



In vitro antioxidant activity of black tea (*Camellia sinensis* L.) residue extract

Dong Chung Kim¹

홍차박 추출물의 *in vitro* 항산화 활성

김 동 청¹

Received: 31 July 2019 / Accepted: 26 August 2019 / Published Online: 30 September 2019
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2019

Abstract A black tea (*Camellia sinensis* L.) residue extract (BTRE) was prepared by 30% ethanol extraction to evaluate its *in vitro* antioxidant activity. The yield and polyphenol content of BTRE were 22.4±1.18% and 23.2±1.02 µg gallic acid equivalents/mg-extract, respectively. Antioxidant activity of BTRE proportionally increased as BTRE concentration increased. IC₅₀ values of BTRE for cation radical, free radical and nitrite scavenging were 141.8, 108.1, and 397.2 µg/mL, respectively. Also IC₅₀ value of BTRE for ferric reducing anti-oxidant power was 97.8 µg/mL. BTRE effectively inhibited linoleic acid peroxidation. These results imply that BTRE possessed potent antioxidant activity, thus being utilized as a physiologically active material.

Keywords Antioxidant activity · Black tea (*Camellia sinensis* L.) residue · Ethanol extract · Polyphenol

서 론

차(*Camellia sinensis* L.)는 커피와 함께 전 세계에서 음료로 가장 많이 소비되고 있는 식물이다. 차잎에는 카테킨과 플라보노

이드계 등의 폴리페놀 화합물이 건조중량 대비 10-25% 들어있으며[1], 차잎의 폴리페놀의 75% 이상을 차지하는 카테킨류의 주요 화합물로는 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate 등이 알려져 있다[2]. 차잎의 폴리페놀은 강력한 천연 항산화 물질로서 항염증, 항돌연변이 및 항암 효과를 가지고 있고[3,4], 고혈압과 동맥경화 억제 등의 심혈관계 질환을 예방하는 물질로 알려져 있다[5,6].

주로 음용하는 차의 종류로는 차잎을 열처리한 녹차(green tea), 반발효차인 우롱차(oolong tea) 및 차잎을 85% 정도 발효시킨 홍차(black tea) 등이 있으며 열처리 및 발효 정도에 따라 차의 맛과 향의 기호뿐만 아니라 성분과 약리효과도 달라진다[1,7]. 세계에서 생산되는 차의 비중이 홍차 78%, 녹차 20% 및 우롱차 2%로 알려져 있듯이 홍차가 주된 차 제품으로 자리잡고 있다[8]. 홍차는 차잎의 발효 과정을 거치는 동안 카테킨 함량은 감소하지만 대신에 항산화 물질인 theaflavin와 thearubigin의 함량이 증가하기 때문에 여전히 우수한 항산화 활성을 나타낸다[9,10]. 대부분의 홍차 가공품은 홍차를 뜨거운 물로 추출하여 제조되고 있으며, 음료 제조 공정에서 다량의 잔사인 홍차박이 부산물로 배출된다[11]. 홍차박에도 여전히 생리활성 성분이 다량 잔존하고 있으나 아직까지 홍차박의 활용은 미미한 실정이다. 홍차박의 활용에 대해서는 마이크로파를 이용하여 홍차박의 추출 수율을 높이는 방법[12]이 보고되었고, 홍차박을 80% 메탄올 및 10% 에탄올로 추출하여 폴리페놀 함량과 유리라디칼 소거활성을 확인[11,13]한 연구가 있으나 아직까지 홍차박 추출물의 항산화 효과에 대한 체계적인 연구는 부족한 형편이다. 따라서 본 연구에서는 홍차박에 잔존하는 항산화 성분을 물과 에탄올의 혼합용액으로 추출한 후 폴리페놀 함량, 다양한 라디칼에 대한 소거활성, 아질산염 소거활성, 환원능 및 지질과산화 억제활성을 확인하여 홍차박의 항산화능에 관한 기존의 연구[11-13]를 보완함으로써 대부분 폐기되는 홍차박의 생리활성 소재로서 활용도 향상에 기여하고자 하였다.

Dong Chung Kim (✉)
E-mail: kimdc@chungwoon.ac.kr

¹Department of Chemical Engineering, Chungwoon University, Incheon 22100, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

실험 재료 및 홍차박 추출물 제조

본 실험의 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, sodium carbonate, 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline)-sulfonic acid (ABTS), potassium persulfate, L-ascorbic acid, 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), sodium nitrite, potassium ferricyanide (III), trichloroacetic acid, ferric chloride, linoleic acid, ammonium thiocyanate, ferrous chloride 및 α -tocopherol 은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을, 그 외 시약은 1급 이상을 사용하였다.

스리랑카산의 홍차에서 얻어진 홍차박(Yoarreum Yoahaeng Trading Co., Bangkok, Thailand)을 건조된 상태로 들여와서 60°C에서 4시간 재건조한 후 분말화(<500 μ m)하여 실험 재료로 사용하였다. 홍차박 분말에 30% 에탄올을 10배(w/w) 넣고 실온에서 2시간 추출한 후 원심분리(2,000 \times g, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액은 동결건조하여 냉장 보관한 후 30% 에탄올에 농도별로 희석하여 실험 시료로 사용하였다.

폴리페놀 화합물 함량

홍차박 30% 에탄올 추출물의 페놀성 화합물 함량은 폴린(Folin-Ciocalteu) 시약을 사용하여 측정하였다[14]. 증류수 0.8 mL에 홍차박 추출 시료 0.2 mL과 폴린 시약을 1 mL씩 넣고 5분 동안 반응시킨 반응액에 6% sodium carbonate 용액을 1 mL씩 첨가하여 1시간 동안 정치시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였고, 총 폴리페놀 함량은 μ g gallic acid equivalent (GAE)/mg-추출물로 나타내었다.

ABTS 양이온라디칼 소거활성

홍차박 30% 에탄올 추출물의 양이온라디칼 소거능은 ABTS 시약을 사용하여 확인하였다[15]. 최종 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate의 농도가 되도록 혼합 용액을 만들고 빛이 없는 곳에 15시간 동안 정치시킨 후 적당히 희석하여 414 nm에서 흡광도가 1.5 ± 0.2 가 되도록 하였다. 준비된 ABTS 라디칼 용액 3 mL에 0-300 μ g/mL 농도의 홍차박 추출물을 각각 0.2 mL씩 첨가하고 실온에서 90분간 반응시킨 후 414 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양이온라디칼 소거능(%)은 $[1-(\text{시료구/무첨가 대조구})] \times 100$ 으로 계산하였고, 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 소거활성과 비교하였다.

DPPH 유리라디칼 소거활성

홍차박 30% 에탄올 추출물의 유리라디칼 소거능은 DPPH 시약을 사용하여 확인하였다[16]. 30% 에탄올 용액 2 mL에 0.2 mM DPPH 용액 0.8 mL와 0-250 μ g/mL 농도의 홍차박 추출물을 각각 0.2 mL씩 첨가하고 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유리라디칼 소거능(%)은 $[1-(\text{시료구/무첨가 대조구})] \times 100$ 으로 계산하였고, 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 소거활성과 비교하였다.

아질산염 소거활성

홍차박 30% 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성은 Griess 시약을 사용하여 확인하였다[17,18]. 0.2 M citric acid 완충액(pH

1.2) 8 mL에 0-1.2 mg/mL 농도의 홍차박 추출물을 각각 1 mL씩 넣고 즉시 1 mM sodium nitrite 용액을 1 mL씩 첨가한 후 37°C에서 1시간 반응시켰다. 총 10 mL의 반응액에서 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 용액 3 mL과 Griess 시약 [17] 0.4 mL을 부가하여 실온에서 15분간 정치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거능(%)은 $[1-(\text{시료구/무첨가 대조구})] \times 100$ 으로 계산하였고, 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 소거활성과 비교하였다.

환원력

홍차박 30% 에탄올 추출물의 환원력은 Fe^{3+} 이온을 사용하여 ferric reducing anti-oxidant power (FRAP)법으로 확인하였다 [19]. 0.2 M phosphate 완충액(pH 6.6) 2.5 mL에 0-300 μ g/mL 농도의 홍차박 추출물 2.5 mL와 1% potassium ferricyanide (III) 용액 2.5 mL를 첨가한 후 50°C에서 20분 반응시켰다. 반응액에 10% trichloroacetic acid 용액을 2.5 mL씩 처리한 후 원심분리(2,500 \times g, 5분)하여 상등액을 얻었다. 상등액을 각각 5 mL씩 취하고 여기에 증류수 5 mL와 0.1% ferric chloride 용액 1 mL를 부가한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 환원력은 흡광도값으로 나타내었고, 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 FRAP과 비교하였다.

Linoleic acid에 대한 지질과산화 억제활성

홍차박 30% 에탄올 추출물의 지질과산화 억제활성은 불포화 지방산의 산화물인 과산화물을 측정하는 ferric thiocyanate법으로 확인하였다[20]. 50 mM phosphate 완충액(pH 7.0) 6 mL에 0-140 μ g/mL 농도의 홍차박 추출물 2 mL와 2.51 mg/mL linoleic acid 용액 2 mL를 혼합한 후 45°C에서 72시간 동안 정치시켰다. 24시간 마다 시료를 0.1 mL씩 채취하여 75% ethanol 용액 4.7 mL에 넣은 후 순차적으로 30% ammonium thiocyanate 용액 0.1 mL을 가하고 실온에서 5분간 정치시켰다. 이후 20 mM ferrous chloride 용액을 0.1 mL씩 부가하고 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화 억제능(%)은 $[1-(\text{시료구/무첨가 대조구})] \times 100$ 으로 계산하였고, 양성 대조물질인 α -tocopherol의 소거활성과 비교하였다.

결과 및 고찰

홍차박 추출물의 수율 및 폴리페놀 화합물 함량

식품 산업에서는 천연물의 추출 용매로 물과 에탄올이 사용 가능하기 때문 [21-23]에 0(증류수), 30, 50, 70 및 100% 에탄올로 각각 홍차박을 추출하였고, 30% 에탄올 용액으로 추출하였을 때 폴리페놀 함량과 유리라디칼 소거능이 가장 높게 나타나 30% 에탄올 용액을 홍차박의 추출 용매로 사용하였다. 홍차박의 30% 에탄올 추출물의 수율은 $22.4 \pm 1.18\%$ 로 나타나서 (Table 1), 홍차를 뜨거운 물로 우려내고 남은 홍차박에는 여전히 많은 고형분이 남아 있음을 알 수 있었다. 이는 홍차를 우려릴 때 열수로 단시간(5분 이내) 추출하기 때문에 수용성 성분이 충분히 우려나지 않아 상당량 잔류하고 있고, 또한 극성이 작은 성분은 물에 대한 용해도가 낮아 열수에는 추출되지 않았다가 에탄올 용액에 우려나온 것으로 볼 수 있다. 대부분의 경우 물을 용

Table 1 Yield and polyphenol content of 30% ethanol extract from black tea residue

Yield (%)	Polyphenol content ¹⁾ (µg GAE/mg)
22.4±1.18 ²⁾	23.2±1.02 ²⁾

¹⁾Polyphenol content was expressed as gallic acid equivalents (GAE)

²⁾Results represent mean and SD of triplicate measurements

매로 사용하여 천연물을 추출하였을 때 수율이 가장 높고, 추출 용매의 에탄올 농도가 증가할수록 수율이 낮게 나타난다 [22,24]. 실제로 녹차, 우롱차 및 홍차를 100 °C의 뜨거운 물로 5분간 추출하였을 때 수율이 각각 20.5, 20.7 및 22.3%로 나타났다[1], 녹차, 우롱차 및 홍차를 에탄올로 추출할 경우에는 수율이 11.4, 6.0 및 5.5%로 보고[25]된 바 있어 차 종류에 상관 없이 물 추출에서 수율이 높음을 알 수 있었다.

홍차박 추출물의 폴리페놀 함량은 추출물 mg 당 23.2±1.02 µg GAE (Table 1)로 나타나(Table 1), 홍차박에도 여전히 폴리페놀 화합물이 상당량 잔존함을 알 수 있었다. 식물 추출물의 항산화 활성은 페놀성 화합물에 기인하는 것으로 알려져 있고, 여기에는 polyphenol계, phenolic acid계, flavonoid계 및 phenylpropanoid계 화합물들이 포함된다[26]. 홍차의 항산화 폴리페놀로는 카테킨뿐만 아니라 홍차 특유의 성분인 theaflavin과 thearubigin 등이 알려져 있다[9,10]. 녹차, 보이차 및 우롱차의 열수 추출물에는 폴리페놀 화합물이 각각 85.62, 75.95 및 83.52 µg/mg 함유되어 있었고[27], 특히 홍차의 열수 추출물에는 72.03 µg/mg의 폴리페놀이 들어있어[27] 홍차박에 비해 3배 정도 폴리페놀 함량이 높았다. 홍차박 추출물의 폴리페놀 함량은 기준에 보고된 모시잎 추출물(105.0 µg/mg) [22], 쑥 추출물(55.6 µg/mg) [28], Napier grass 추출물(79.6 µg/mg) [21] 및 두충잎 추출물(75.8-110.0 µg/mg) [29]에 비해 크게 낮았는데 이는 홍차박이 홍차를 우려내고 남은 부산물이기 때문에 그 추출물의 폴리페놀 함량이 낮은 것으로 볼 수 있다.

홍차박 추출물의 ABTS 양이온라디칼 소거능

홍차박 30% 에탄올 추출물의 ABTS 양이온라디칼 소거활성을 확인하였다. 홍차박 추출물은 농도에 비례하여 ABTS 양이온라

Table 2 Antioxidant effect of 30% ethanol extract from black tea residue

Antioxidant effect	IC ₅₀ values (µg/mL) ¹⁾	
	Black tea residue extract	L-ascorbic acid ²⁾
Cation radical scavenging activity ³⁾	141.8±5.94	51.8±1.92
Free radical scavenging activity ³⁾	108.1±1.82	40.0±0.41
Nitrite scavenging activity ³⁾	397.2±3.97	342.5±24.47
Ferric reducing anti-oxidant power ⁴⁾	97.8±5.07	57.6±3.09

¹⁾Data represent means and SD of triplicate measurements

²⁾L-ascorbic acid was used as a positive control

³⁾IC₅₀ values for ABTS cation radical, DPPH free radical, and nitrite scavenging activities were expressed as the effective concentrations at which 50% of radicals and nitrite were scavenged, respectively

⁴⁾IC₅₀ value for ferric reducing anti-oxidant power was expressed as the concentration at which the absorbance was 0.5

디칼을 효과적으로 소거하였다(Fig. 1A). 홍차박 추출물은 212.7 µg/mL의 농도에서 양이온라디칼을 70.7% 소거하였으며(Fig. 1A), 양이온라디칼을 50% 소거하는 농도인 IC₅₀값은 141.8±5.94 µg/mL (Table 2)로 낮게 나타나 홍차박 추출물은 양이온라디칼을 강력하게 소거함을 알 수 있었다. 이는 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 IC₅₀값인 51.8±1.92 µg/mL (Table 2)에 비해서 2.74배 높았으나, 홍차박 추출물은 홍차에서 생리활성 성분을 열수로 추출하고 남은 잔여물이고 또한 항산화 성분 이외의 여러 화합물이 다량 들어있다는 것을 감안하면 홍차박 추출물의 양이온라디칼 소거활성은 매우 우수한 것으로 사료된다. 또한 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 열수추출물이 250 µg/mL의 농도에서 ABTS 양이온라디칼을 각각 92.09, 80.29, 82.67 및 48.07% 소거한다는 보고[27]와 비교하여도 홍차박 추출물의 양이온라디칼 소거활성은 우수하였고, 이는 홍차박 추출물에 양이온라디칼을 소거하는 항산화 물질이 여전히 다량 잔존함을 보여준다. 홍차박 추출물의 ABTS 양이온라디칼 소거에 대한 IC₅₀ 값은 기준에 보고된 Napier grass 추출물(350.0 µg/mL) [21]과 백연수잎 추출물(667.2 µg/mL) [23]보다 크게 낮았으나, 섭교사리잎 추출물(92.6 µg/mL) [30]과 물영경귀 추출물(40.7 µg/mL) [30]보다는 높았다.

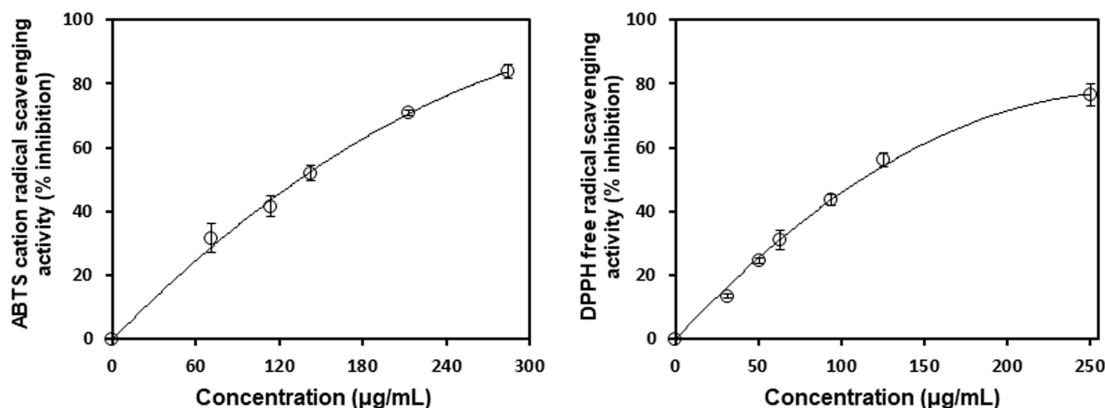


Fig. 1 ABTS cation radical scavenging (A) and DPPH free radical scavenging (B) activities of 30% ethanol extract from black tea residue. Results were mean and SD of triplicate measurements

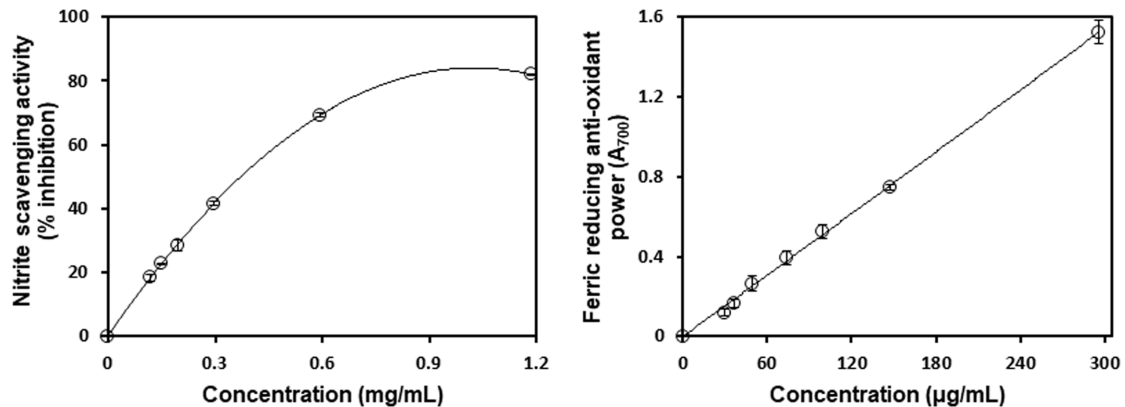


Fig. 2 Nitrite scavenging activity (A) and ferric reducing anti-oxidant power (B) of 30% ethanol extract from black tea residue. Results were mean and SD of triplicate measurements

홍차박 추출물의 DPPH 유리라디칼 소거능

홍차박 30% 에탄올 추출물의 DPPH 유리라디칼 소거활성을 확인하였다. 홍차박 추출물은 농도에 비례하여 DPPH 유리라디칼을 효과적으로 소거하였다(Fig. 1B). 홍차박 추출물은 250.0 µg/mL의 농도에서 유리라디칼을 76.4% 소거하였으며(Fig. 1B), 유리라디칼을 50% 소거하는 농도인 IC₅₀값은 108.1±1.82 µg/mL (Table 2)로 낮게 나타나 홍차박 추출물은 양이온라디칼뿐만 아니라 유리라디칼도 강력하게 소거함을 알 수 있었다. 이는 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 IC₅₀값인 40.0±0.41 µg/mL (Table 2)에 비해서 2.70배 높았으나, 홍차박 추출물이 다양한 여러 화합물의 혼합체임을 고려하면 홍차박 추출물의 유리라디칼 소거활성은 뛰어나다고 볼 수 있다. 또한 녹차, 우롱차 및 홍차의 열수추출물의 DPPH 유리라디칼 소거에 대한 IC₅₀값이 각각 11.3, 12.7 및 14.9 µg/mL로 알려졌고[31], 다른 연구에서도 녹차 추출물의 IC₅₀값이 25.2 µg/mL [32]로 보고된 바 있어, 이와 비교하면 홍차박 추출물의 유리라디칼 소거활성은 낮았지만 여전히 홍차박 추출물에는 유리라디칼을 소거하는 항산화 물질이 상당량 잔존함을 알 수 있었다. 홍차박 추출물의 DPPH 유리라디칼 소거에 대한 IC₅₀값은 기존에 보고된 Napier grass 추출물(1,930.0 µg/mL) [21]보다는 크게 낮았으나, 항산화 효과가 우수하다고 알려진 백연수잎 추출물(133.5 µg/mL) [23], 곤드레잎 추출물(111.2 µg/mL) [33] 및 고구마잎 추출물(109.0-168.0 µg/mL) [34]과는 비슷한 값을 보여주었다.

홍차박 추출물의 아질산염 소거능

홍차박 30% 에탄올 추출물의 아질산염 소거활성을 위산의 조건인 pH 1.2에서 확인하였다. 홍차박 추출물의 아질산염 소거활성은 유리라디칼 및 양이온라디칼 소거활성과 마찬가지로 농도에 비례하여 증가하였다(Fig. 2A). 홍차박 추출물이 아질산염을 50% 소거하는데 필요한 농도인 IC₅₀값(397.2±3.97 µg/mL)은 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 IC₅₀값(342.5±24.47 µg/mL)과 큰 차이가 없는 것(Table 2)으로 나타나, 홍차박 추출물의 아질산염 소거능은 매우 뛰어난 것으로 사료된다. 발색제 등으로 식품 산업에서 많이 사용되는 아질산염은 위산과 같은 산성 조건에서도 amine계의 화합물과 반응하여 발암성 nitrosamine을 생성하는데 폴리페놀 화합물은 이러한 아질산염을 소거함으로써

nitrosamine의 생성을 억제한다[35]. 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 열수추출물이 100 µg/mL의 농도에서 아질산염을 각각 43.3, 37.0 및 39.7% 소거한다는 보고[1]와 비교하면 홍차박 추출물의 아질산염 소거활성이 다소 낮기는 하지만, 홍차박에도 아질산염을 소거하는 항산화 물질이 여전히 다량 잔존함을 보여준다. 홍차박 추출물의 아질산염 소거에 대한 IC₅₀값은 기존에 보고된 Napier grass 추출물(1,930 µg/mL) [21] 및 백연수잎 추출물(2,583 µg/mL) [23]에 비해서 크게 낮았고, 1 mg/mL 농도의 추출물이 41%의 아질산염을 소거한다는 기존의 보고[36]와 비교해 보아도 홍차박 추출물의 아질산염 소거활성은 매우 우수한 것으로 여겨진다.

홍차박 추출물의 환원력(FRAP)

홍차박 30% 에탄올 추출물의 Fe³⁺ 이온에 대한 전자 공여능력인 환원력을 확인하였다. 홍차박 추출물의 환원력은 라디칼 및 아질산염 소거활성과 마찬가지로 농도에 비례하여 증가하였다(Fig. 2B). 환원력의 IC₅₀값은 반응액의 흡광도가 0.5가 되는데 필요한 농도[23]를 의미하는데 홍차박 추출물의 IC₅₀값은 97.8±5.07 µg/mL로 양성 대조물질인 L-ascorbic acid의 IC₅₀값(57.6±3.09 µg/mL)에 비해 다소 높게 나타났다(Table 2). 녹차, 우롱차 및 홍차의 열수추출물이 1 mg/mL의 농도에서 환원력의 흡광도가 각각 2.47, 2.75 및 1.32로 나타난다는 기존의 보고[27]와 비교하여도 홍차박 추출물의 환원력은 우수하였다. 홍차박 추출물의 환원력에 대한 IC₅₀값은 기존에 보고된 Napier grass 추출물(840.0 µg/mL) [21], 백연수잎 추출물(250.0 µg/mL) [23] 및 복분자 추출물(871.0 µg/mL) [37]에 비해서 상당히 낮게 나타나 홍차박 추출물의 환원력은 매우 우수한 것으로 여겨진다.

홍차박 추출물의 지질과산화 억제능

홍차박 30% 에탄올 추출물이 불포화 지방산인 linoleic acid의 산화에 의한 과산화물의 생성을 억제하는 정도를 측정함으로써 홍차박 추출물의 지질과산화 억제활성을 확인하였다. 반응 시간에 따라 linoleic acid의 산화가 진행되어 과산화물의 생성이 증가하였고, 홍차박 추출물의 처리에 의해 과산화물의 생성이 억제됨을 알 수 있었다(Fig. 3A). 72시간 반응 후에도 홍차박 추출물은 농도에 비례하여 과산화물의 생성을 억제하였고(Fig. 3B),

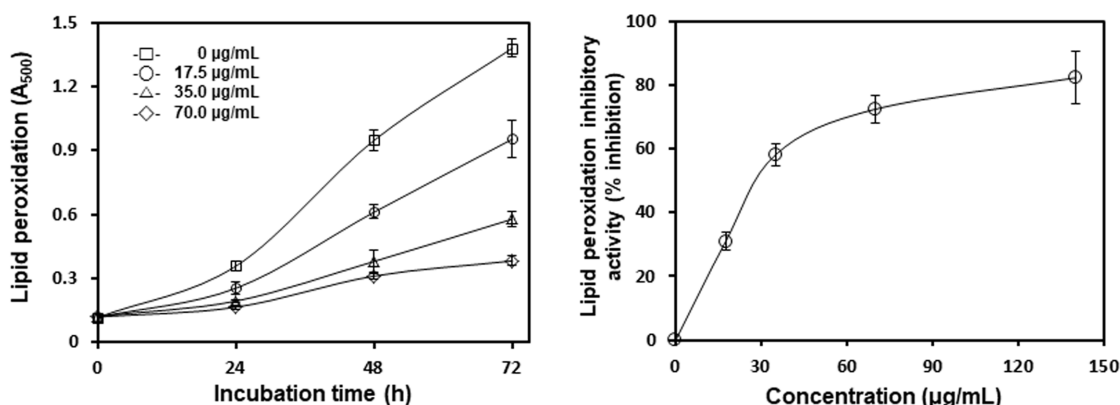


Fig. 3 Lipid peroxidation inhibitory effect of 30% ethanol extract from black tea residue. (A) Linoleic acid peroxidation inhibition as a function of incubation time. (B) Inhibitory activity of the extract against linoleic acid peroxidation as a function of the extract concentration after 72 h of incubation. Results were mean and SD of triplicate measurements

70.0 µg/mL의 홍차박 추출물 처리로 과산화물의 생성이 72.4% 억제되었다. 양성 대조물질인 α-tocopherol이 50.0 µg/mL 처리 시 59.8%의 억제활성을 보인 것과 비교하여도 홍차박 추출물의 지질과산화 억제활성은 우수한 것으로 여겨진다. 홍차를 비롯한 차 추출물은 과산화지질의 생성을 효과적으로 억제한다고 알려졌다[1,27,31], 홍차박 추출물 역시 우수한 지질과산화 억제활성을 보유하고 있었다. 이는 홍차 추출 시 비극성이 강한 폴리페놀 화합물이 극성 용매인 물에 잘 우러나지 않아 상당량 잔존하다가 홍차박을 30% 에탄올로 추출 시에 용출되어 지질의 산화를 효과적으로 억제하는 것으로 여겨진다[21,24]. 백연수잎 추출물은 555.0 µg/mL 농도에서 지질과산화를 54.1% 억제하였고[23], Napier grass 추출물은 85.0 µg/mL 농도에서 74.6% 억제[21], 삼나무잎 추출물은 200.0 µg/mL의 농도에서 85% 억제[38], 물엿경귀와 쇠무를 추출물들은 100.0 µg/mL의 농도에서 90% 이상 억제[30]한다는 기존의 연구 결과와 비교하여도 홍차박 추출물의 지질과산화 억제활성은 뛰어나다고 볼 수 있다.

이상의 결과에서 홍차를 우려내고 남은 부산물인 홍차박에도 폴리페놀이 상당량 잔존함을 확인하였고, 홍차박 추출물의 라디칼 및 아질산염에 대한 소거능, 환원력 및 지질과산화 억제능이 뛰어난 것을 보여주었다. 따라서 대부분 폐기되고 있는 홍차박을 재활용하여 생리활성 성분의 회수를 위한 효과적인 소재로 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

초 록

홍차를 우려내고 남은 부산물인 홍차박을 30% 에탄올로 추출하여 수율, 폴리페놀 함량 및 항산화 활성을 확인하였다. 홍차박의 추출 수율은 22.4±1.18%이었고, 폴리페놀은 추출물에 23.2±1.02 µg GAE/mg 들어있었다. 홍차박 추출물은 양이온라디칼, 유리라디칼 및 아질산염을 농도에 비례하여 소거하였고, 환원력과 지질과산화 억제활성도 농도의존적으로 증가하였다. 홍차박 추출물의 ABTS 양이온라디칼, DPPH 유리라디칼 및 아질산염 소거에 대한 IC₅₀값은 각각 141.8, 108.1 및 397.2 µg/m

이었고, 환원력에 대한 IC₅₀값은 97.8 µg/mL로 나타났다. 또한 홍차박 추출물은 linoleic acid의 과산화를 효과적으로 억제하였다. 결론적으로 홍차박 추출물은 우수한 항산화 활성을 보유하고 있어 생리활성 소재로의 활용 가능성을 보여주었다.

Keywords 에탄올 추출물 · 폴리페놀 · 항산화 활성 · 홍차박

References

1. Kang KO (2011) Physiological and antioxidant activities of green, oolong and black tea extracts. J East Asian Soc Dietary Life 21: 243–249
2. Choi OJ, Choi KH (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
3. Thitimuta S, Pithayanukul P, Nithitanakool S, Bavovada R, Leanpolchareanchai J, Saparpakorn P (2017) *Camellia sinensis* L. extract and its potential beneficial effects in antioxidant, anti-inflammatory, anti-hepatotoxic, and anti-tyrosinase activities. Molecules 22: 401
4. Chung FL, Schwartz J, Herzog CR, Yang YM (2003) Tea and cancer prevention: studies in animals and humans. J Nutr 133: 3268S–3274S
5. Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y (1986) Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol fed rats. J Nutr Sci Vitaminol 32: 613–622
6. Ishikawa T, Suzukawa M, Ito T, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hara Y, 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
7. Shon MY, Kim SH, Nam SH, Park SK, Sung NJ (2004) Antioxidant activity of Korean green and fermented tea extracts. J Life Science 14: 920–924
8. Muktar H, Ahmad N (2000) Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. Am J Clin Nutr 71: 1698S–1702S
9. Kimutai S, Wanyoko J, Kinyanjui T, Karori S, Muthiani A, Wachira F (2002) Determination of residual catechins, polyphenolic contents and antioxidant activities of developed theaflavin-3,3'-digallate rich black teas. Food Nutr Sci 7: 180–191
10. Leung LK, Su YL, Chen RY, Zhang ZS, Huang Y, Chen ZY (2001) Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. J Nutr 131: 2248–2251
11. Abdeltaif SA, SirElkhatim KA, Hassan AB (2018) Estimation of

- phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity of spent coffee and black tea (processing) waste for potential recovery and reuse in Sudan. *Recycling* 3: 27
12. Tsubaki S, Sakamoto M, Azuma J (2010) Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from tea residues under autohydrolytic conditions. *Food Chem* 123: 1255–1258
 13. Martono Y (2010) Potency of industrial tea waste: comparison between green and black tea industrial wastes as UV filter for sunscreen. *IJCC* 1: 54–59
 14. Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239–243
 15. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231–1237
 16. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199–1200
 17. Kim YH, Lee YJ, Park SO, Lee SJ, Lee OH (2013) Antioxidant compounds and antioxidant activities of fermented black rice and its fractions. *Korean J Food Sci Technol* 45: 262–266
 18. Gray JI, Dugan Jr LR (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci* 40: 981–985
 19. Vijayalakshmi M, Ruckmani K (2016) Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. *Bangladesh J Pharmacol* 11: 570–572
 20. Nakatani N, Kikuzaki H (1987) A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agric Biol Chem* 51: 2727–2732
 21. Kwon YJ, Kim DC (2019) *In vitro* antioxidant effect of ethanol extract from *Pennisetum purpureum*. *J Appl Biol Chem* 62: 167–172
 22. Kim C, In MJ, Kim DC (2015) *In vitro* antioxidant activity of ethanol extract from *Boehmeria nivea* L. leaves. *Food Eng Prog* 19: 76–81
 23. Kim DC, In MJ (2017) Antioxidative ability of ethanol extract from the leaves of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. *J Appl Biol Chem* 60: 185–190
 24. In MJ, Kim EJ, Kim DC (2018) *In vitro* anticancer and antioxidant effects of acetone extract of *Eucommia ulmoides* Oliver leaves. *J Appl Biol Chem* 61: 119–124
 25. Lee YJ, Ahn MS, Oh WT (1998) A study on the catechins contents and antioxidative effect of various solvent extracts of green oolong and black tea. *J Fd Hyg Safety* 13: 370–376
 26. Amin A, Yazdparast R (2007) Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem* 104: 21–29
 27. Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim KH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ (2009) Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong, and black teas. *Korean J Food Preserv* 16: 230–237
 28. Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park SD (2011) Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 29–36
 29. Zhang Q, Su Y, Zhang J (2013) Seasonal difference in antioxidant capacity and active compounds contents of *Eucommia ulmoides* Oliver leaf. *Molecules* 18: 1857–1868
 30. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233–240
 31. Yeo SG, Ahn CW, Lee YW, Lee TG, Park YH, Kim SB (1995) Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 299–304
 32. Oh JH, Kim EH, Kim JL, Moon YI, Kang YH, Kang JS (2004) Study on antioxidant potency of green tea by DPPH method. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1079–1084
 33. Lee SH, Jin YS, Heo SI, Shim TH, Sa JH, Choi DS, Wang MH (2006) Composition analysis and antioxidative activity from different organs of *Cirsium setidens* Nakai. *Korean J Food Sci Technol* 38: 571–576
 34. Li M, Jang GY, Lee SH, Woo KS, Sin HM, Kim HS, Lee J, Jeong HS (2012) Chemical compositions and antioxidant activities of leaves and stalks from different sweet potato cultivars. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1656–1662
 35. Mirvish SS (1995) Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposure to NOC. *Cancer Lett* 93: 17–48
 36. Park CS, Kim ML (2006) Functional properties of mugwort extracts and quality characteristics of noodle added mugwort powder. *Korean J Food Preserv* 13: 161–167
 37. Jun HI, Kim YA, Kim YS (2014) Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. fruits. *Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 381–388
 38. Ismail M, Manickam E, Danial AM, Rahmat A, Yahaya A (2000) Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract. *J Nutr Biochem* 11: 536–542