

채취 시기가 다른 녹차의 생리활성 연구

김범근 · 박찬은 · 박기재[†] · 임정호 · 정진웅 · 정승원 · 조장원

한국식품연구원

Antioxidant and Antimicrobial Activities of Green Tea at Different Harvest Time

Bum-Keun Kim, Chan-Eun Park, Kee-Jai Park[†], Jeong-Ho Lim, Jin-Woong Jeong,
Seung-Won Jeong and Chang-Won Cho

Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

Abstract

The present study was conducted to investigate the antioxidant and antimicrobial activities of green tea at different harvest time. The leaves were collected in late March(Iro), early April(Okro and Ujeon), late April(Sejak), and early May(Eoksu and Hanra). The total polyphenol content of Sejak was highest (28.87mg TAE/g). Electron donating abilities toward α, α -diphenyl- β -picryryl hydrazyl (DPPH) radical were approximately 80% SOD-like activities were above 30%, where ujeon showed the highest activity (38.95±0.96%). The nitrite scavenging ability was pH-dependent and shown to be highest at pH 1.2, and lowest at pH 6.0. The inhibitory effects against the angiotensin I converting enzyme were over 85% except for Okro (58.22±4.66%) and Hanra (77.96±3.83%). The tyrosinase inhibition rate increased with harvest time. Okro showed the highest caffeine content (3.86±0.32%) and had the highest antimicrobial activities against *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*. The combined results of this work revealed that the antioxidant and antimicrobial activities of green tea were independent of harvest time.

Key words : Green tea, harvest time, antioxidant activity, antimicrobial activity.

서 론

차(茶)는 동백나무과(Theaceae) 동백나무속(*Camellia*)에 속하는 조엽수의 한 종으로 우리나라를 비롯한 아시아를 중심으로 아프리카, 러시아 등 아열대 온대에 걸쳐 광범위하게 재배되고 있다(Jo *et al* 2006, Woo *et al* 2003). 차는 전 세계의 음료 중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있으며, 커피, 코코아와 함께 3대 비알콜성 기호음료 중의 하나로서 우리나라를 포함한 세계 각지에서 널리 음용되고 있다(Cho *et al* 2007).

차의 주요 성분으로는 카테킨, 카페인, 아미노산, 비타민 및 무기질 등이 있으며, 이중 카테킨류는 flavan-3-ol 구조의 phenolic 화합물로서 무색, 수용성이며 강한 항산화능을 가지고 있는데, 이는 녹차 특유의 수렴성 쓴맛을 제공한다. 또한, 녹차의 카테킨은 항산화 효과(Serafini *et al* 1996, Ryu & Park 1997), 항암 효과(Morre *et al* 2003), 콜레스테롤 저해 효과(Jin *et al* 2004, Bursill *et al* 2007), 항균 효과(Cho *et al* 2005, Choe *et al* 2003, Kim *et al* 2003) 등의 다양한 생리활성을

나타내는 것으로 알려져 있다. 이러한 성분에 의해서 녹차의 맛은 떫은맛, 쓴맛, 감칠맛과 미세한 단맛이 조화를 이루어 나타나는데, 쓰고 떫은맛 성분인 카테킨, 쓴맛 성분인 카페인, 감칠맛 성분인 아미노산, 단맛 성분인 당류 그리고 방향성 향 및 각종 화합물이 조화를 이루어 독특한 향기와 맛을 만들어내고 있다(Kim *et al* 2004).

우리나라에서는 일반적으로 초기에 채취한 차엽일수록 총 질소, 카페인 및 아미노산 함량이 많아서 양질의 차로 여기고 있으나, 너무 이른 시기에 채취한 차엽에는 향기 성분이 적어 오히려 향미 특성이 낮아질 수 있다고 알려져 있다(Kim *et al* 2003, Kim *et al* 2004). 또한, 같은 품종의 차엽으로 같은 가공 공정을 거치더라도 지역적인 기후 조건이나 제조자가 개발한 여러 가지 가공 방법에 의하여 향기 특성이 다른 차가 될 수 있다(Wee *et al* 1999).

본 연구에서는 수확시기가 다른 6종의 녹차에 대하여 항산화 및 항균 활성 등을 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 시료는 제주도 서귀포시에서 3월 말(일

[†] Corresponding author : Kee-Jai Park, Tel : +82-31-780-9157,
Fax : +82-31-780-9333, E-mail : jake@kfri.re.kr

로), 4월 초(옥로, 우전), 4월 말(세작), 5월 초(억수, 한라)에 채취하여 제품화한 것을 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 추출물의 제조

녹차의 추출물은 1%(w/v) 농도로 약 90°C에서 1분 동안 추출하여 사용하였다. 이후 추출물을 0.45 μ m syringe filter로 여과하고 4°C에서 냉장 보관하며 실험용 시료로 사용하였다.

2) 일반 성분

시료의 일반 성분은 AOAC 표준법(1990)에 따라 분석하였다. 수분은 105°C 상압 가열 건조법, 회분은 550°C 직접 회화법, 총 질소는 Kjeldahl법, 그리고 조지방은 Soxhlet법에 준하여 분석하였다. 각 실험은 3회 반복 실시하여 값은 평균±표준편차로 나타내었다.

3) 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 법(Folin & Denis 1915)에 의하여 측정하였다. 시료 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후, 여기에 0.2 mL Folin-ciocalteus phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 3분 후 Na₂CO₃ 포화 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후 실온에서 1시간 방치하여 상등액을 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용한 표준곡선으로부터 mg% tannic acid 당량으로 환산하여 나타내었다.

4) 전자 공여능(Electron Donating Abilities, EDA)

전자공여능은 Blois MS(1958)의 방법을 이용하여 각각의 추출물에 대한 α, α -diphenyl-picryl hydrazyl(DPPH)의 전자공여 효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 추출물 1 mL에 4×10^{-4} M DPPH 용액(99.9% EtOH에 용해) 1 mL를 가하여 총액의 부피가 2 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 30분 방치한 후 분광광도계(V-570, Jasco, Japan)를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 추출물의 첨가 전, 후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{Electron donating ability (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

5) Angiotensin Converting Enzyme (ACE) 저해 활성
ACE 저해 효과는 Cushman & Cheung(1973)의 방법을 이

용하여 측정하였다. 즉, 침출액 50 μ L에 450 mM NaCl을 함유하는 100 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μ L를 가하고, 5 mM hippuryl-histidyl-leucine(300 mM NaCl을 함유하는 100 mM sodium borate buffer(pH 8.3)에 용해) 50 μ L를 가한 후 37°C에서 10분간 미리 반응시켰다. 이 반응액에 ACE 조효소액 50 μ L를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1.75 N HCl 100 μ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 mL를 가하여 진탕 후 상등액 1 mL를 취하고 100°C에서 1시간가량 건조시킨 후 증류수 1 mL를 가하여 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

공시험은 침출액 대신 증류수 50 μ L를 가하였고, 대조구는 1.75 N HCl 100 μ L를 가한 후 ACE 조효소액 50 μ L를 첨가하여 반응시켰다.

$$\text{ACE inhibition rate(\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임

6) Superoxide Dismutase(SOD) 유사 활성

SOD 유사 활성은 Marklund & Marklund(1974)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 후 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]aminomethane+10 mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]aminomethane+10 mM EDTA, pH 8.5) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치하였다. 1 N HCl 0.2 mL로 반응을 정지시킨 후 분광광도계 (V-570, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사 활성(\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 무첨가구의 흡광도

단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

7) 아질산염 소거 작용

아질산염 소거 작용은 Gray & Dugan(1975)의 방법을 이용하여 측정하였다. 1 mM 아질산나트륨 용액 1 mL에 각각의 추출물을 2 mL를 가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2) 및 구연산 완충 용액 (pH 3.0, 4.2 및 6.0)을 7 mL 가하여 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 맞추고 반응 용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이를 완충 용액 시간 동안 반응시킨 다음 반응액을 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 5 mL,

Griess 시약(acetic acid에 1% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것으로 사용 직전에 제조) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 분광광도계(V-570, Jasco, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 추출액 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표기하였다.

$$\text{Nitrite scavenging ability(\%)} = \{1 - (A - C) / B\} \times 100$$

- A: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도
 B: 1 mM NaNO₂ 용액에 시료 대신 증류수를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도
 C: 시료 추출물 자체의 흡광도

8) 카페인 함량 측정

카페인 함량은 Kim *et al*(2004)의 방법에 의해 분석하였다. 즉, Jasco(Jasco CO., Japan) HPLC pump(Model PU-980), column oven(Model CO-965), autoinjector(Model AS-950-10) 및 UV/VIS detector(Model UV-975)로 구성된 HPLC 시스템을 이용하여 컬럼(uBondapak C₁₈ column(125 Å, 3.9×300 mm, Waters, USA)), 이동상(Methanol : DW = 20:80, v/v), 검출기 파장(280 nm), 유속(1.2 mL/min)의 측정 조건에서 10 uL를 주입하여 검량선을 구하였다.

9) Tyrosinase 저해율

Tyrosinase 활성 저해는 Woo *et al*(2003)의 방법에 측정하였다. Tyrosinase 작용 결과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의해 측정하는 방법에 따라 mushroom tyrosinase(90 unit/mL) 0.5 mL, 기질로서 DOPA 0.5 mL, 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 1 mL의 혼합액에 시료 용액 1 mL를 첨가한 후 25°C에서 2분간 반응시켜 흡광도 475 nm로 측정하고 dopachrome의 변화를 저해값으로 환산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition rate(\%)} = \{(A - B) - (C - D) / (A - B)\} \times 100$$

- A: Absorbance at 475 nm without test sample after incubation
 B: Absorbance at 475 nm without test sample before incubation
 C: Absorbance at 475 nm with test sample after incubation
 D: Absorbance at 475 nm with test sample before incubation

10) 항균 실험

본 실험에 사용한 균주는 Gram 양성균 중 *Listeria monocytogenes* ATCC 15313과 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923을, Gram 음성균 중 *Escherichia coli* ATCC 43888과 *Salmonella typhimurium* ATCC 19430을 한국식품연구원에서 분양받아 사용하였다.

시료의 항균 활성은 Paper disk agar diffusion method(Yoo *et al* 2005)를 응용하여 측정하였다. 즉, 항균성 시험용 평판 배지(2.3% nutrient agar)를 제조하여 petri dish에 15 mL씩 분주 후 응고시킨다. 이에 균주 1 mL(37°C nutrient broth에서 24시간 동안 키운 것을 사용)와 증충용 배지(0.8% nutrient agar) 10 mL를 잘 혼합한 것을 고르게 퍼지도록 도포한 뒤 응고시켜 이중의 균 접종 평판 배지를 제조하여 사용하였다. 시료(1% 감일차 및 녹차 추출물)는 지름 8 mm의 멸균된 filter paper disc(Advantec, Yoyo Roshi Co., Japan)에 20 uL씩 흡수시킨 후, 37°C에서 24~48시간 동안 배양하여 disc 주변의 clear zone의 직경(mm)을 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 일반 성분 분석

녹차의 일반 성분을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 일반적으로 녹차는 차 잎의 질소화합물과 상관관계가 있으며, 단백질 함량이 높을수록 품질이 좋은 것으로 알려져 있다. 그리고 채취시기가 빠를수록 총 질소 함량이 높게 나타났다.

수분 함량은 모든 시료에서 4% 이하를 나타내었으며, 채취시기가 늦어질수록 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 일반적으로 차의 경우 흡습성이 높아서 흡습할 경우 쉽게 변질되기 때문에 차의 수분 함량은 품질 관리상 중요한 지표가 되고 있다(Lim *et al* 2008).

회분 함량의 경우, 채취시기가 늦어질수록 점차적으로 증가하여 한라의 경우 5.70%까지 증가하는 것을 볼 수 있었다.

지방 함량의 경우 0.5% 수준을 나타내었으며, 세작과 우전의 경우 나타나지 않았다.

2. 총페놀 함량

Fig. 1은 채취 시기가 다른 6종의 녹차에 대하여 총페놀 함량을 측정한 결과이다. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 지니며 페놀성 화합물의 phenolic hydroxyl기가 단백질과 같은 거대 분자와의 결합을 통해 항산화, 항균, 항암 등의 생리기능을 지니며, 특히 녹차에 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Woo *et al* 2003, Jang *et al* 2007). 일반적으로 폴리페놀의 주체는 catechin으로 차의 맛, 향기 및 색에

Table 1. Proximate composition of green tea extracts with different harvest time

	Ilro	Okro	Ujeon	Sejak	Eoksu	Hanra
Moisture(%)	3.91±0.05 ^a	1.73±0.01 ^f	3.32±0.06 ^b	3.13±0.05 ^c	2.37±0.01 ^e	2.60±0.03 ^d
Ash(%)	4.80±0.11 ^c	6.60±0.10 ^a	4.64±0.05 ^c	5.30±0.44 ^{bc}	4.99±0.87 ^{bc}	5.70±0.14 ^b
Total nitrogen(%)	43.98±0.33 ^a	38.16±0.18 ^c	39.91±0.18 ^b	33.80±0.53 ^d	34.30±0.41 ^d	32.85±0.55 ^e
Lipid(%)	0.52±0.05 ^a	0.58±0.13 ^a	–	–	0.48±0.01 ^b	0.47±0.01 ^b

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-f} Means with different letters in a row are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

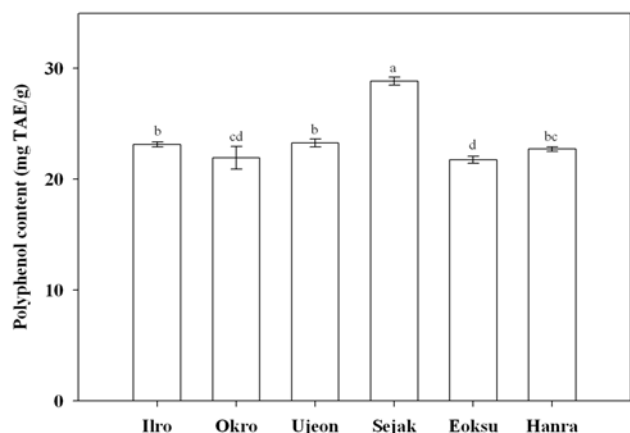


Fig. 1. Total polyphenol content of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-d} Means with different letters in bars are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

깊이 관여하는 중요 성분이며, 함량은 약 10~15%로 녹차의 가용 성분 중 가장 함유량이 많다. 또한, catechin은 광합성에 의해 형성되므로 채엽시기가 늦어질수록 함량이 높아지며 90°C 이상의 고온에서 잘 용출된다.

세작(28.87 mg TAE/g)의 총 페놀 함량이 높게 나타났으며, 다른 시료들은 채취시기별로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

3. 전자공여능

전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다(Park 2002, Lee *et al* 1997, Lim *et al* 2008). 전자공여능이 클수록 강한 항산화 활성을 나타내므로 항산화 효과는 전자공여능과 밀접한 관계가 있다(Jo *et al* 2006). 채취시기별 녹차의 항산화 활성은 Fig. 2와 같다. 6종의 시료 대부분 80% 이상의 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 옥수가 가장 높은

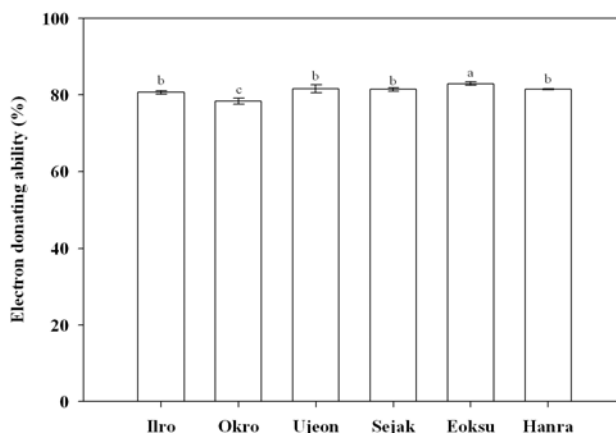


Fig. 2. Electron donating abilities of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-c} Means with different letters in bars are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

값(83%)을, 옥수가 가장 낮은 값(78%)을 나타내었고, 채취시기별로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, Choi *et al*(2003)의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

4. ACE 저해율

일반적으로 고혈압이 발생하는 기작에서 rennin-angiotensin system은 혈압 조절에 매우 중요한 역할을 한다. Angiotensin I converting enzyme(ACE)은 angiotensin I에서 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. Angiotensin II는 angiotensin-II 수용체와 결합하여 동맥과 소동맥을 수축시키고 부신피질을 흥분시켜 알도스테론의 유리를 촉진시켜 결과적으로 혈압의 증가를 가져온다. 따라서 ACE 저해 물질은 ACE의 활성을 억제함으로써 고혈압을 직접적으로 억제할 수 있다(Kwon *et al* 2006, Ma SJ 2000, Vermeirsena *et al* 2002, Erdos & Skidgel 1987, Lim *et al* 2008).

본 연구에서의 ACE 저해율은 Fig. 3과 같다. 옥수(58%)를 제외한 나머지 군에서 80% 이상의 높은 저해율을 나타내었

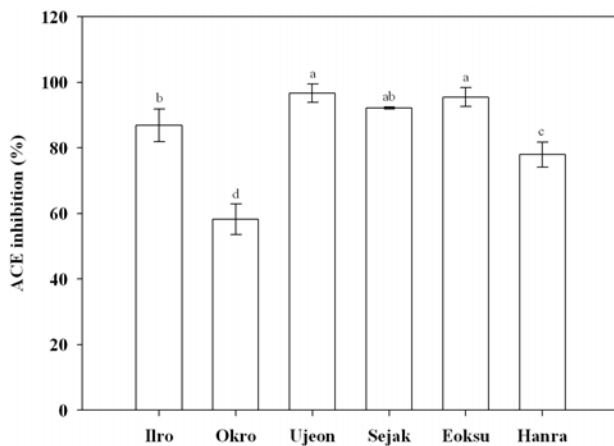


Fig. 3. ACE inhibition rate of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate \pm SD.

^{a-d} Means with different letters in bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

으며, 그 중 우전이 가장 높은 값(97%)을 나타내었고, 채취 시기별로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

선행 연구에 의하면, 사람에 대한 차의 효능을 알아보기 위해 매일 3개월간 섭취시켜 전후의 혈압을 측정해본 결과, 특히 고혈압 경향이 있는 사람의 혈압이 현저하게 저하되었다고 한다(Jo *et al* 2006). 이러한 효능으로 볼 때 차를 계속적으로 섭취할 경우 혈압을 관리하는데 크게 기여할 수 있음을 알 수 있다.

5. SOD 유사활성

항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포에 해로운 환원 산소종(superoxide)을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다(Lim *et al* 2008, Park YS 2002). SOD는 superoxide(O_2^-)를 정상 상태의 산소로 환원시킴으로써 superoxide가 관여하는 각종 질병이나 노화를 억제할 수 있는 효소이며, SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemical에 속하며 superoxide의 반응성을 억제하여 superoxide로부터 생체를 보호하는 것으로 보고되고 있다(Cho *et al* 2007).

채취 시기별 녹차의 SOD 유사활성은 Fig. 4와 같다. Son *et al*(2005)의 연구에서 이용된 녹차의 경우 15% 이하의 낮은 수준의 유사활성을 나타낸 것과 비교하였을 때 본 연구에서 이용된 녹차의 경우 더 높은 수준의 유사 활성을 나타내었다. 특히, 세작(28%)을 제외한 나머지 군에서 30% 이상의 높은 활성을 나타내는 것을 알 수 있었으며, 우전의 경우 가장 높은 유사활성(39%)을 나타내었으며, 이는 Lim *et al*(2008)의 연구 결과에 비해 유의적으로 높은 값을 나타낸다. 따라

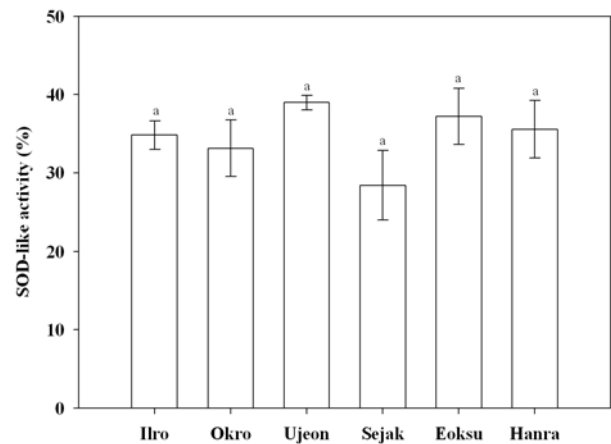


Fig. 4. SOD-like activities of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate \pm SD.

^a Means with same letters in bars are not significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

서 SOD 유사활성 물질의 섭취로 인해 인체 내의 superoxide를 제거함으로써 산화적 장애를 방어하고 노화 억제의 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단된다.

6. Tyrosinase 저해율

Tyrosinase는 tyrosine으로부터 3,4-dihydroxy phenylalanine(DOPA)와 DOPA quinone을 거쳐 최종적으로 흑갈색의 melanin 색소 생성에 관계하는 효소이며, 채소나 과일류 특히 감자의 갈변현상을 일으키는 효소이다(Yun *et al* 2004, Lee *et al* 2008, Lee *et al* 2007, Kim *et al* 1997, Kim & Lee 2000). 피부는 자외선에 노출되면서 tyrosinase의 작용으로 melanosome에서 멜라닌이 합성되어 피부 노화가 촉진되며, 이 때 생성된 자유라디칼은 지질, 단백질, 당 및 핵산을 손상시키고, 세포막의 파괴에 관여함으로써 돌연변이 유발, 피부암을 포함한 발암, 성인병 및 노화 등을 촉진시키는 원인 요소로 알려져 있다(Yun *et al* 2004, Chen *et al* 1991).

채취 시기별 녹차의 tyrosinase 저해율은 Fig. 5와 같다. 그 결과, 채취시기가 늦어질수록 저해율이 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 한라가 가장 높은 저해율(62%)을 나타내었다. Kim *et al*(1997)의 연구 결과와 비교하여 볼 때 유의적으로 높은 값을 나타내는 것을 확인하였다.

7. 카페인 함량

Fig. 6은 채취시기가 다른 6종의 녹차에 대하여 카페인 함량을 측정된 결과이다. 옥로(3.86%)를 제외하고는 시료별 큰 차이가 없이 1.45~2.0%의 수준을 나타내었다.

일반적으로 카페인 함량은 양질의 차일수록 또 차엽 채취시기

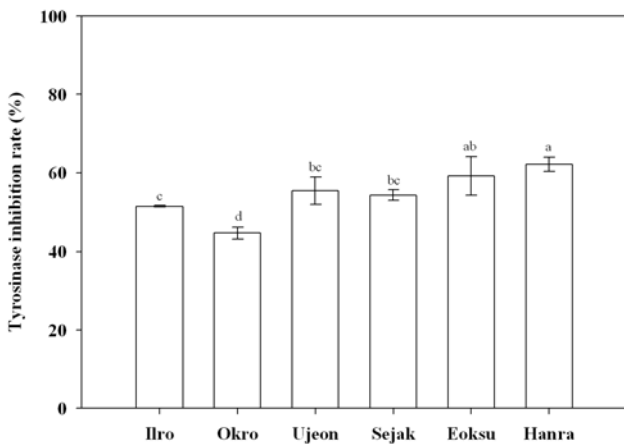


Fig. 5. Tyrosinase inhibition rate of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-d} Means with different letters in bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

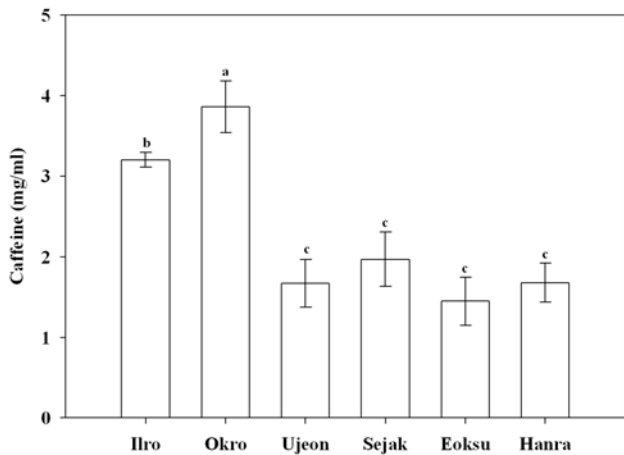


Fig. 6. Caffeine contents of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-c} Means with different letters in bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

가 빠를수록 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Kunugi *et al* 1988). 차잎 중에 카페인인 원두커피나 마테차에 비해 함량이 많지만, 차를 우려낼 때 60~70% 정도만이 우려나기 때문에 한 잔당 카페인 섭취량은 커피의 절반밖에 되지 않으며, 커피나 홍차에는 함유되지 않은 catechin, theanine, vitamin C 등과 분자화합물을 이루고 있기 때문에 흡수 작용이 서서히 일어나 순수한 caffeine을 과잉 섭취했을 때 나타나는 정신 불안, 불쾌감 등의 부작용을 일으키지 않고 그 작용이 훨씬 부드럽게 나타난다(Jo *et al* 2006). 카페인은 alkaloid의 일종으로 녹차의 정미성분 중에서 약한 쓴맛을 나타내며 카

페인 이 높을수록 녹차의 맛에 대한 기호도가 증가한다고 알려져 있다 (Kim *et al* 2004). 연구 결과에서도 채취 시기가 빠른 일로(3.2 mg/mL)와 옥로(3.9 mg/mL)의 경우 다른 시료에 비해 유의적으로 높은 값을 나타내었으며, 채취 시기가 늦어질수록 점차적으로 감소하는 경향을 보였다.

8. 아질산염 소거능

Fig. 7은 채취시기가 다른 6종의 녹차에 대해서 각기 다른 pH에서 아질산염 소거능을 조사한 결과이다. pH가 낮을수록 아질산염 소거능이 높게 나타났고, 특히 pH 1.2에서 99% 이상의 높은 소거능을 나타내었으며, 세작(99.91%)이 가장 높은 값을 나타내었다. pH가 증가할수록 소거능은 감소하여 pH 6.0에서는 6종의 시료 모두 18% 이하의 낮은 값을 나타내었으며, 우전(10.5%)이 가장 낮게 나타났다. 이와 같이 pH가 증가할수록 활성이 감소하는 것은 본 연구팀에서 수행한 결과와도 유사한 것을 알 수 있다(Lim *et al* 2008).

아질산염은 식품 제품에 첨가되어 발색제 및 보존제로 이용되고 있으나, 식품 중에 존재하는 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하는데 이 과정은 pH가 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다(Gray & Dugan 1975). 니트로화(nitrosation)에 영향을 주는 nitrite는 nitrous acid(HNO₂)를 형성하기 위해서 산성화되고 HNO₂는 H₂NO₂⁺으로 proton화되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamide를 형성한다. 이러한 산성화(acidification) 과정 때문에 니트로화 반응은 주로 생체내 산성위(acidic stomach)에서 발생한다(Leaf *et al* 1987, Mirvish SS 1975, Lim *et al* 2004).

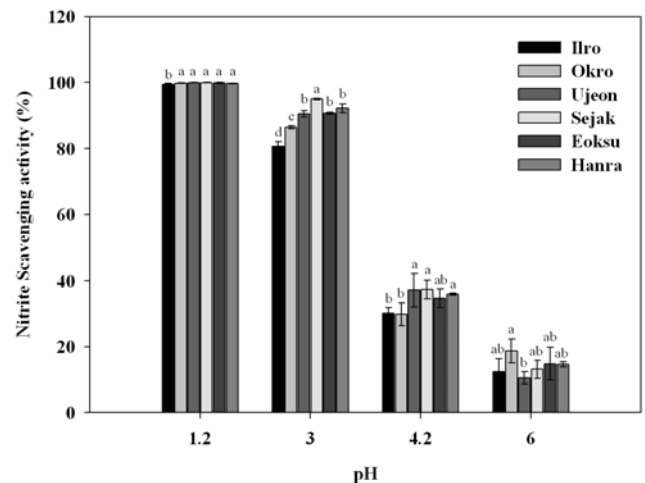


Fig. 7. Nitrite scavenging abilities of green tea extracts with different harvest time.

Values are the means of triplicate±SD.

^{a-d} Means with different letters in bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 2. Antimicrobial activities of green tea extracts with different harvest time

(unit: mm)

	Strain	Clear zone on plate ¹⁾					
		Ilro	Okro	Ujeon	Sejak	Eoksu	Hanra
Gram (+)	<i>L.monocytogenes</i>	- ²⁾	1.0±0.2 ³⁾	2.0±0.3	-	2.3±0.1	1.0±0.2
	<i>S. aureus</i>	-	2.0±0.1	-	-	-	1.0±0.2
Gram (-)	<i>E. coli</i>	-	1.5±0.3	3.0±0.2	2.0±0.2	1.0±0.2	2.0±0.1
	<i>S. typhimurium</i>	-	1.0±0.1	-	1.0±0.1	-	-

Values represents the mean±standard deviation for triplicate experiments.

¹⁾ Diameter.

²⁾ No clear zone was formed.

³⁾ Values represents the mean±standard deviation for triplicate experiments.

9. 항균 활성

병원성 식중독 미생물에 대한 항균 활성을 비교한 결과를 Table 2에 나타내었다. 채취시기가 가장 이른 시료인 일로의 경우 4가지 균주 모두에 대해서 항균 활성을 나타내지 않았다. 옥로의 경우 *S. aureus*(2.0 mm), *E. coli*(1.5 mm), *S. typhimurium*(1.0 mm), *L. monocytogenes*(1.0 mm) 모두에 활성을 나타내었으며, 우전의 경우 *E. coli*(3.0 mm)와 *L. monocytogenes*(2.0 mm)에만 활성을 나타내었다. 세작의 경우에는 Gram 음성균인 *E. coli*(2.0 mm)와 *S. typhimurium*(1.0 mm)에만 활성을 나타내었고, 역수의 경우 *L. monocytogenes*(2.3 mm)와 *E. coli*(1.0 mm)에 활성을 나타내었다. 한라의 경우 *S. typhimurium*에는 활성을 나타내지 않았으며, *L. monocytogenes*(1.0 mm), *S. aureus*(1.0 mm), *E. coli*(2.0 mm)에 활성을 나타내었다. 결과에서 보이는 바와 같이 채취시기별로 유의적인 차이를 보이지는 않았으며, Lim et al(2008)의 결과와 마찬가지로 옥로와 세작의 경우를 제외하고는 *S. typhimurium*에 대해서는 항균 효과를 거의 나타내지 않았다.

요 약

채취시기가 다른 6종의 녹차를 시료로 택하여 실제 음용 조건으로 추출하여 일반 성분, 카페인 및 총 페놀 함량을 분석하였고, 전자공여능에 의한 항산화 활성, ACE 저해도, SOD 유사 활성, Tyrosinase 저해율, 아질산염 소거능 및 항균 활성을 조사하였다. 그 결과 일반 성분과 카페인의 경우 채취시기가 빠른 것일수록 총질소 및 카페인 함량이 높게 나타났다. 반면, 총페놀, 전자공여능, ACE 저해율, SOD 유사활성은 아질산염 소거능의 경우 채취시기에 따라서 크게 차이를 나타내지 않았으나, Tyrosinase 저해율의 경우 채취시기가 늦어질수록 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 항균 활성의 경우 일로를 제외한 5종의 시료의 경우 항균성을 나타내는 것을 확인하였다.

문 헌

- AOAC (1990) *Official Method of Analysis* 15th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC. p 1017-1918.
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Bursill CA, Abbey M, Roach PD (2007) A green tea extract lowers plasma cholesterol by inhibiting cholesterol synthesis and upregulating the LDL receptor in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis* 193: 86-93.
- Chen JS, Wei SC, Marshall MR (1991) Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. *J Agric Food Chem* 39: 1897-1901.
- Cho MJ, Park MJ, Lee HS (2007) Nitrite scavenging activity and SOD-like activity of sterol glucoside from *Chrysanthemum coronarium* L. var. *spatiosum*. *Korean J Food Sci Technol* 39: 77-82.
- Cho SY, Choi JH, Ham SS, Oh DH (2005) Antimicrobial activities of green tea extract and fractions on the *E. coli* O157: H7. *J Food Hyg Safety* 20: 48-52.
- Choe IU, Jeong CH, Park YG (2003) Anticariogenic activities of various plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1221-1225.
- Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(5): 723-727.
- Cushman DW, Cheung HS (1973) Inhibition of homogenous angiotension-converting enzyme inhibitor during natto fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 737-742
- Erdos EG, Skidgel RA (1987) The angiotensin I converting enzyme. *Lab Invest* 56: 345-348.

- Folin O, Denis W (1915) A colorimetric method for determination of phenols (phenol derivatives) in urine. *J Biol Chem* 22: 305-308.
- Gray JI, Dugan Jr LR (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J Food Sci* 40: 981-984.
- Jang JH, Choi HS, Cheong HS, Kang OJ (2007) A comparison of the antioxidant activity of barley leaf tea and green tea according to leaching conditions in distilled water. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 165-172.
- Jin HH, Yang JL, Jeong JH, Kim YH (2004) Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 47-51.
- Jo KH, Pae YR, Yang EJ, Park EJ, Ma SJ, Park YS, Chung DO, Jung ST (2006) Major constituents and bioactivities of tea products by various manufacturing. *Korean J Food Preserv* 13: 596-602.
- Kim HJ, Ryu SK, Roh JC, Lee SJ, Park SK (2003) Changes in liposygenase activity and volatile compounds of fresh tea leaves during early growing season. *J Korean Soc Agr Chem Biotechnol* 46: 23-27.
- Kim JK Lee HS (2000) Tyrosinase-inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of *Coix lachryma-jobi* L. var. *ma-yuen* [Roman.] stapf. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1409-1413.
- Kim JK, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Chun SS, Choi C (1997) Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J Food Sci Technol* 29: 173-177.
- Kim SH, Han DS, Park JD (2004) Changes of some chemical compounds of Korean (Posong) green tea according to harvest periods. *Korean J Food Sci Technol* 36: 542-546.
- Kunugi A, Aoki T, Kunugi S (1988) Determination of caffeine in coffee, black tean and green tea by high performance liquid chromatography. *Food Hygienic Society of Japan* 29: 136-140.
- Kwon EK, Kim YE, Lee CH, Kim HY (2006) Screening of nine herbs with biological activities on ACE inhibition, HMG-CoA reductase inhibition, and fibrinolysis. *Korean J Food Sci Technol* 38: 691-698.
- Leaf CD, Vecchio AJ, Roe DA, Hotchkiss JH (1987) Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. *Carcinogenesis* 8: 791-795.
- Lee JH, Baek IY, Ko JM, Kang NS, Shin SH, Lim SG, Oh KW, Shin SO, Park KY, Park KH, Ha TJ (2008) Antioxidant and tyrosianse inhibitory activities from seed coat of brown soybean. *Food Sci Biotechnol* 17: 1-7.
- Lee KD, Chang HK, Kim HK (1997) Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushroom. *Korean J Food Sci Technol* 29: 432-437.
- Lee YS, Choi JB, Joo EY, Kim NW (2007) Antioxidative activities and tyrosinase inhibition of water extracts from *Ailanthus altissima*. *J. Korean Soc Food Sci Nutr* 36(9): 1113-1119.
- Lim JA, Na YS, Baek SH (2004) Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of ethanol extract from *Phyllonolchys bambusoides*. *Korean J Food Sci Technol* 36: 306-310.
- Lim JH, Kim BK, Park CE, Park KJ, Kim JC, Jeong JW, Jeong SW (2008) Antioxidative and antimicrobial activities of persimmon leaf tea and green tea. *J East Asian Soc Dietary Life* 18(5): 797-804.
- Ma SJ (2000) Inhibitory effect of onion seasoning on angiotension converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 395-400.
- Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Mirvish SS (1975) Formation of N-nitroso compounds: Chemistry, kinetics, and *in vivo* occurrence. *Toxicol Appl Pharmacol* 31: 325-351.
- Morre DJ, Morre DM, Sun H, Cooper R, Chang J, Janle EM (2003) Tea catechin synergies I inhibition of cancer cell proliferation and of a cancer specific cell surface oxidase (ECTO-NOX). *Pharmacol Toxicol* 92: 234-241.
- Park YS (2002) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 23-31.
- Ryu BH, Park CO (1997) Antioxidant effect of green tea extracts on enzymatic activities of hairless mice skin induced by ultraviolet B light. *Korean J Food Sci Technol* 29: 355-361.
- Serafini M, Ghiselli A, Luzzi-Ferro A (1996) *In vivo* antioxidant effect of green and black tea in man. *European J Clin Nutr* 50: 28-32.
- Son GM, Bae SM, Chung JY, Shin DJ, Sung TS (2005) Antioxidant effect of the green tea and puer tea extracts. *Korean J Food Nutr* 18(3): 219-224.
- Vermeirssena V, Camqb JV, Verstraetea W (2002) Optimization and validation of an angiotensin-converting enzyme

- inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *J Biochem Bioph Methods* 51: 75-87.
- Wee JH, Moon JH, Park KH (1999) Catechin content and composition of domestic tea leaves at different plucking time. *Korean J Food Sci Technol* 31: 20-23.
- Woo HS, Choe HJ, Han HS, Park JH, Son JH, An BJ, Son GM, Choe C (2003) Isolation of polyphenol from green tea by HPLC and its physiological activities. *Korean J Food Sci Technol* 35: 1199-1203.
- Yoo MY, Jung YJ, Yang JY (2005) Antimicrobial activity of herb extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1130-1135.
- Yun KA, Park YJ, Bae SJ (2004) Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Brassica oleracea* L. fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 7-15.
- (2009년 3월 13일 접수, 2009년 6월 28일 채택)