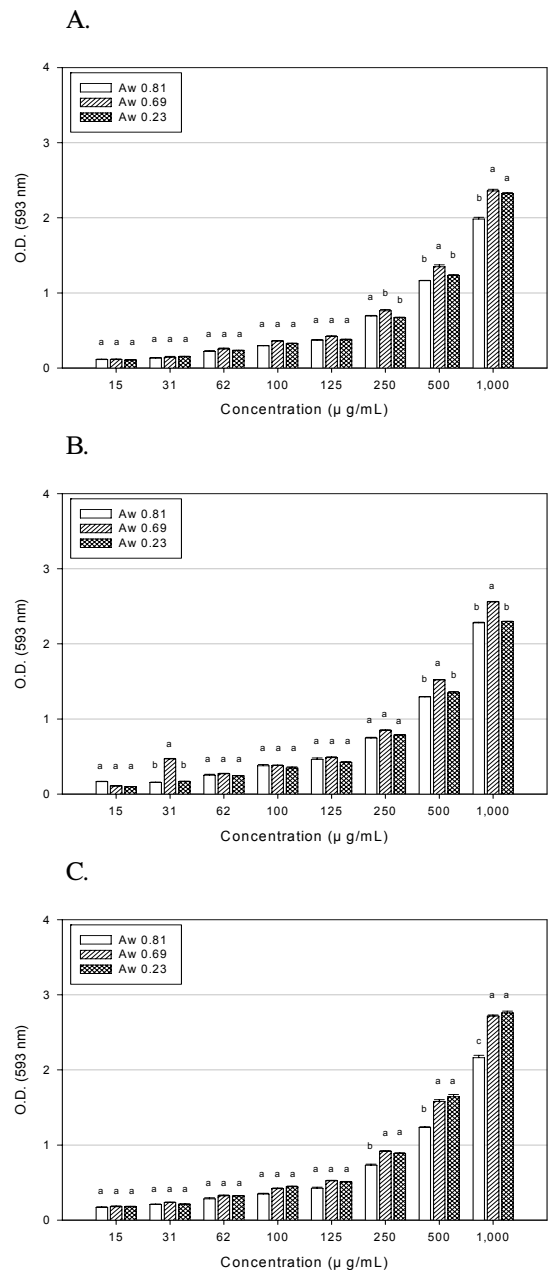
주었으며 환원력의 측정에서와 유사하게 잎녹차 추출물 대비 분말녹차의 경우가 생리활성 물질의 추출효율이 상대적으로 우수하여 더 높은 항산화 능력으로서의 DPPH radical 소거활성을 보인 것으로 사료된다. 또한 Jang(28) 등은 상용되고 있는 녹차 티백의 최적 침출조건을 설정하기 위한 연구를 수행하였는데, 가용성 고형분, 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량은 침출온도가 높고 침출시간이 길수록 그 함량이 증가되는 것으로 나타났다. 총 페놀성 화합물의 함량은 침출조건(침출온도 및 시간)에 따라 23.38~82.14 mg%, 플라보노이드 함량은 1.37~8.11 mg%로 침출조건에 따라 녹차의 기능성 성분인 polyphenol의 함량에 큰 차이를 보였다. 전자공여능의 경우 침출온도 65.3℃, 침출시간 7.2 min일 때 최대값을 보였으며, 침출온도가 낮고 침출시간이 길수록 높게 나타나 녹차의 유용성분의 침출 조건과는 다소 상이한 결과를 나타냈는데, 이는 녹차의 주된 항산화 성분인 카테킨류의 구성에 따라 항산화성이 다르며 침출조건에 의한 카테킨류의 조성의 변화가 있었을 것으로 사료된다고 설명하였다. 이를 종합해 볼 때, 잎녹차와 분말녹차의 생리활성 물질의 추출효율은 표면적 차이에서 기인한다는 점에서 더 나아가 침출조건에 따른 가용성 고형분 및 생리활성물질들의 함량 변화가 영향을 미치는 것으로 사료된다.

**FRAP (Ferric reducing/antioxidant power) 측정**

FRAP assay는 colored ferrous tripyridyl triazine complex에 의해 ferric ion이 ferrous로 전환되어지는 과정을 분석함으로써 시료 내의 총 항산화력을 측정하는 방법으로, 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine(Fe<sup>2+</sup>-TPTZ)으로 환원되는 원리에 기초하여 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안되어진 방법이다(21).

잎녹차 추출물을 이용하여 FRAP assay에 의한 항산화 활성을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 흡광도 값을 측정하여 항산화 능력을 판단하는 환원력 결과와 유사하게, 잎녹차 추출물의 농도가 증가함에 따라 FRAP assay에 의한 항산화 결과도 점진적인 농도 의존성을 보여주었다. 특히 최대 처리 농도군인 1,000 µg/mL에서 최대 항산화활성을 보여주었고, 이 결과는 저장온도와 수분 활성도에 의한 차이는 크지 않은 것으로 보인다. 다만 FRAP assay에서는 상온에서 냉동으로 즉, 저장 온도가 낮아질수록 500 µg/mL 이상의 처리 농도에서 그 증가폭이 크게 나타남을 볼 수 있었고, 그 결과로 -20℃의 냉동 저장조건에서의 1,000 µg/mL 처리군의 항산화력이 가장 높게 나타났다. 또한 수분활성도 측면에서도 미묘한 차이가 발생하였는데, 500 µg/mL 이상의 농도 처리군에서 수분활성도가 0.81 이하의 조건인 0.69와 0.23의 추출물에서 상대적으로 우수한 항산화 능력이 나타났다.

동일한 조건에서 분말녹차의 추출물에 대하여 FRAP assay를 수행한 결과, Fig. 6에서 보는 바와 같이 잎녹차의 추출물과 유사하게 15 µg/mL에서 1,000 µg/mL의 처리군까지 농도의존적인 항산화 활성도를 보여주었고, 역시 500 µg/mL 이상의 농도에서 극적인 항산화 활성의 증가를 나타냈다. 다만 잎녹차의 열수 추출물 결과에 비해 다소간의 차이가 발생하였다. 우선 FRAP assay에 의한 항산화 활성이 잎녹차 추출보다 상대적으로 높게 나타났다. 잎녹차 추출물의 경우는 500 µg/mL 이상의 농도 처리군에서의 항산화 활성이 냉동저장 조건에서 가장 높게(흡광도 1.6~



**Fig. 5. FRAP of 70°C distilled water extracts from green tea leaves.** (A), (B), (C) showed in Fig. 1. Values represent the means ± S.D. (n = 3).

2.7 정도) 나타났지만, 분말녹차의 경우 상온, 냉장, 그리고 냉동 저장조건에 관계없이 모두 높게(흡광도 1.8~2.9 내외) 나타났다. 또한 잎녹차 추출에서의 수분활성도의 결과와는 다르게 분말녹차 추출물의 경우는 수분활성도 차이와의 관계가 거의 없는 것으로 판단된다.

요약하면, 잎녹차 및 분말녹차를 3개월간 저장하는 동안 저장온도와 수분활성도의 차이를 두어 환원력, DPPH radical 소거활성, 그리고 FRAP을 측정한 결과는 다음과 같이 요약할 수 있다. 3개월 정도의 저장조건에서는 저장

온도 및 수분활성도의 차이가 항산화 활성 정도에는 크게 기여하지 못하는 것으로 판단된다. 다만 생리활성물질을 보다 효율적으로 추출할 수 있는 녹차의 상태가 더욱 중요하고 그 상태는 잎 보다는 분말의 상태가 더 우수한 것으로 판단되며 침출조건에 따른 녹차의 가용성 고형분 및 생리활성물질들의 함량변화도 영향을 줄 것으로 사료된다. 녹차를 비롯한 차류는 매우 낮은 추출수율을 보임에도 높은 수준의 항산화 능력을 나타낸 근거를 이들이 함유하고 있는 총 페놀성 화합물, Vitamin C를 포함한 항산화물질에서 찾고 있다(8). 더불어 6종류의 catechin isoforms 중 EGCG는 비타민 E보다 25배, 비타민 C보다 100배 더 큰 항산화 효과를 나타낸다고 한다(14). 또한 8종류의 시판 녹차 잎 중에 존재하는 catechin류의 안정성을 20℃·6개월간 조사한 연구에서 catechin류 중 가장 많이 존재하는 EGCG가 ECG보다 분해되는 수준이 더 낮았으며 ECG보다 EGCG가 동일 조건 하에서 더 안정하다고 설명하고 있다(29). 또한 22℃·3개월간 저장한 모든 시료는 상대습도 43% 이하일 때 catechin의 화학적 안정성이 유지되며, 상대습도가 증가함에 따라 카테킨의 분해가 증가된다는(30) 점을 바탕으로 저장기간이 길어질수록 생리활성물질이 감소하게 되며 이는 항산화능력의 감소를 가져온다고 할 수 있다. 더불어 본 연구의 저장조건으로서 상대습도와 저장온도를 설정한 녹차의 환원력, DPPH radical 소거활성, FRAP에서 보여준 미묘한 차이를 밝히기 위해서는 단순히 차의 대표적 생리활성물질인 catechin류 함량변화에서 기인한 것인지 아니면 catechin류 제외한 다른 생리활성물질들과의 복합적인 상호작용에서 기인한 것인지 정확한 반응 mechanism을 살필 필요가 있다. 이를 위해서는 추출물에 포함된 생리활성성분의 동정과 저장 조건에서의 그 구조적 변화와의 관계를 살피는 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

3개월간 다른 조건에서 저장한 잎 및 분말녹차의 항산화 활성 변화를 조사하였다. 녹차 추출물은 수분활성도(0.81, 0.69, 0.23)와 온도(25℃, 4℃, -20℃)를 달리하여 3개월간 저장한 잎 및 분말녹차 시료 1.5 g에 70℃의 탈이온수 100 mL를 첨가하여 5분간 추출하여 준비하였다. 항산화 특성은 환원력, DPPH radical 소거활성, FRAP 측정법을 이용하여 조사하였다. 모든 실험에서 분말녹차 추출물이 잎녹차 추출물보다 높은 활성을 나타내었으며 농도 의존적인 경향을 보였다. 그러나 각 실험에서 저장조건에 대하여 다른 결과를 보였다. 잎녹차 추출물의 환원력은 4℃, 수분활성도 0.23 저장조건에서 1,000 µg/mL 농도일 때 가장 높았으나 분말녹차 추출물은 모든 저장조건에서 동일한 농도일 때 높았다. 특히 잎녹차 추출물과 비교하였을 때 약 1.5~2배 더

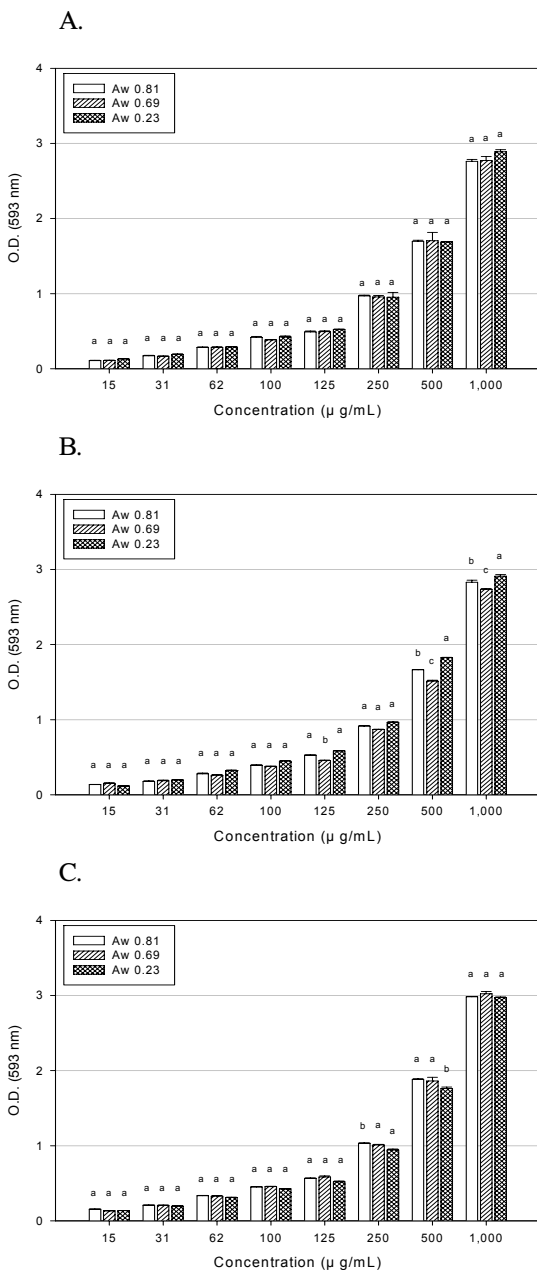


Fig. 6. FRAP of 70°C distilled water extracts from green tea powder. (A), (B), (C) showed in Fig. 1. Values represent the means ± S.D. (n = 3).

높았다. DPPH radical 소거활성은 각각 농도 15~125 µg/mL에서 농도 의존적으로 증가했다. 처리 농도 125 µg/mL 이상에서는 활성이 80~90%로 더 이상의 증가 패턴은 보이지 않았다. 녹차 추출물의 FRAP 활성은 농도가 증가함에 따라 증가했다. 특히 잎녹차 추출물의 경우 -20°C, 수분활성도 0.69와 0.23일때 1,000 µg/mL에서 가장 효과적이었다. 결과를 종합해보면 녹차의 저장에 있어서 수분활성도 보다는 온도가 중요한 요소로 작용하며, 대체적으로 냉장조건(4°C)이 녹차의 항산화 활성과 생리활성성분을 증가 또는 유지시키는 데 좀 더 유리함을 나타내었다.

### 감사의 글

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

### 참고문헌

1. Fridovich, I. (1978) Superoxide radicals, superoxide dismutase and the aerobic lifecycle. *Photochem. Photobiol.*, 28, 733
2. Han, Y.G. (1997) Protective Effects of Green Tea against oxidative damage in Rats treated with acute ethanol. *Proceedings of the 4th International Symposium on Green Tea of Korean J. Food Sci. Technol.*, 4, 143-151
3. Bulkey, G.B. (1993) The role of oxygen free radicals in human disease processes, *Surgery.*, 94, 407-411
4. Nohl, H. and Jordan, W. (1986) The mitochondrial site of superoxide formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 138, 533-539
5. Borrello, S., Seccia, A., Galleott, T., Bartoli, G.M., Farallo, E. and Serri, F. (1984) Protective enzymes in human epidermal carcinomas and psoriasis. *Arch. Dermatol. Res.*, 276, 338-340
6. Ji, L.L. (1993) Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med. Sci. Sport Exercise*, 25, 225-231
7. Jeong, C.H., Choi, S.G. and Heo, H.J. (2008) Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. *Korean J. Food Preserv.*, 40, 586-592
8. Kim, M.H., Kim, M.C., Park, J.S., Kim, J.W. and Lee, J.O. (2001) The antioxidative effects of the water-soluble extracts of pants used as tea materials. *Korean J. Food*

- Sci. Technol.*, 33, 12-18
9. Kim, Y.S., Jung, Y.H., Chun, S.S. and Kim, M.N. (1988) The kinetics of non-enzymatic browning reaction in green tea during storage at different water activities and temperature. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 17, 226-232
10. Kim, Y.I., Park, J.Y., Choi, S.J., Kim, J.K., Jeong, C.H., Choi, S.G., Lee, S.C., Cho, S.H. and Heo, H.J. (2008) Protective effect of green tea extract on amyloid  $\beta$  peptide induced neurotoxicity. *Korean J. Food Preserv.*, 15, 743-748
11. Sato, T. and Miyata, G. (2000) The nutraceutical benefit, part I: Green tea. *Nutr.*, 16, 315-317
12. Kim, S.Y., Jeong S.M. and Lee, S.C. (2004) Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity and catechin of green tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 33, 753-756
13. Oh, C.K., Oh, M.C. and Kim, S.H. (2000) Desmutagenic effects of extracts from green tea. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 16, 390-393
14. Ahmad, N., Feyes, D.K., Nieminen, A.L., Aqarwal, R. and Mukhtar, H. (1997) Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, 89, 1881-1886
15. Cho, Y.J., An, B.J. and Choi, C. (1993) Inhibition effect of aginst angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korea green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25, 238-242
16. Fujita, Y., Tamane, T., Tanaka, M., Kuwata, K., Okuzumi, J., Takahashi, T., Fujiki, H. and Okuda, T. (1989) Inhibitory effect of (-)epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-ethyl-N-nitroguanidine in mouse duodenum. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80, 503-508
17. Kim, Y.S., Jung, Y.H., Chun, S.S. and Kim, M.N. (1988) The kinetics of non-enzymatic browning reaction in green tea during storage at different water activities and temperatures. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 17, 226-232
18. Lee, J.M., Lim, S.W., Cho, S.H., Choi, S.G., Heo, H.J. and Lee, S.C. (2009) Effect of relative humidity and storage temperature on the quality of green tea powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 38, 83-88
19. Oyaizu M. (1986) Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.*, 44, 307-315
20. Blois, M.A. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200



21. Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70-76
22. Diplock, A.T. (1997) Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Radicals.*, 27, 511-532
23. Gulati, A., Rawat, R., Singh, B. and Ravindranath, S.D. (2003) Application of microwave energy in the manufacture of enhanced quality green tea. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 4764-4768
24. Wang, L.F., Kim, D.M., Lee, C.Y. (2000) Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4227-4232
25. Herrmann, K. (1989) Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 28, 315-347
26. Yoshino, M. and Murakami, K. (1998) Interaction of iron with polyphenolic compounds, application to antioxidant characterization. *Anal. Biochem.*, 257, 40-44
27. Shahidi, F. and Metusalach., Brown, J.A. (1998) Carotenoid pigments in seafoods and aquaculture. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 38, 1-67
28. Jang M.J., Ha H.J., Yoon S.R., Noh J.E. and Kwon J.H. (2006) Prediction of optimal leaching conditions for green tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 35, 747-753
29. Friedman, M., Levin, C.E., Lee, S.U. and Kozukue, N. (2009) Stability of green tea catechins in commercial tea leaves during storage for 6 months. *J. Food Sci.*, 74, H47-51
30. Ortiz, J., Ferruzzi, M.G., Taylor, L.S. and Mauer, L.J. (2008) Interaction of environmental moisture with powdered green tea formulations: effect on catechin chemical stability. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4068-4077

---

(접수 2009년 1월 21일, 채택 2009년 5월 8일)