

석사학위 논문

녹차 추출물의 카페인 제거와  
항산화 활성에 관한 연구



제주대학교 대학원

식품공학과

이 주 연

2008년 2월

# 녹차 추출물의 카페인 제거와 항산화 활성에 관한 연구

지도교수 김 수 현

이 주 연

이 논문을 공학 석사학위 논문으로 제출함

2008년 2월

이주연의 공학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 강 영 주 印

위 원 김 수 현 印

위 원 임 상 빈 印

제주대학교 대학원

2008년 2월

Studies on Antioxidant Activity of the  
Decaffeinated Green tea, *Camellia*  
*sinensis* L., Extracts.

Ju-Yeon Lee

(Supervised by professor Su-Hyeon Kim)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement  
for the degree of Master of engineering

2008. 2.

Department of Food Science and Engineering  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

## 목 차

목 차	i
List of tables	iv
List of figures	vi
Abstract	vii
I. 서 론	1
II. 연구 사	5
1. 차의 특성과 분류	5
2. 차의 성분	8
1) 폴리페놀	8
2) 카페인	9
3) 유리 아미노산과 질소 화합물	9
4) 비타민	10
5) 무기성분	10
6) 기타	10
4. 녹차의 효능	10
1) 항산화 작용	10
2) 식중독균 억제와 충치예방 효과	11
3) 항 돌연변이 작용과 항암 작용	12
4) 혈압강하 작용	12

III. 재료 및 방법 .....	13
1. 차의 제조 .....	13
2. 실험 재료 .....	13
3. 시료의 제조 .....	15
4. 카페인 제거 과정 .....	15
5. 세포배양 .....	15
6. 폴리페놀 성분분석 .....	15
1) 시료의 전처리 .....	15
2) HPLC 분석조건 .....	16
7. 항산화 활성측정 .....	19
1) DPPH radical 소거활성 측정 .....	19
2) Nitric oxide 소거활성 측정 .....	20
3) Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거활성측정 .....	20
8. 총 폴리페놀화합물의 함량분석 .....	20
9. 세포독성측정 .....	21
10. Nitric oxide 생성억제 측정 .....	21
11. 통계학적 분석 .....	22
IV. 결과 및 고찰 .....	23
1. 폴리페놀 성분과 카페인의 함량 측정 .....	23
2. 카페인 제거 .....	25
3. 항산화 활성 .....	26
1) 녹차 추출물의 항산화 활성 .....	26

2) Xanthine oxidase 억제 활성 .....	32
3) Nitric oxide 생성저해 활성 .....	36
4. 총 폴리페놀의 함량 .....	39
5. 녹차 추출물과 탈카페인화된 추출물의 세포독성과 Nitric oxide 생성 억제활성 .....	42
V. 요약 .....	48
VI. 참고 문헌 .....	49



## List of tables

Table 1. Green tea sample sources used for the experiments.

Table 2. HPLC conditions for Polyphenolic compounds composition analysis.

Table 3. Mobile phase conditions for HPLC gradient-elution.

Table 4. Contents of polyphenolic compounds of water extracts from various green teas in Korea.

Table 5. Contents of polyphenolic compounds of water extracts from various green teas in Japan.

Table 6. Antioxidant activity(DPPH free-radical scavenging)of various green teas in Korea.

Table 7. Antioxidant activity(DPPH free-radical scavenging)of various green teas in Japan.

Table 8. Xanthin oxidase inhibitory activities of various green teas in Korea.

Table 9. Xanthin oxidase inhibitory activities of water extracts from various green teas in Japan.

Table 10. Nitric oxide scavenging activities of water extracts from various green teas in Korea.

Table 11. Nitric oxide scavenging activities of water extracts from various green teas in Japan.

Table 12. Cytotoxicity of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Korea on RAW 264.7 cells.

Table 13. Cytotoxicity of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Japan on RAW 264.7 cells.

Table 14. Effects of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Korea on nitric oxide production in LPS-activated RAW 264.7 cells.

Table 15. Effects of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Japan on nitric oxide production in LPS-activated RAW 264.7 cells.



## List of figures

- Fig. 1. Processing green tea (non-fermented tea) manufacturing.
- Fig. 2. HPLC chromatogram of Polyphenolic compounds in green tea.
- Fig. 3. Chromatogram at 280 nm of the pellet fraction resulting from the caffeine precipitation of a green tea brew.
- Fig. 4. Chromatogram at 280 nm of the supernatant fraction resulting from the caffeine precipitation of a green tea brew.
- Fig. 5. Concentrations of antioxidant activity(AOA) from green teas and decaffeinated green teas in Korea.
- Fig. 6. Concentrations of antioxidant activity(AOA) from green teas and decaffeinated green teas in Japan.
- Fig. 7. Concentration of total polyphenol compounds in green teas and decaffeinated green teas in Korea.
- Fig. 8. Concentration of total polyphenol compounds in green teas and decaffeinated green teas in Japan.
- Fig. 9. Effect of water extracts from decaffeinated Kuki-cha on the nitric oxide production in LPS-sitimulated RAW 264.7 cells.

## Abstract

The present study was conducted to know the antioxidant activity of Korean green tea extracts and Japanese green tea extracts and polyphenol compounds contents. The concentrations of total polyphenolics in Korean green tea extracts were the highest activities first harvest of extracts than teas from late April of extracts and EGCG of content form a kind of polyphenol compounds was 10.05 mg/g by weight. Japanese green tea extracts of total polyphenolics content were sen-cha>gyokuro>hoji-cha1>hoji-cha2>kuki-cha and EGCG content of sen-cha was 15.51 mg/g by weight. Xanthine oxidase inhibitory activity of IC<sub>50</sub> values was 147.4  $\mu$ g/mL in first harvest of extracts in Korea and sen-cha(Japanese green tea extracts) was 269.5  $\mu$ g/mL. The water extracts from decaffeinated Kuki-cha dose-dependently inhibited the nitric oxide production in a lipopolysaccharide-stimulated murine macrophage RAW 264.7 cells. These results suggest that extract of decaffeinated green tea could be used as functional material in developing a antioxidant and anti-inflammatory activity.

## I. 서 론

오늘날 현대사회에는 최근 고령화와 식생활에 변화에 따라 활성산소의 생성이 많아짐에 따라 활성산소의 방어능을 초과하여 최근 성인병이라 불리는 관절염, 순환기장애 뿐만 아니라 치매 등과 같은 여러 질환의 원인이 되고 있다. 이들 활성산소들은 생체가 외부로부터의 방사선, 자외선 등의 노출, 대기오염 물질과 더불어 과도한 스트레스에 의한 체내의 생화학적 반응에 의해 생성되면 지질의 과산화, 단백질-SH가와의 반응에 의한 효소의 실활, DNA, RNA 효소 및 세포막에 손상을 일으켜 암이나 염증을 유발한다(27).

Nitric oxide(nitrogen monoxide, NO)는 NO synthases(NOSs)에 의해 L-arginine 이 L-citrulline으로 전환되면서 생성되는 유리기로 체내 방어 및 신호전달, 혈관 확장 등의 2차 신호전달자로서 다양한 생리기능을 가진다. NOSs는 물리화학적 성질에 따라 3종류의 동종효소로 분류된다. 이중에 neural NOS(nNOS)와 endothelial NOS(eNOS)는 세포에 지속적으로 존재하기 때문에 constitutive NOS로 분류되어 cNOS에 의한 NO생성은 생체 내 항상성 조절에 중요한 역할을 한다(20). 상대적으로 대식세포, 혈관평활근세포, 내피세포 등에서 lipopolysaccharide(LPS), interferon- $\gamma$ (INF- $\gamma$ ) 및 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )등의 자극제들에 노출되는 경우에 발현되는 inducible NOS(iNOS)가 있다. 이 iNOS에 의해 생성되는 NO는 혈관 투과성, 부종 등의 염증반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다(34,35,36,37,41,43).

대식세포는 선천면역뿐만 아니라 획득면역 등 다양한 숙주 반응에 관여하여 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 염증 반응 시에는 NO를 생산하여 감염초기에 생체방어에 중요한 역할을 한다(42,45).

차는 차나무과(*Theaceae*)에 속하는 다년생 상록관목인 차나무(*Camellia sinensis* L.)의 어린잎을 말린 것으로 원산지는 인도와 중국 사이의 고온지방 즉, 인도의 앳샘지방과 중국의 사천성, 운남성 일대지역에서 자생하고 아시아를

중심으로 아프리카, 러시아 등 아열대 온대에 걸쳐 광범위하게 재배되고 있다. 차는 기원전 2,737년 중국에서 신농 황제의 차 발견으로 시작하여 4~5세기 양자강 위주로 차문화가 보편화 되었고, 민간 의약용으로 오랜 세월동안 질병치료와 예방의 목적으로 이용되었다(7).

차나무는 광범위하게 분포되어 오랜 기간 동안 생태학적으로 변이되어 생산지의 재배환경에 따라 차의 특성을 나타내는 중요성분은 같으나 화학성분의 조성비율을 크게 다르게 나타나고 각 지역에 따라 차의 제조방법이 다르다(18).

우리나라에서 재배되는 녹차용 품종으로는 재래종(금곡록, 협산향 등)과 최근에 일본에서 도입한 야부키타(Yabukita)종이 있다. 우리나라는 덩음차를 선호하는데 어린 차 잎을 원료로 산화효소를 불활성화 시키기 위해 가마솥에서 덩음으로써 원료에 가깝게 보존할 수 있다.

대표적으로 일본에서 차의 전체생산의 75%가 비발효차인 센차는 증기로 찌서 효소를 불활성화 시키는 증제차이다. 교쿠로(옥로)는 일변차의 새싹이 두 세장 펴 졌을때 차 발 전체를 갈대나 짚으로 20일 정도 덮어쓰워 햇볕을 차단한 차잎으로 만들고, 쿠키차(경차)는 교쿠로와 센차의 제조과정에서 나오는 줄기만 선별해서 만든 차이다. 그중에서도 교쿠로와 고급센차의 줄기는 카리나데라고 불리워 귀중히 여긴다. 또한 호지차는 번차와 녹차를 강한불로 볶아 만든 차로 구수한 향이 특징이다(17,23).

차에 함유되어 있는 주성분은 카페인(caffeine), 탄닌(tannin), 엽록소(chlorophyll), 비타민(vitamin)류인 A, B1, B2, C, E 와 유기성분인 아미노산, 단백질, 섬유질 그리고 무기성분인 칼슘(Ca), 마그네슘(Mg), 구리(Mn), 몰리브덴(Mo), 안티몬(Sb), 티탄(Ti) 등의 성분들이 다양하게 함유되고 있다(6).

녹차에는 다량의 항산화 폴리페놀 물질인 caffeine, theophylline을 함유하는 alkaloid와 theaflavin, flavonoid, catechin 등을 함유하고 있는데, 이들은 녹차의 정미성분으로 중요할 뿐만 아니라 항균작용, 갑상선기능항진 억제, 항산화작용, 암 발생 억제, cholesterol 재흡수 억제, 충치예방, 혈소판응집억제, 각성, 간장, 이뇨작용, 심근 및 신경중추를 자극하고 근육이완, 위산분비, 배뇨 촉진 및 약리 대사 활성화와 산소 소비 증가로 신진 대사를 증가시킨다고 보고되었다. 녹차에

함유되어 있는 폴리페놀 성분 중 대표적 생리활성 물질로는 카테킨(catechin)류는 (+)catechin(C), (+)gallocatechin(GC), (-)epicatechin(EC), (-)epigallocatechin(EGC), (-)epicatechin 3-gallate(ECG), (-)epigallocatechin-3-gallate(EGCG)로 6종류가 있고, 이 중에 EGCG 성분은 강한 흡수력과 산화력을 가지고 있어 항산화 작용, 항종양작용, 변이원 및 발암 프로모터 억제작용 등이 있는 것으로 보고되고 있다 (7,8,29,30).

카페인 분자(1,3,7-trimethylxanthine)는 화학적으로 생체 내 다른 대사물질 즉 purine(a-denine, guanine), adenosin, xanthine, uric acid와 아주 비슷하여 섭취 후 30분 내지 60분 만에 99%가 혈청으로 흡수되어 모든 조직에 확산된다. 카페인은 중추신경계와 말초신경계를 자극하여 적당량 섭취할 경우에는 신경 활동이 활발해 지고 피로를 경감시키는 효과가 있다. 그러나 과다하게 섭취하게 되면 중추신경계에 영향을 미쳐 수면시간에 문제를 유발할 수 있고 심장박동, 혈압 등에 영향을 미치며 위장, 소장, 결장, 내분비계에서도 영향을 미친다. 또한 불안, 흥분, 근육전을 등을 야기 시킨다. 특히 신장 혈액순환을 증가시킴으로써 신장의 사구체 여과율을 높여 오히려 신장의 재흡수를 저하시키는 등의 신장독성을 유발시키는 것으로 알려져 있다(14,25,16,47,15).

카페인을 alkaloid 중에서도 독성이 적은 물질이기 때문에 중독사의 예는 거의 없으나 의약품 또는 커피, 차 등의 기호식품으로 인해 카페인의 섭취가 애용되는 점으로 볼 때, 카페인에 대해서는 신중하게 인식할 필요가 있다(14).

제주지역에서 차나무 재배는 1910년대 서귀포시 서흥동 일대에 감귤원을 조성하면서 조경을 겸하여 심은 것이 차재배의 시작으로 알려지고 있다. 1950년대 중반에 이르러서 제주지역에서의 차 재배 가능성이 알려지면서 1956년에 도내에서는 처음으로 생산된 묘목을 제주도가 구입해서 다시 배포하는 형식으로 지원되어 다원을 조성한 것이 현대적인 차재배의 시초였다.

최근에는 제주지역의 감귤산업이 점차 감소하면서 대체작물로서 녹차를 선호하고 있으며, 2005년 기준으로 제주지역의 녹차는 재배면적이 302 ha 이고 854 ton이 생산되고 있어 현재 급속히 증가하는 추세이다(3). 그러나 지금의 녹차 산업은 높은 가격과 낮은 품질로 인해 향후에는 중국산과 일본산에 비해 제품

경쟁력이 떨어짐과 동시에 또한 가격 하락현상이 우려되는 실정이다. 그러므로 녹차의 경쟁력 강화를 위한 제품품질을 향상시키기 위해서 다양한 연구가 요구되고 있다.

본 연구는 기존의 시판녹차 중 국내산과 일본산 제품에서의 추출물과 카페인을 제거한 추출물의 항산화 활성을 비교하여 기능성 향상을 위해 탈카페인한 녹차가 국제시장 공략을 위한 신제품 개발 가능성 유무를 검토하고자 실험하였다.





## II. 연구사

### 1. 차의 특성과 분류

차나무는 동백과(*Theaceaceae*), 동백속(*Camellia*)에 속하는 다년생 상록관목으로 종자식물로 분류하고 있다. 잎은 어긋나기의 긴 타원형이며 가장자리에 톱니가 있고 길이는 3~4 cm 정도로 두텁고 윤이 아는 짙은 녹색이다. 꽃은 하얀색으로 보통 5개의 녹색 받침이 있고 꽃술은 암술하나에 수술은 200~300개 정도가 된다. 꽃은 9~11월에 피고 열매는 이듬해 가을에 영글며 보통 지름이 약 1 cm인 씨앗이 2~3개 열린다. 뿌리는 건조한 기후에 잘 견디고 땅 밑 5 m까지 파내려 가는 이식이 어려운 직근성이다(61).

차나무의 품종은 전 세계적으로 40속 600종이 열대, 아열대, 난대, 온대지방에 분포하고 있으며 우리나라는 5속 6종이 자라며, 10종이 아시아분포 재배되고 있다(60).

우리나라에서 분포된 차나무는 대부분 소엽종으로 크게 2종류로 나누어지며 신라 흥덕왕 3년(828) 9세기에 입당사로 중국에 갔던 대림에 의해 유입되어 우리의 기후, 강수량 풍토에 맞도록 적응되어온 품종인 야생 재래종 차나무와 해방 이후 일본에서 유입된 다량 재배되는 야부키타종이 있다.

해방이후 일본에서 도입한 야부키타종 차나무는 19세기에 일본에서 육종 연구를 통하여 개발한 신품종 차나무로서 일본차 재배면적의 80%이상을 차지하고 있어 일본을 대표하는 차나무 품종으로 알려져 있으며, 우리나라에도 보성과 제주지역 등에서 재배되고 있다. 야부키타종은 단일 삼목품종으로 단위면적당 생산량이 많아 다수확과 재배·관리하기가 유리한 반면 내한·내병해충성에 전체 품종이 동일한 반응을 나타내기 때문에 첫물차를 수확한 후 농약을 살포하지 않으면 두물차, 세물차 수확량이 급격히 감소되는 단점이 있다(61).

차 잎을 따는 시기에 따라 첫물차(4월 중순~5월 중순), 두물차(6월 중순~7월 초순), 세물차(7월하순~8월 초순)등으로 나누어지며 차의 채엽 시기에 따른 성분변화를 조사해보면 성분 조성비율이 달라지게 되는데 채엽 시기가 늦어질

수록 비타민C와 떫은맛을 내는 폴리페놀함량은 증가하나 아미노산이나 카페인  
은 감소한다. 차엽을 차광재배 하면 비타민C와 폴리페놀성분은 차광에 의해 잎  
중에서 광합성 작용이 억제되어 감소되나 아미노산은 뿌리에서 잎으로 이송된  
뒤 강한 빛을 받아 일부가 카테킨 성분으로 전환되므로 차광으로 강한 빛을 차  
단시키면 잎 중 많은 양이 축적되며 카페인, 총질소, 회분함량도 차광에 의해  
증가된다(62).

우리나라는 토양과 년 평균기온이 낮아 한랭하여 낮과 밤의 일교차가 큰 기  
후 특성의 생육조건을 지니고 있어 중국, 일본과는 다르다. 우수한 차를 생산하  
기 위해서는 그 지역과 나라의 기후와 풍토에 적합한 품종 선택이 중요하며 품  
종에 알맞은 제다방법과 국민의 기호성이 고려되어야 한다. 차는 제조과정에서  
의 발효의 유무와 발효정도에 따른 분류와 제조공정과 제품 색을 고려가 6대  
차류인 녹차, 백차, 청차, 황차, 홍차, 흑차로 분류한다. 발효의 정도에 따라 불  
발효차, 약·반발효차, 발효차, 후발효차로 분류하면 다음과 같다(63).

불발효차는 제조초기에 차엽에 존재하는 산화효소(polyphenol oxidase)를 불  
활성화 시킴으로써 발효를 정지시키는데 그 방법에는 솥에서 덫는 덫음차와 찌  
는 증제차가 있다. 덫음차는 수분이 전혀 없는 상태에서 고열로 처리하기 때문  
에 불을 잘 다스려야 하는 고도의 기술이 필요하고 색상은 증제차에 비해 조금  
떨어지지만 덫은 구수한 맛과 독특한 향으로 한국인의 선호하는 전통 제다방법  
이다(63).

증제차는 찢 차라 하여 100℃에서 30~40초 정도 찌면서 산화효소를 파괴시  
키고 녹색을 그대로 유지시킨 차이다. 고압 수증기를 가하여 순식간에 찌서 만  
들었기 때문에 바늘과 같은 침상형으로 차의 맛이 담백하고 신선하며 녹색이  
유지되는데 음식의 색을 중시하는 일본 사람들이 선호하는 제다방법이다. 수색  
(水色), 향(香), 미(味)가 덫음차와 증제차가 약간 다르며 일본에서는 증제차, 중  
국과 한국에서는 덫음차가 주류를 이루고 있다(63).

가루차는 차광 재배된 차나무의 싱싱한 어린순을 강하게 증제하여 가공한 차  
잎을 미세하게 가루 내어 저장성을 높인 떡차와 바로 열탕을 부어 저어서 마실  
수 있게 되었다(2). 덫음차 종류에는 전통녹차, 용정차 등이 있으며. 증제차에는



전차(센차), 옥로(교쿠로), 가루차등이 있다(18).

불발효차의 경우는 카테킨, 테아닌 등과 아미노산의 양적 비율관계에 의해 품질과 맛이 결정되므로 불발효차 보다 폴리페놀, 비타민류 등이 많이 함유되어 있으며, 생리활성기능이 다른 차들 보다 우수하다(64).

약발효차인 청녹차는 차엽을 햇볕에 약간 시들인 다음 실내에서 10%정도 발효하고, 반발효차인 우롱차는 50~60%정도 발효시킨 것이다. 즉, 발효정도가 10~60%로 발효정도에 따라 약발효와 반발효로 나누어지며 특징은 일광위조와 실내위조를 통해 수분증발과 발효 과정에 의한 향기의 생성을 유도하여 발효정도에 따라 특유의 방향을 나타내며 꽃향기를 첨가하기도 한다. 이러한 반발효차류는 기름기가 많은 요리에 잘 어울려 느끼한 맛을 없애주며, 입안을 산뜻하게 해 주고, 나아가 소화를 도와주는 작용과 지방의 산화를 억제하는 이중효과를 얻을 수 있다(65).

약발효차인 백차는 솜털이 덮인 어린 차 싹을 따서 덪거나 비비기를 하지 않고 그대로 햇볕에 말려서 만든 일쇄차로서 차잎이 은색광택을 낸다. 종류는 백호은침, 백모단 등이 있으며 주산지는 중국의 복건성이다(65).

반발효차인 우롱차는 차엽을 부분적으로 발효시킨 구부러진 구슬모양으로 잎의 주변이 적갈색으로 변하고 향기를 내는 시점에서 발효처리를 중단하고 덪음차의 제법에 따라 건조한다. 반 발효차로 포종차, 철관음차, 수선, 백호오룡, 동정오룡 등을 포함하여 모두들 우롱차라 부르고 있다. 중국 복건성 북북의 무이산, 광동성 및 대만에서 생산되는 차로 중국의 대표적인 차이나 실제 생산량은 극히 소량이며 대부분 녹차가 생산되고 있다(65).

발효차는 폴리페놀성분이 폴리페놀 산화효소에 의해 산화되어 적색소인 테아플라빈과 테아루비긴 성분이 생성되면서 복잡한 화학성분의 변화를 일으켜 독특한 향미를 나타내는 작용을 한다. 발효차인 홍차는 발효정도가 85% 이상으로 차엽을 잘 시들게 한 뒤 잘 비벼서 찻잎에 존재하는 폴리페놀 옥시다아제를 이용하여 발효시킨 차로 짙은맛이 강하고, 담홍색의 수색을 나타내는 차이다(65).

후발효차는 압착하여 만든 고형차와 잎 모양을 그대로 나타낸 산차가 있다. 차엽이 완전히 건조되기 전에 퇴적하여 곰팡이(*Aspergillus* 속)가 번식하도록

함으로써 곱팡이에 의해 자연히 후 발효가 일어나도록 만든 차이다. 보통 황차와 흑차로 나누며 황차는 열을 가하여 효소의 산화작용을 억제시킨 후 잎을 쌓아두는 퇴적과정에서 당분이 효소적 갈변을 일으켜 차잎의 성분 변화가 일어나며, 잎의 엽록소가 파괴되어 황색을 띠고, 쓰고 떫은맛을 내는 카테킨 성분이 감소되어 있어서 차의 맛이 순하고 부드럽다(10).

흑차는 형태적으로 산차와 긴압차로 나눌 수 있으며 저장기간이 길수록 고급으로 간주된다. 제조방법에는 건창과 습창이 있다. 습창은 완전히 건조되기 전에 퇴적하여 인위적으로 곱팡이가 번식하도록 함으로써 곱팡이에 의해 자연히 후 발효가 일어나도록 만든 차이다. 잎은 흑갈색을 나타내고, 짙은 갈황색 및 갈홍색을 띤다(11).

## 2. 차의 성분

차의 생잎 중에는 약 75~80%가 수분이고 나머지가 고형분인데 이 고형분의 40%는 물에 녹는 수용성 성분이고 나머지는 불용성 성분이다. 차의 주요성분은 차의 종류나 산지, 품종, 계절, 재배조건, 기후, 채엽 부위 등 여러 가지 요인에 의해 그 함량이 달라지게 된다.

### 1) 폴리페놀

녹차 잎의 중요한 성분중의 하나로 차의 맛, 향기 및 색에 깊이 관여하여 온화한 삼미와 고미를 나타낸다. 녹차의 폴리페놀 함량은 6종의 카테킨과 그 유도체로 구성된다. 이들 6종의 카테킨 중에서는 (-)-EGCG, (-)-EGC, (-)-ECG, (-)-EC의 순으로 함유되어 있으며 (+)-GC, (+)-C는 극소량이 함유되어 있다. 유리형 카테킨(EC, EGC)은 온화한 쓴맛으로 떫은맛을 없으나 에스테르형 카테킨(ECG, EGCG)은 강한 쓴맛과 떫은맛을 가지고 화학적으로 수용성 단백질과 결합하여 불용성의 복합체를 형성한다(66). 차의 폴리페놀에 관한 연구는 항암 작용, 항산화 작용, 고혈압의 억제작용, 지질 과산화에 대한 저해작용, 동맥경화 저해작용 등 많은 연구 분야에서 활발히 진행되고 있다(13,45,30,67,42,11,68

,69,70).

## 2) 카페인

차를 상징하는 주요성분으로 함량은 2~3%이며 상쾌한 쓴맛을 지니고 더운 물에 거의 100% 용출된다. 카페인을 purin 2,6-diol의 trimethyl 유도체로 뿌리에는 함유되지 않고 잎에서 생합성되며, 차엽의 카페인 함량은 연간을 통하여 언제나 잎에 많으며, 그 농도는 봄에 최고 농도로 존재하며 잎의 성장에 따라 상대적으로 감소된다(71).

또한 심장의 자극제나 이뇨제를 사용하는 카페인을 alkaloid 일종이나 마약작용은 없고 인체에서는 중추신경을 흥분시키는 등의 약리작용을 나타내지만, 위장관의 통증이나 수면을 방해하는 부작용이 있다(14,15,16,47).

## 3) 유리 아미노산과 질소 화합물

녹차는 차잎의 질소화합물과 깊은 관계가 있으며 단백질 함량이 많은 것일 수록 품질이 좋은 것으로 알려져 있다. 질소화합물은 아미노산, 아미드, 단백질, 핵산 등이다. 그러나 차잎의 단백질은 녹차 제조시의 가공과정 동안 tannin과 결합하여 응고하기 때문에 차의 추출액에는 아미노산과 아미드가 용출된다. 차엽의 대표적인 유리아미노산은 theanine과 glutamic acid다. 특히 theanine은 glutamic acid 와 ethyl amine으로부터 형성된 아미드로 차 특유의 감칠맛과 단맛을 가지는 아미노산의 일종으로서 햇볕을 차단하여 일광조사량을 감소시킴으로서 차엽에 축적되며 그 약리활성으로는 카페인의 작용억제, 카페인으로 인한 중풍의 길항작용이 보고되었다(64).

또한 녹차 생엽의 전처리 과정에서 생엽을 혐기적으로 처리함으로써  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA)가 축적되는 것을 발견하였는데, GABA 는 동·식물계에 널리 분포되어 있는 비단백질 구성 아미노산으로 사람에게 있어서는 신경계, 혈액에 함유되어 있으며, 이의 대부분은 뇌의 골수에 존재해 아세틸콜린이라고 하는 신경전달 물질을 증가, 고혈압에 대한 저해효과 등의 생리작용을 한다. Tsushida(72)는 차 잎의 glutamic acid가 glutamate decarboxylase에 의해 탈탄

산되어 alanine 과 GABA를 생성한다고 보고하였다.

#### 4) 비타민

차엽 중에는 생체 내에서 지질과산화물을 억제하여 발암의 방지나 노화의 억제에 유효하다고 알려져 있는 비타민류 비타민 C, E, A 가 많이 함유되어 있다. Tocopherol 및 비타민 C의 활성산소 소거제로서의 기능과 peroxides 및 singlet oxygen 생성 억제능력, 항돌연변이원성, 항암성 및 항노화성 등이 보고되어 있다(2,18).

#### 5) 무기성분

차에는 칼륨, 아연, 마그네슘, 망간, 구리, 니켈, 셀렌 등 알칼리성 무기질과 미량 필수 원소가 약 5~6%가 함유되어 있다. 또한 불소가 이온의 형태로 존재하며, 박테리아의 위해로부터 치아의 표면을 보호하고 충치를 예방하는 것으로 알려져 있다(2).

#### 6) 기타

당류는 arabinose, D-ribose, D-glucose등이 약 0.6% 함유되어 있으며 녹차의 단맛을 나타내고, 전분은 녹차의 품질에 영향을 미친다. 또한 차의 품질과 기호를 좌우하는 성분인 향기성분은 geraniol 과 2-phenyl ethanol 성분이 가장 많이 차지하였다(73).

### 3. 녹차의 효능

#### 1) 항산화 작용

녹차에 관련된 항산화 활성은 주로 녹차에 함유되어 있는 polyphenol에 의한 작용으로 차의 polyphenol은 식용유지의 산화를 방지하는 천연항산화제로 식품 산업에 광범위하게 사용되고 있다.

Hayashi 등(74)은 식물계에 널리 존재하는 flavonoid류를 분리하고 xanthine oxidase 의 저해효과를 관찰한 결과 hydroxyl기의 위치에 따라 저해능의 효과가 다르다고 보고하였으며 Hatano 등(75)은 galloyl기를 함유한 flavonoid화합물이 xanthine oxidase 저해효과가 우수하였으며 경쟁적으로 저해한다는 사실을 보고하였다. 또한 녹차의 polyphenol에서 분리한 축합형 탄닌은 xanthine oxidase 저해효과가 있음을 확인하였다.

한편  $O_2^-$ , -OH 및  $H_2O_2$  같은 활성산소는 세포막과 DNA에 손상을 줄 뿐 만 아니라 노화 및 암의 초기단계(initiation)와 촉진단계(promotion)에도 영향을 주는 것으로 알려져 있으며, 이런 독성에 대해 길항작용을 하는 물질로는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase, 비타민 E, 비타민 C 등이 있다. 차의 EGCG, ECG, EGC, theaflavin digallate theaflavin monogallate 와 theaflavin은 DPPH radical 및 소거작용이 뛰어나며 EGC는  $O_2^-$ , -OH 및  $H_2O_2$  에 대해 강한 소거작용 및 억제작용을 나타내었다(33,29,10,11).

## 2) 식중독균 억제와 증치예방 효과

녹차의 카테킨 성분은 식중독균의 항균작용 및 살균작용이 있다. 대표적인 식중독 세균인 *Shigella dysenteriae* TV11, *Plesiomonas Shigelloides* N60, *Bacillus cereus* JCM 2152는 녹차추출물 4% 수준에서 감수성을 나타내었다. 한편 Toda 등(76)은 녹차성분들이 *Staphylococcus aureus*와 *Vibrio parahaemolyticus* 와 같은 식중독 유발균에 대하여 항균 및 살균작용을 보고하였으며 Diker 등(77)은 *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*에 대하여 항균 및 살균작용을 보고하였다. 이 외에도 증치 유발균인 *Streptococcus mutants*에 대해서도 보고하였으며 여 등(78)은 차 제조 시 발효정도가 큰 차일수록 항균작용이 떨어진다고 하였으며 비발효차인 증제차 및 덩음차에서 가장 뛰어난 항균작용이 있다고 보고하였다.



### 3) 항 돌연변이 작용과 항암 작용

Katiyar 등(80)은 최근 몇 가지 항암 생체 분석 시스템(antitumor bioassay system)을 통해 therein이 존재 시 EGC이 항산화 효과를 나타내 녹차가 chemical 또는 photo-carcinogenesis에 보호기능이 있음을 보고하였다. Uchida 등(81)은 생쥐에 EGCG를 음용수를 통해 자유롭게 공급했더니, 간에서 방사선 유도에 의해 발생한 lipid peroxidase 증가를 억제시키고, 전신 X-선 조사 후 사망이 지연됨을 관찰하여 매우 낮은 독성을 지닌 방사선 보호제로써의 가능성을 제시하였다. Kuroda(82)는 chinese hamster V79 cell line을 이용하여 4-nitroquinolin 1-oxide(4NQO)에서 유도되는 6-thioguanine (6TG)-저항성 돌연변이 유도 억제에 관한 연구를 통해 catechins, EGCG, ECG 등이 세포독성이 관찰되지 않으면서 돌연변이에 억제에 효과가 있음을 보고하였다. Komatsu 등(83)은 C3H1-T1/2 cell을 이용하여 방사선유도 형질전환에 관한 EGCG 효과를 관찰한 바, EGCG 5  $\mu$ M은 세포독성이 약간 관찰되었지만 방사선 유도형질전환 억제에 효과가 있음을 관찰하였다. EGCG는 화학방어 작용(chromoprevention)이 있는 것으로 알려져 왔다.

### 4) 혈압강하 작용

녹차의 열수추출물과 알코올 추출물에서 혈압강하 성분이 분리되었고, 중국 녹차와 우롱차의 혈압 저하 및 혈장 HDL cholesterol의 상승 등에 관한 연구가 보고되었다(67). Hara 등(79)은 차성분 중 특히 EGCG, ECG 및 유리 theaflavin이 angiotensin converting enzyme(ACE)의 활성에 강한 저해 효과를 나타냄을 보고하였으며, 녹차 성분과 EGCG는 혈장의 콩 콜레스테롤 농도와 LDL 콜레스테롤 농도 저하, HDL 콜레스테롤의 유의적인 증가, 동맥경화지수의 개선 및 대동맥 지질이상에 대한 예방효과도 나타내었다.

### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 차의 제조

녹차는 Fig. 1과 같이 300℃ 무쇠솥에서 5분 볶은 뒤 즈이 나올 때까지 비빈 다음 식혀서 2차 볶음을 하였고, 2차 볶음은 250℃에서 3분 볶은 후 털어준 다음 계속하여 6번 볶음과 털어주는 작업을 반복하였으며, 마무리는 재의 열을 이용하여 90분 동안 뒤어서 제조하였다.

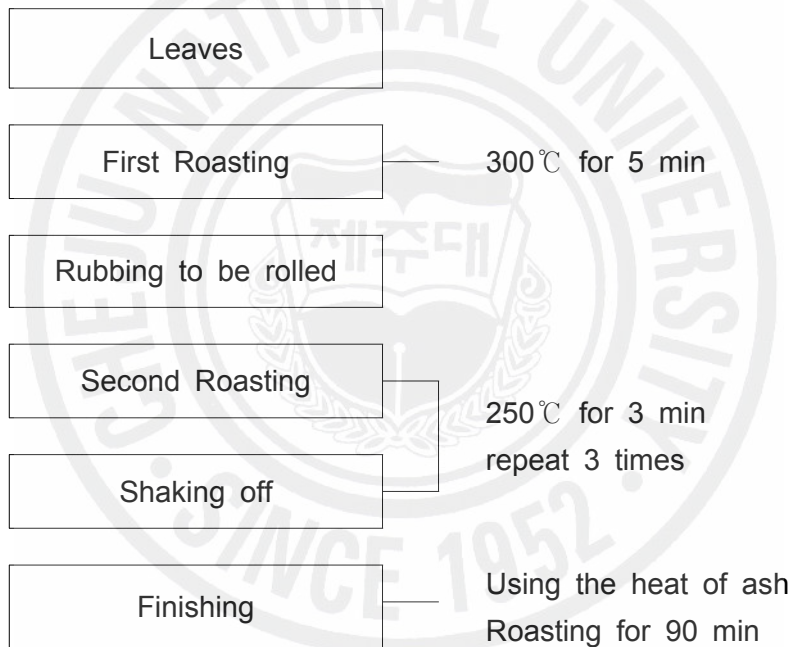


Fig. 1. Processing green tea (non-fermented tea) manufacturing.

#### 2. 실험 재료

본 연구에 사용된 녹차시료는 Table 1에서 보는 바와 같이 한국산 6개의 녹차시료와 일본산 5개 녹차시료를 실험하였다. Green tea I (세작)과 Green tea II (우전) 은 제주다원에서 구입하였고, Green tea III-1 은 기계 처리 하

기전이고, Green tea III-1 기계 처리 한 후의 녹차를 가지고 시료를 제조하였다. Green tea IV-1은 수제처리하기전의 녹차이고, Green tea IV-2 는 수제 처리한 후의 녹차이다. 센차(전차), 교쿠로(옥로), 호지차 I, 호지차II, 쿠키차(경차)는 일본에서 시판된 녹차를 구입하였고, 그 중 호지차 I, II는 타사제품을 구입하여 실험에 사용하였다.

Table 1. Green tea sample sources used for the experiments

Sample name	Origine	Type of tea	Treatment	remark
Green tea I	Korea	Pan-fire blanched tea	late April	Jeju
Green tea II	Korea	Pan-fire blanched tea	small leaves from the frist spring flush	Jeju
Green tea III-1	Korea	Pan-fire blanched tea	before treatment from machine	Hwagae
Green tea III-2	Korea	Pan-fire blanched tea	after treatment from machine	Hwagae
Green tea IV-1	Korea	Pan-fire blanched tea	before treatment from make by hand	Hwagae
Green tea IV-2	Korea	Pan-fire blanched tea	after treatment from make by hand	Hwagae
Sen-cha	Japan	Steamed tea	-	Market (Japan)
Gyokuro	Japan	Steamed tea	-	Market (Japan)
Hoji-cha I	Japan	Roasted tea	-	Market (Japan)
Hoji-cha II	Japan	Roasted tea	-	Market (Japan)
Kuki-Cha	Japan	Steamed tea	-	Market (Japan)



### 3. 시료의 제조

건조된 녹차 잎 10 g을 90°C의 증류수 1000 mL에 가한 뒤 10분 후에 추출하였다. 여과 한 후에 이 액을 동결건조 시켜 분말상태로 준비하여 시험에 이용하였다. 동결 건조된 시료는 PBS(phosphate buffered saline)에 녹여 실험에 사용하였다.

### 4. 카페인 제거 과정

녹차 추출물을 동량의 클로로포름에 1분간 흔들어 혼합하였다. 이 혼합물은 방치한 뒤 클로로포름층은 버리고 상층을 취하여 이 액을 동결건조 시킨 후 분말상태로 준비하여 시험에 이용하였다(25). 동결 건조된 시료는 PBS(phosphate buffered saline)에 녹여 실험에 사용하였다.

### 5. 세포배양

마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank)로부터 구입하였다. 세포는 10% fetal bovine serum(FBS)과 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin(GIBCO, USA)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, GIBCO, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였다.

### 6. 폴리페놀 성분 분석

#### 1) 시료의 전처리

폴리페놀 성분 분석은 Yang 등(58)방법을 이용하여 정량하였다. 시료 0.5 g을 측정하여 삼각 flask에 넣고 25 mL 증류수를 첨가하였다. 90°C water bath(Jaeil-II Chemistry, Korea)에서 30 min동안 침출시킨 후 여과지(TOYO 5B)로 여과하여 1 mL을 취하였다. 여기에 HPLC용 물 4 mL를 첨가하고 Syringe filter(0.45 µm, Sigma, USA)로 여과하여 C-18 column(3.9

mm × 150 mm Coated with C18 Symmetry)과 UV 검출기를 이용하여 230 nm에서 HPLC(Waters 626, Japan)로 분석하였다.

## 2) HPLC 분석 조건

녹차 추출물을 가지고 polyphenol compounds 성분분석에는 Waters사의 HPLC(Waters 626)이용하였다. HPLC 분석에서 용리는 Eluent A(5% acetonitrile의 용액에 0.1% acetic acid를 혼합한 용액)과 Eluent B(50% acetonitrile의 용액에 0.1% acetic acid를 혼합한 용액)두 종류를 사용하여 분석하였고, 기울기 용리법으로 분리하였다. 이때 polyphenol compounds 성분분석을 위한 HPLC 기기조건을 Table 2에 나타내었고, 이동상의 기울기 용리조건을 Table 3에 수록하였다. 또 이러한 분석조건으로 9종의 polyphenol compounds 표준물질의 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다.

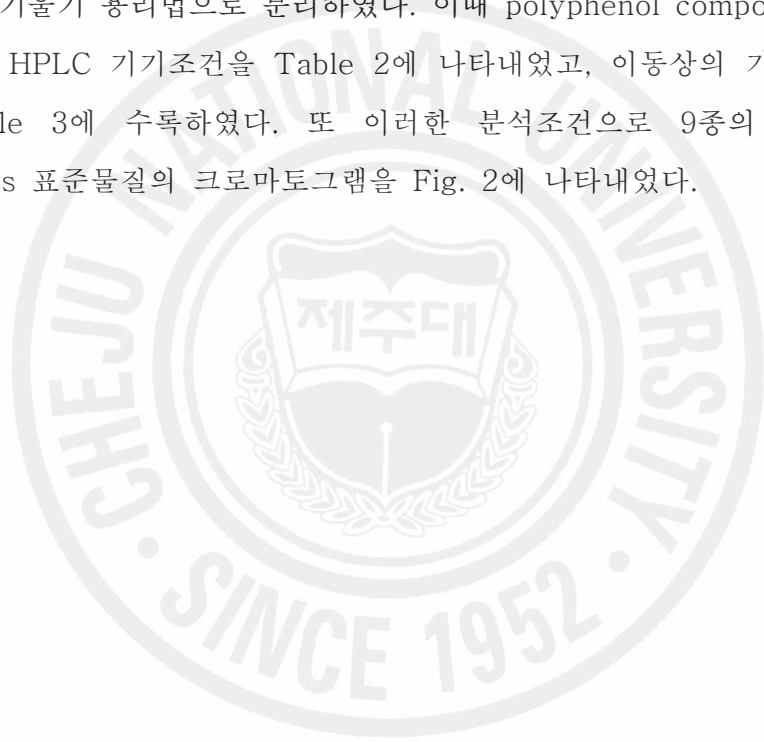


Table 2. HPLC conditions for polyphenolic compounds composition analysis

Item	Condition
Instrument	Waters 626
Detector	Waters 486 UV 230 nm
Column	3.9 mm × 150 mm Coated with C18 Symmetry
Column Flow	1 ml/min.
Mobile phase	Eluent A : 5% Acetonitrile / H <sub>2</sub> O / 0.1% Acetic Acid Eluent B : 50% Acetonitrile / H <sub>2</sub> O / 0.1% Acetic Acid
Injection Volume	10 $\mu$ L

Table 3. Mobile phase conditions for HPLC gradient-elution

Time	Flow	Eluene A %	Eluent B %	Curve
Initial	1.0	90	10	
3	1.0	90	10	6
10	1.0	80	20	6
30	1.0	10	90	6
35	1.0	90	10	6
50	1.0	90	10	11

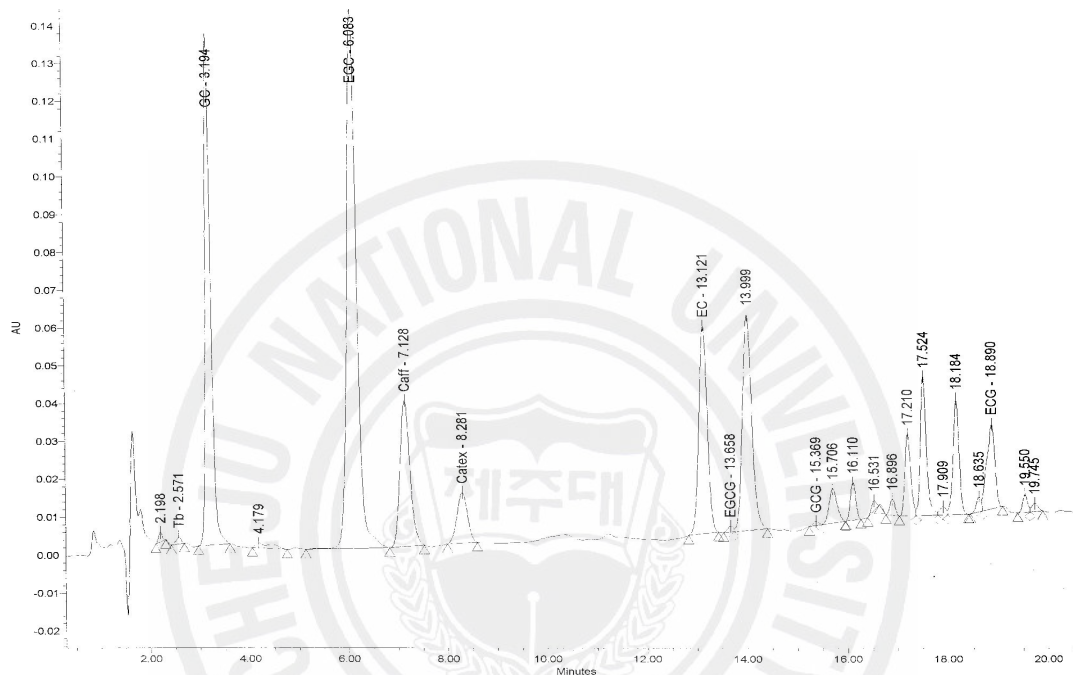


Fig. 2. HPLC chromatogram of polyphenolic compounds in green tea.

TB, theobromine : 2.571 ; GC, galocatechin: 3.194 ; EGC, epigallocatechin : 6.083 ;  
 C, catechin : 8.281 ; EC, epicatechin : 13.121 ; EGCG, epigallocatechin gallate : 13.658 ;  
 GCG, galocatechin gallate : 15.369 ; ECG, epicatechin gallate :18.890 ; Cffeine : 7.127

## 7. 항산화 활성 측정

### 1) DPPH radical 소거 활성 측정

전자공여능(electron donating ability)측정은 Blois 방법(52)에 의한 DPPH free radical 소거법에 따라 측정하였다. 즉, 메탄올에 녹인 시료를 96 well plate 에 100  $\mu$ L씩 분주하고 0.4 mM DPPH (1,1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액을 동량 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군으로는 ascorbic acid, quercetin, trolox, butylated hydroxy anisole(BHA), epigallocatechin gallate(EGCG)를 사용하였다. DPPH 유리기 소거 활성은 아래의 식으로부터 산출하였고, DPPH의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 표시하였다.

$$\text{DPPH radical 소거 활성(\%)} = (\text{A control} - \text{A sample}) / \text{A control} \times 100$$

A sample : 시료를 첨가한 반응액의 흡광도

A control : 시료대신 메탄올을 첨가한 반응액의 흡광도

또한 결과는 항산화활성(antioxidat activity)을 DPPH 소거활성의 IC<sub>50</sub> 값으로 표시하였고, ascorbic acid의 항산화능력과 비교하여 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{AEAC (mgAA/100g)} = \text{IC}_{50}(\text{ascorbate}) / \text{IC}_{50}(\text{sample}) \times 100,000$$

아스코르빈산의 IC<sub>50</sub>은 0.00557 mg/mL로 AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity)을 측정하였다.

## 2) Nitric oxide 소거 활성 측정

자연적으로 nitric oxide를 생성하는 물질인 sodium nitroprusside(SNP)를 사용하여 nitric oxide 소거 활성을 분석하였다(53,54). 10 mM sodium nitroprusside(SNP)용액 200 mL에 시료를 농도별로 첨가하고 25°C에서 3시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 반응액과 동일한 양의 Griess시약을 첨가하였다. 실온에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염(nitrite)의 양으로 nitric oxide 소거활성을 산출하였다. Nitric oxide 소거활성은 흡광도가 50%감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 표시하였다.

## 3) Xanthine Oxidase 억제 및 Superoxide 소거 활성 측정

Xanthine과 xanthine oxidase에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도에 의해 측정하였고(55), superoxide의 양은 nitroblue tetrazolium (NBT)환원방법에 의해 측정하였다(56). 반응액은 각 농도별 각 시료와 0.5 mM Xanthine, 200 mM phosphate buffer(pH 7.5) 100 µL로 용해한 1 mM EDTA를 준비하였고, 이때 50 mU/ml Xanthine oxidase를 첨가하여 uric acid의 생성을 유도하였다.

Superoxide 소거활성은 위 반응액에 0.5 mM NBT를 첨가하여 반응시켰다. xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거 활성은 각각 생성된 uric acid와 superoxide의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 표시하였다.

## 8. 폴리페놀화합물 함량의 분석

폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis법(59)을 약간 변형시켜 측정하였다. 먼저 폴리페놀 화합물 함량 정량을 위한 검량선을 tannic acid(sigma, USA) 표준용액을 사용하여 작성하였다. 검량선 표준용액은 최종농도가 0, 32.5, 75, 125, 250, 500 µg/mL가 되도록 하였다. 그리고 UV-Visible spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다. 시료의 폴리페놀 화합물 함량

은 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 먼저 추출물을 1 mg/mL로 녹인 다음, 이 용액 0.2 mL를 시험관에 취하여 증류수로 2 mL로 희석하였다. 여기에 0.2 mL Folin-ciocalteu's phenol reagent(sigma, USA)를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 이 용액에 2M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 다시 증류수로 4 mL가 되도록 묽히고 실온에서 1시간 방치한 후 상등액을 취하여, 이 용액의 흡광도를 725 nm에서 위와 동일한 방법으로 측정하고 앞에서 작성한 검량선 으로부터 폴리페놀 화합물 함량을 측정하였다.

## 9. 세포 독성 측정

시료가 세포의 생존율에 미치는 영향을 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)법에 의하여 측정하였다. 세포배양 후 배양액을 제거하고 MTT(Sigma, USA) 용액 500 µg/ml을 첨가하고 3시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 다음, dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma, USA) 200µL를 가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 formazan 침전물을 용해시킨 후 microplate reader를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 농도에 대한 흡광도 값을 구하였으며, 대조군의 흡광도 값과 비교하여 세포독성 정도를 조사하였다. 세포독성은 다음 식에 의해 산출하여 TC<sub>50</sub> 값으로 평가하였고, 이때 TC<sub>50</sub> 은 50%의 세포독성을 나타내는 농도이다.

$$\text{세포독성(\%)} = (\text{Control OD}_{570} - \text{Sample OD}_{570}) / \text{Control OD}_{570} \times 100$$

## 10. Nitric oxide 생성 억제 활성

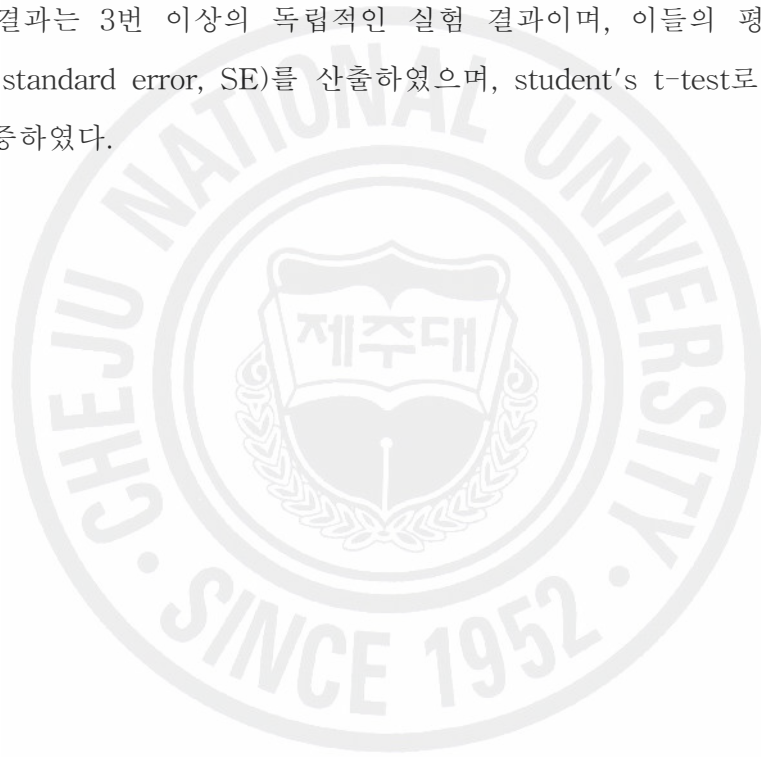
RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1.0×10<sup>6</sup> cell/mL로 조절한 후 96 well plate에 넣고 18시간 동안 배양하였다. 이 후 여러 가지 농도의 시료를 1시간 동안 전 처리한 후 LPS (100 ng/mL)를 가하여 24시간 배양하였다. 생성된 nitric oxide의 양은 Griess 시약을 이용하여 세포 배양



액 중에 존재하는 nitrite의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100  $\mu$ L와 Griess 시약을 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 nitrite의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100  $\mu$ L와 Griess 시약 100  $\mu$ L를 혼합하여 96 well plates 에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 nitric oxide의 양은 sodium nitrite( $\text{NaNO}_2$ )를 검량선으로 하여 비교하였다.

## 11. 통계학적 분석

표시된 결과는 3번 이상의 독립적인 실험 결과이며, 이들의 평균 (mean)과 표준오차 (standard error, SE)를 산출하였으며, student's t-test로 통계학적 유의성을 검증하였다.





## IV. 결과 및 고찰

### 1. 폴리페놀 성분과 카페인의 함량 측정

녹차의 주요성분인 catechins 와 purine alkaloids 성분인 theobromine, caffeine, gallocatechin, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epigallocate, chin gallate, gallocatechin gallate, epicatechin gallate의 함량을 HPLC로 분석한 결과를 Table 4,5에 요약하였다.

결과에서 본 바와 같이 녹차추출물 중의 polyphenolic compounds 함량을 보면, EGCG는 세작이 8.50 mg/g, 우전은 10.05 mg/g, 기계처리전의 녹차는 2.69 mg/g, 기계처리후의 녹차는 1.30 mg/g, 수제처리전의 녹차에서 6.25 mg/g, 수제처리 후의 녹차에서 1.26 mg/g 의 함량을 나타내었다. 제주다원에 구입한 녹차의 EGCG가 화개에서 구입한 녹차의 EGCG 함량보다 매우 높았다. 또한 EGCG 함량이 매우 크게 차이가 나는데 이는 차잎의 종류, 채취시기, 차의 제조방법 등의 차이로 인한 것으로 보여 진다.

카페인은 세작에서 9.31 mg/g, 우전에서 9.93 mg/ml, 기계처리전의 녹차는 5.27 mg/g, 기계처리후의 녹차는 5.54 mg/g, 수제처리전의 녹차에서 7.16 mg/g, 수제처리 후의 녹차에서 7.65 mg/g 의 함량을 나타내었다.

그리고 일본차인 센차의 EGCG 함량은 15.51 mg/g, 교쿠로는 12.04 mg/g, 호지차 I는 4.37 mg/g, 호지차 II는 2.88 mg/g, 쿠키차는 1.21mg/g의 함량을 나타내었다. EGCG의 함량은 일본의 센차가 가장 함량이 높았으며, 쿠키차가 가장 낮았다. 또한 카페인의 함량을 보면, 센차에서 12.67 mg/g, 교쿠로에서 13.66 mg/g, 호지차 I는 11.20 mg/g, 호지차 II는 9.94 mg/g, 쿠키차는 4.88 mg/g의 함량을 나타내었다. 쿠키차는 폴리페놀 성분의 함량이 다른 녹차에 비해 낮게 함량을 나타내었다.

한국산 녹차와 일본산의 녹차를 비교하여 보면 EGCG의 함량이 대체로 높지만 카페인 함량 또한 일본산녹차가 높았음을 알 수 있었다.

Table 4. Contents of polyphenolic compounds of water extracts from various green teas in Korea

Compounds (mg/g) <sup>1)</sup>	TB	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	Caffeine
Green tea I	5.89	2.21	4.51	0.83	2.52	8.50	1.29	2.94	9.31
Green tea II	6.40	2.04	3.94	0.79	2.32	10.05	1.77	3.49	9.93
Green tea III-1	0.83	1.33	3.08	0.38	1.66	2.69	0.65	0.99	5.27
Green tea III-2	4.53	0.66	1.36	0.16	0.80	1.30	0.11	1.25	5.54
Green tea IV-1	8.82	0.19	0.15	6.18	3.55	6.25	0.10	1.62	7.16
Green tea IV-2	1.63	0.18	0.12	0.10	0.63	1.26	0.14	1.34	7.65

<sup>1)</sup>TB, theobromine; GC, galocatechin; EGC, epigallocatechin; C, catechin; EC, epicatechin; EGCG, epigallocatechin gallate; GCG, galocatechin gallate; ECG, epicatechin gallate

Table 5. Contents of polyphenolic compounds of water extracts from various green teas in Japan

Compounds (mg/g) <sup>1)</sup>	TB	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	Caffeine
Sen-cha	1.17	8.24	18.95	1.90	4.57	15.51	4.75	3.79	12.67
Gyokuro	0.34	7.63	9.32	1.18	2.46	12.04	4.95	2.49	13.66
Hoji-cha 1	4.32	5.12	4.55	1.28	0.99	4.37	3.00	1.07	11.20
Hoji-cha 2	0.47	3.59	2.21	0.92	0.69	2.88	2.06	0.92	9.94
Kuki-Cha	0.54	1.70	1.65	0.43	0.51	1.21	0.06	0.41	4.88

<sup>1)</sup>TB, theobromine; GC, galocatechin; EGC, epigallocatechin; C, catechin; EC, epicatechin; EGCG, epigallocatechin gallate; GCG, galocatechin gallate; ECG, epicatechin gallate

## 2. 카페인 제거

카페인을 제거하기 위해 유기용매에 의한 분리방법을 사용하였다. 녹차 추출물에 클로로포름을 혼합하여 alkaloids 계열이 분리되어 crude flavanol gallses가 생성된다. 클로로포름 용액으로 분리한 하층의 용액 (decaffeinated) 과 상층액(not decaffeinated)의 용액을 HPLC로 분석하여 카페인의 제거가 확인되었다.

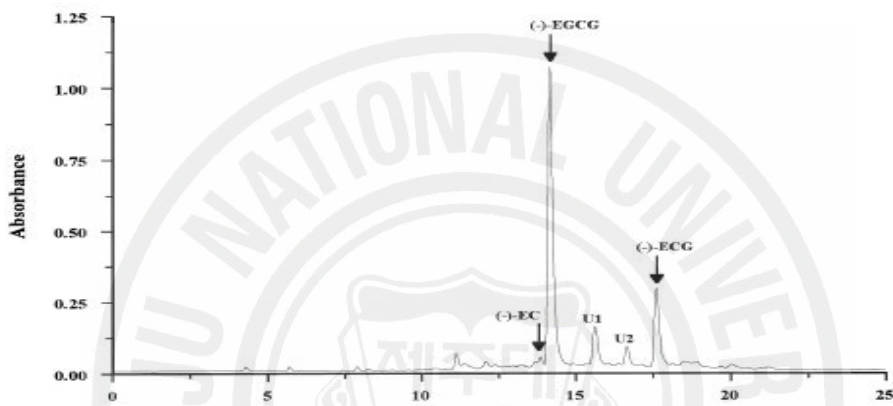


Fig. 3. Chromatogram at 280 nm of the pellet fraction resulting from the caffeine precipitation of a green tea brew. (U1,U2 = unknown)

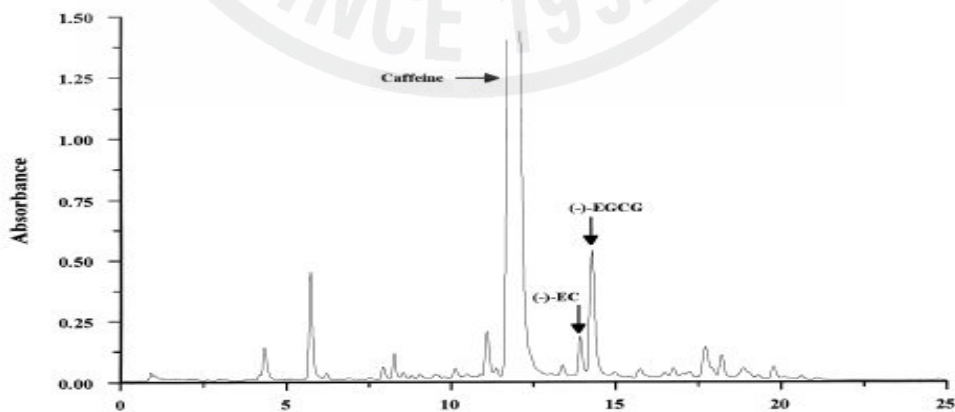


Fig. 4. Chromatogram at 280 nm of the supernatant fraction resulting from the caffeine precipitation of a green tea brew.

### 3. 항산화 활성

#### 1) 녹차 추출물의 항산화 활성

안정적인 유리기 상태로 존재하는 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다. DPPH alcohol 용액은 517 nm에서 흡광도를 측정할 수 있으며, 실온에서 1시간 정도는 매우 안정한 유리 라디칼이다. 전자공여체로부터 전자나 hydrogen radical을 받아 phenolxy radical을 생성하게 됨으로서 DPPH의 특이적인 흡수 band가 사라지게 된다. DPPH의 보라색은 안정해진 분자의 몰수에 비례하여 노란색으로 변하게 되므로 이 과정에서 흡광도의 감소를 측정하여 이의 항산화 활성을 측정할 수 있다(21). 녹차의 추출물을 시료로 사용하여 DPPH의 free radical 소거 활성법으로 항산화 활성을 측정한 결과를 Table 6, 7 과 Fig. 5, 6에 나타내었다. 결과에서 보면 세작, 우전, 처리전(기계), 처리후(기계), 처리전(수제), 처리후(수제) 각각 IC<sub>50</sub>값이 16.1 µg/mL, 12.9 µg/mL, 28.6 µg/mL, 39.6 µg/mL, 24.1 µg/mL, 44.1 µg/mL로서 매우 높은 radical 소거활성을 보이는 것으로 조사되었다. 그리고 카페인이 제거된 녹차추출물은 세작, 우전, 처리전(기계), 처리후(기계), 처리전(수제), 처리후(수제) 각각 IC<sub>50</sub>값이 16.7 µg/mL, 12.2 µg/mL, 32.9 µg/mL, 47.1 µg/mL, 20.0 µg/mL, 34.6 µg/mL으로 나타낸 결과 녹차 추출물과 비슷한 결과로 나왔으나 우전과 수제로 만든 녹차추출물은 카페인이 제거된 녹차추출물이 IC<sub>50</sub>값이 낮게 측정되었다. 아스코르빈산의 항산화능력으로 환산하여 측정하는 AEAC는 ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>값이 5.6 µg/mL로서 측정되었다. 탈카페인된 우전이 45,703 mgAA/100g으로 가장 높고 탈카페인 기계로 처리한 추출물이 11,834 mgAA/100g으로 가장 낮았다. 일본의 녹차 추출물인 센차는 IC<sub>50</sub> 값이 14.0 µg/mL을 보여 항산화 활성이 가장 높았다. 고쿠로 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 23.6 µg/mL, 호지차 I 과 II의 IC<sub>50</sub> 값은 20.0µg/mL, 28.5µg/mL로 나타났고 쿠키차 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 43.3 µg/mL 였다. 또한 카페인이 제거된 센차, 고쿠로, 호지차 I, II, 경차의 IC<sub>50</sub> 값은 14.9 µg/mL, 18.6 µg/mL,

18.1 µg/mL, 23.5 µg/mL, 39.0 µg/mL 이다.

고쿠로와 호지차 및 경차는 카페인이 제거된 추출물이 물 추출물 보다 항산화 활성이 높게 나타났다. 그중에 센차가 가장 항산화 활성이 높았고, 경차가 가장 낮았지만 녹차추출물 모두 매우 강한 항산화 활성을 보였다.

항산화제인 BHA(butylated hydroxy anisole)의 DPPH의 유리기 소거활성 결과 34.5 µM로 활성이 제일 낮고 Trolox는 34.1 µM, quercetin이 9.7 µM, 그리고 카테킨류인 EGCG(epigallocatechin gallate)는 6.3 µM로서 활성이 가장 높았다. 중량으로 나타내었을 경우 분자량의 차이로 인해 BHA, trolox, quercetin, EGCG 가 각각 6.2 µg/mL, 8.5 µg/mL, 3.3 µg/mL, 2.9 µg/mL 로 나타내었다. 녹차추출물물의 IC<sub>50</sub> 값을 이들 순수 항산화물질과 비교하는 경우 세작의 항산화 활성(IC<sub>50</sub> 값: 12.9 µg/mL)로서 거의 동등한 항산화 활성을 보였고 탈카페인화된 세작의 항산화 활성(IC<sub>50</sub> 값: 12.2 µg/mL)로서 가장 높았다. Michel Vignes의 연구에서 EGCG는 항산화 활성이 매우 높다고 보고하였고(29) 녹차의 카테킨류도 매우 강한 항산화 능력을 지녔다고 보고되었다. 세작의 EGCG 함량을 8.50 mg/g, 우전은 10.05 mg/g으로 나타났고, 항산화활인 DPPH 소거활성을 본 결과 세작의 IC<sub>50</sub> 값 16.1 µg/mL, 우전은 12.9 µg/mL을 나타내어 EGCG의 함량이 높을수록 항산화 활성이 높아 이 등(10)의 보고와 일치하였다.

**Table 6. Antioxidant activity(DPPH free-radical scavenging)of various green teas in Korea**

Green teas	Antioxidant activity (AOA)		Decaffeinated green teas	Antioxidant activity (AOA)	
	DPPH free radical scavenging			DPPH free radical scavenging	
	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	AEAC(mgAA/100g)		IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	AEAC(mgAA/100g)
	IC <sub>50</sub> (μM) <sup>d)</sup>		IC <sub>50</sub> (μM) <sup>d)</sup>		
Green tea I	16.1 ± 0.4	34,678 ± 792	Green tea I	16.7 ± 0.3	33,338 ± 692
Green tea II	12.9 ± 0.1	43,246 ± 421	Green tea II	12.2 ± 0.1	45,703 ± 276
Green tea III-1	28.6 ± 1.1	19,471 ± 718	Green tea III-1	32.9 ± 0.3	16,934 ± 170
Green tea III-2	39.6 ± 0.6	14,067 ± 196	Green tea III-2	47.1 ± 2.0	11,834 ± 507
Green tea IV-1	24.1 ± 0.5	23,149 ± 433	Green tea IV-1	20.0 ± 0.1	27,898 ± 138
Green tea IV-2	44.1 ± 0.5	12,630 ± 149	Green tea IV-2	34.6 ± 0.5	16,092 ± 250
BHA <sup>b)</sup>	34.5 ± 0.8	N/A	Trolox	34.1 ± 0.8	N/A
Quercetin	9.7 ± 0.2	N/A	EGCG <sup>c)</sup>	6.3 ± 0.1	N/A

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

<sup>b)</sup> Butylated hydroxyl anisole

<sup>c)</sup> Epigallocatechin gallate

<sup>d)</sup> BHA, Trolox, Quercetin and EGCG concentrations were micro molar concentration.

N/A : Not assay

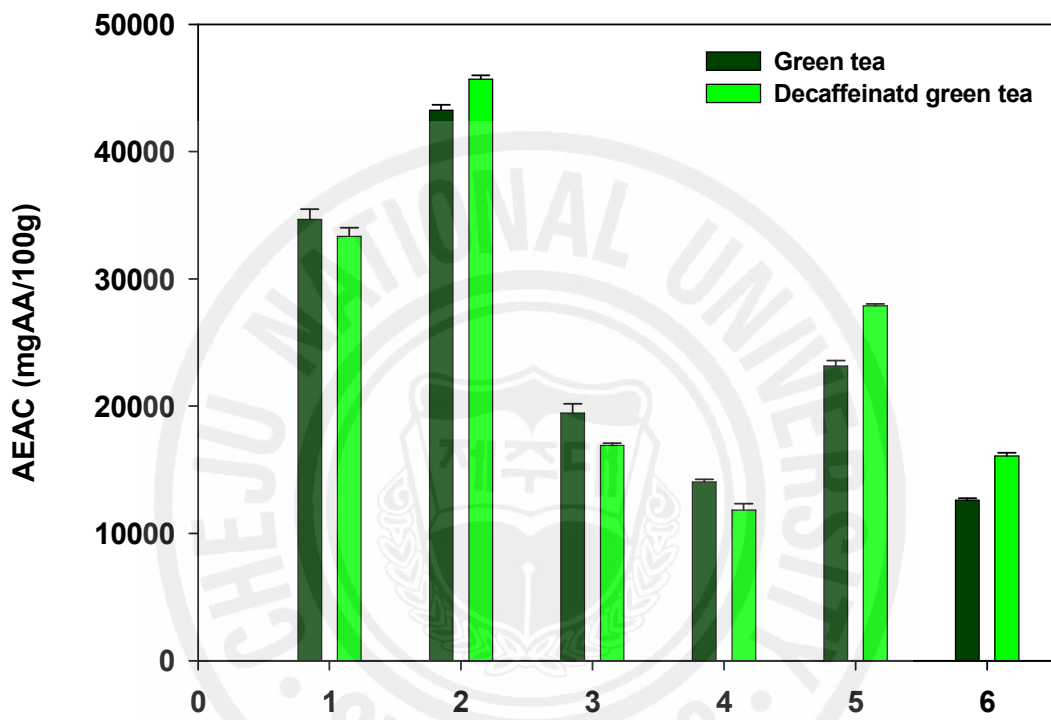


**Table 7. Antioxidant activity(DPPH free-radical scavenging)of various green teas in Japan**

Green teas	Antioxidant activity (AOA)		Decaffeinated green teas	Antioxidant activity (AOA)	
	DPPH free radical scavenging			DPPH free radical scavenging	
	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	AEAC(mgAA/100g)		IC <sub>50</sub> (μg/mL)	AEAC(mgAA/100g)
Sen-cha	14.0 ± 0.0	39,663 ± 14	Sen-cha	14.9 ± 0.2	37,442 ± 503
Gyokuro	23.6 ± 0.8	23,651 ± 778	Gyokuro	18.6 ± 0.4	29,995 ± 562
Hoji-cha I	20.0 ± 0.2	27,903 ± 336	Hoji-cha I	18.1 ± 0.3	30,787 ± 560
Hoji-cha II	28.5 ± 0.8	19,543 ± 558	Hoji-cha II	23.5 ± 2.7	23,841 ± 2,708
Kuki-Cha	43.3 ± 1.8	12,873 ± 524	Kuki-Cha	39.0 ± 0.9	14,295 ± 344

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

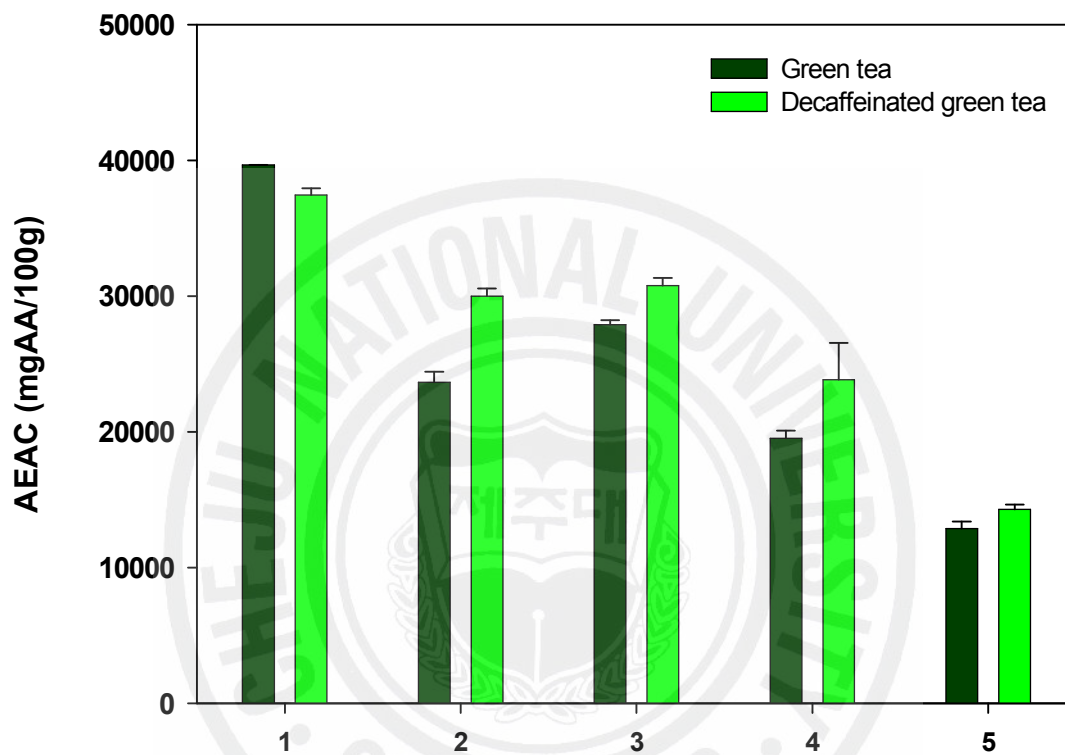




**Fig. 5. Concentrations of antioxidant activity(AOA) from green teas and decaffeinated green teas in Korea.**

Values are mean of three experiments±standard deviation.

1.Green tea I , 2.Green tea II , 3.Green tea III-1, 4.Green tea III-2, 5.Green tea IV-1,  
6.Green tea IV-2



**Fig. 6. Concentrations of antioxidant activity(AOA) from green teas and decaffeinated green teas in Japan.**

Values are mean of three experiments  $\pm$  standard deviation.

1.Sen-cha, 2.Gyokuro, 3.Hoji-cha I , 4.Hoji-cha II , 5.Kuki-cha

## 2) Xanthine oxidase 억제활성

Xanthine oxidase는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소이다.

Xanthine oxidase의 저해제인 allopurinol과 alloxanthine은 요산의 생성 마지막 단계인 xanthine oxidase의 효소활성을 저해함으로써 요산의 생성을 억제한다(12,13). 또한 xanthine의 산화에 의해서 uric acid가 생성되면서 동량의 superoxide radical이 생성이 된다. 그러므로 xanthine oxidase의 효소활성을 효과적으로 저해하기 위해선 uric acid 저해활성과 함께 superoxide radical 소거활성이 같이 이루어져야 한다(49).

녹차추출물의 xanthine oxidase 활성 억제에 대한 결과는 Table 8, 9에 나타내었다. Xanthine oxidase의 저해제인 allopurinol의 xanthine oxidase 억제활성은 IC<sub>50</sub> 값이 3.62 µg/mL, EGCG는 IC<sub>50</sub> 값이 26.94 µg/mL의 활성을 보였다. 녹차추출물과 탈카페인추출물 모두 비교적 높은 xanthine oxidase 억제활성을 보였고, 우전의 추출물과 탈카페인추출물 각각 IC<sub>50</sub> 값이 147.4 µg/mL, 133.1 µg/mL로 연구되었다. 그리고 superoxide 소거활성 또한 IC<sub>50</sub> 값이 13.8 µg/mL, 16.0 µg/mL이 나와 높은 활성을 보였다. 또한 기계로 처리한 녹차(IC<sub>50</sub> : >1000 µg/mL, 54.8 µg/mL)보다 수제 처리한 녹차 추출물(IC<sub>50</sub> : 7.954 µg/mL, 82.5 µg/mL)이 더 xanthine oxidase 저해활성이 높았고, allopurinol 과 활성이 유사하였다.

또한 탈카페인한 녹차추출물(기계 처리한 녹차추출물 IC<sub>50</sub> : 818.9 µg/mL, 453.2 µg/mL, 수제 처리한 녹차추출물 IC<sub>50</sub> : 553.3 µg/mL, 67.2 µg/mL)이 가장 높았다. 안 등(19)의 보고에서는 flavan 3-ol 화합물이 xanthine oxidase 저해활성이 높다고 보고 하였는데 gallate를 함유한 화합물이 효소 저해능이 높다고 하였다.

일본의 차 추출물은 센차 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 269.5 µg/mL, 33.7 µg/mL로 xanthine oxidase 와 superoxide 저해 활성이 가장 높았고, 쿠키차 추출물은

IC<sub>50</sub>값이 1047.8 µg/mL, 89.9 µg/mL 로서 저해활성이 가장 낮았다. 저해활성 순서로는 센차>교쿠로(옥로)>호지차 1>호지차 2>경차 순이지만 호지차 2 추출물이 superoxide 저해활성(IC<sub>50</sub> : 21.5 µg/mL)이 가장 높았다. 그리고 11종의 모든 추출물은 uric acid 저해활성보다 superoxide 저해활성이 더욱 높다는 걸 알 수 있었다.



**Table 8. Xanthin oxidase inhibitory activities of various green teas in Korea**

Green teas	Xanthin oxidase inhibitory activity			Xanthin oxidase inhibitory activity	
	Uric acid generation inhibitory	Superoxide generation inhibitory	Decaffeinated green teas	Uric acid generation inhibitory	Superoxide generation inhibitory
	IC <sub>50</sub> (µg/mL) <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/mL)		IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Green tea I	180.7 ± 45.9	15.7 ± 3.4	Green tea I	577.4 ± 34.4	16.5 ± 1.0
Green tea II	147.4 ± 7.2	13.8 ± 2.9	Green tea II	133.1 ± 1.2	16.0 ± 0.4
Green tea III-1	939.3 ± 33.4	52.8 ± 7.4	Green tea III-1	843.7 ± 56.4	46.0 ± 2.6
Green tea III-2	>1000	54.8 ± 1.0	Green tea III-2	818.9 ± 31.7	45.3 ± 0.6
Green tea IV-1	531.1 ± 6.3	24.5 ± 3.6	Green tea IV-1	426.3 ± 12.8	17.0 ± 1.2
Green tea IV-2	794.5 ± 2.8	82.5 ± 1.0	Green tea IV-2	553.3 ± 9.4	67.2 ± 3.9

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

**Table 9. Xanthin oxidase inhibitory activities of water extracts from various green teas in Japan**

Green teas	Xanthin oxidase inhibitory activity		Decaffeinated green teas	Xanthin oxidase inhibitory activity	
	Uric acid generation inhibitory	Superoxide generation inhibitory		Uric acid generation inhibitory	Superoxide generation inhibitory
	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (μg/mL)		IC <sub>50</sub> (μg/mL)	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
Sen-cha	269.5 ± 5.1	33.7 ± 1.5	Sen-cha	273.4 ± 19.3	28.1 ± 1.6
Gyokuro	418.7 ± 16.0	42.2 ± 0.7	Gyokuro	319.7 ± 19.1	33.6 ± 0.4
Hoji-cha I	525.9 ± 49.7	44.7 ± 2.9	Hoji-cha I	469.2 ± 7.8	34.0 ± 0.9
Hoji-cha II	591.2 ± 36.8	21.5 ± 0.2	Hoji-cha II	562.8 ± 11.1	52.7 ± 3.5
Kuki-Cha	1047.8 ± 74.6	89.9 ± 7.3	Kuki-Cha	888.2 ± 28.9	77.9 ± 17.6

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

### 3) Nitric oxide 생성저해 활성

질소산화물(Nitric oxide)은 활성종으로서 세포독성이 강하며 다량의 Nitric oxide가 생성되면 nitroization, nitration과 같은 간접적 효과 및 산화반응을 야기하여 유해한 효과를 나타나게 된다. Nitric oxide 생성 저해 활성은 nitric oxide를 생성하는 물질인 sodium nitroprusside(SNP)를 사용하여 아질산염(nitrite)의 양을 측정하는 방법으로 nitric oxide 소거활성을 산출하였다(38). 이러한 방법으로 측정한 결과 Table 10, 11에 나타내었다. 녹차 추출물의 Nitric oxide 생성저해 활성은 비교적 높지 않았지만 탈카페인화 된 세작 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 557.2 µg/mL로 나타내었고, 기계처리 하기전의 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 536.9 µg/mL 였고 기계처리 한 후의 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 964.0 µg/mL 로 Nitric oxide 생성저해 활성이 기계처리 하기 전 보다 낮아짐을 알 수 있었다. 국산 추출물 중에서는 탈 카페인화한 수제처리 후 추출물(IC<sub>50</sub> 값 : 241.4 µg/mL)이 가장 Nitric oxide 생성저해 활성이 높았다

일본의 녹차추출물은 탈카페인화된 추출물 모두 IC<sub>50</sub> 값을 구할 수 있었고, 특히 쿠키차의 IC<sub>50</sub> 값이 98.5 µg/mL로 Nitric oxide 생성저해활성이 가장 높았다. 또한, 센차와 교쿠로(옥로) 추출물은 IC<sub>50</sub> 값이 >1000 µg/mL 으로 Nitric oxide 생성저해활성이 미약하게 나타내었지만, 탈카페인된 센차(IC<sub>50</sub> 값 : 682.4 µg/mL)와 교쿠로(IC<sub>50</sub> 값 : 553.2 µg/mL)는 Nitric oxide 생성저해활성이 비교적 높게 나타냈다.



**Table 10. Nitric oxide scavenging activities of water extracts from various green teas in Korea**

Green teas	Nitric oxide scavenging activity	
	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (μg/mL)
Green tea I	>1000	557.2 ± 29.5
Green tea II	>1000	>1000
Green tea III-1	536.9 ± 64.9	419.5 ± 73.6
Green tea III-2	964.0 ± 43.2	416.4 ± 36.8
Green tea IV-1	>1000	528.7 ± 7.7
Green tea IV-2	612.8 ± 30.1	241.4 ± 59.5

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

**Table 11. Nitric oxide scavenging activities of water extracts from various green teas in Japan**

Green teas	Nitric oxide scavenging activity	Decaffeinated green teas	Nitric oxide scavenging activity
	IC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>		IC <sub>50</sub> (μg/mL)
Sen-cha	>1000	Sen-cha	682.4 ± 20.6
Gyokuro	>1000	Gyokuro	553.2 ± 62.9
Hoji-cha I	693.2 ± 25.7	Hoji-cha I	226.6 ± 78.2
Hoji-cha II	267.5 ± 68.2	Hoji-cha II	453.7 ± 34.3
Kuki-Cha	627.5 ± 68.2	Kuki-Cha	98.5 ± 11.5

<sup>a)</sup> IC<sub>50</sub> values were calculated from regression lines using eight different concentrations in triplicate experiments.

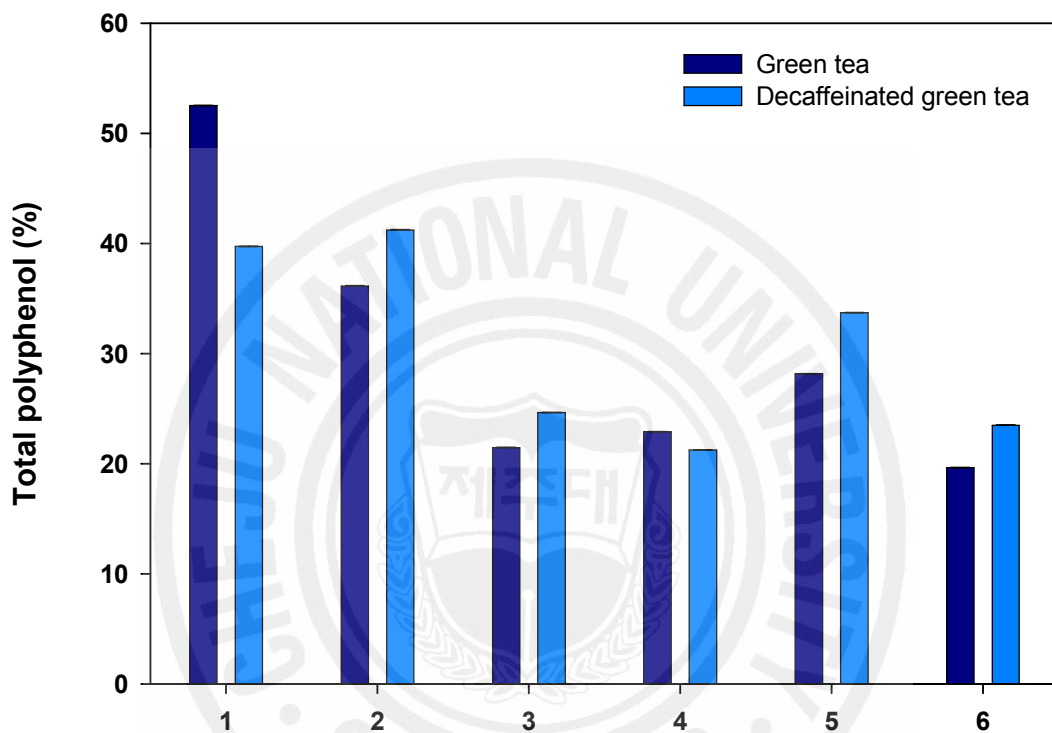
#### 4. 총 폴리페놀화합물 함량

페놀성 물질은 식물계에서 널리 분포되어 있는 2차대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가진다. 그 중 탄닌은 단백질과 결합하는 특성을 지닌 polyphenol을 총칭하는 것으로 탄닌 유래의 화합물과 단백질과의 결합은 탄닌의 hydroxyl기와 단백질의 활성 부위와의 공유결합 하는 성질로 인해, 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 갖는다(38). 본 연구에는 tannic acid를 표준물질로 사용하여 검량선을 작성하였고, 이로부터 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 7, 8에 나타내었다.

결과에서 보는 바와 같이 세작이 52.5%로 가장 함량이 많고 그 다음으로는 우전으로 36.1%로 나타났다. 또한 대부분은 녹차 추출물과 탈카페인화된 추출물을 비교하였을 때 오히려 탈카페인화된 추출물이 조금 더 폴리페놀 함량이 많았으며 세작만이 녹차추출물이 폴리페놀함량이 월등히 많았다.

일본의 녹차추출물중 센차의 함량이 54.6%으로 나타내었고, 경차의 폴리페놀 함량은 15.6%로 나와 함량이 가장 낮았다. 호지차1과 호지차2는 폴리페놀 함량이 30.7%와 31.0%로 거의 동일하였고 교쿠로와 호지차1 및 쿠키차(경차)는 폴리페놀 함량이 탈 카페인화된 추출물이 더 높음을 알 수 있었다.

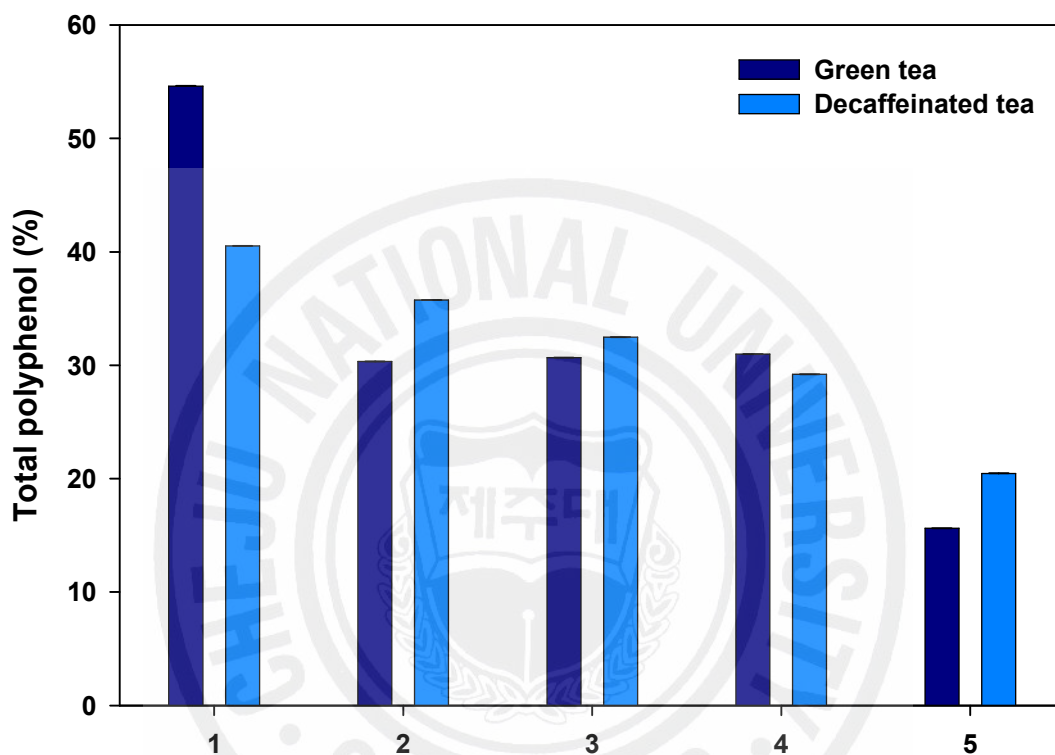
이 등(10)의 보고에 의하면 EtOH이나 MeOH로 추출하는 것보다는 물 추출물을 다시 에틸아세테이트로 추출·분리정제하여 얻은 조카테킨의 경우가 순도가 매우 높은 EC, EGC, ECG 및 EGCG를 얻을 수 있다고 하였다. 본 연구 또한 물추출물에서 클로로포름용액으로 정제하였으므로 조카테킨으로 정제되어 물추출물보다는 폴리페놀 함량이 더욱 높아졌을 것이라 사료된다.



**Fig. 7. Concentration of total polyphenol compounds in green teas and decaffeinated green teas in Korea.**

Values are mean of three experiments±standard deviation.

1.Green tea I , 2.Green tea II , 3.Green teaIII-1, 4.Green teaIII-2, 5.Green teaIV-1, 6.Green teaIV-2



**Fig. 8. Concentration of total polyphenol compounds in green teas and decaffeinated green teas in Japan.**

Values are mean of three experiments  $\pm$  standard deviation.

1.Sen-cha, 2.Gyokuro, 3.Hoji-cha I , 4.Hoji-cha II, 5.Kuki-cha

## 5. 녹차 추출물과 탈카페인화 된 추출물의 세포독성과 Nitric oxide 생성 억제 활성

RAW 264.7 세포에서 녹차 추출물과 카페인 제거과정을 거친 추출물의 Nitric oxide 생성 억제활성을 분석하여 농도별로 저해활성을 표시 하였고 IC<sub>50</sub> 값과 세포독성 TC<sub>50</sub> 값을 산출하였으며 그 결과를 Table 12, 13, 14, 15, 으로 나타내었다.

모든 녹차 추출물에서 TC<sub>50</sub> 값이 >1000 µg/mL로 독성이 나타나지 않았고, 1000µg/mL의 농도에서는 약간의 독성을 보였으나 1000µg/mL의 농도에서 약 20~50%의 Nitric oxide 생성 억제 활성이 보였고, 농도 의존적으로 Nitric oxide 생성 억제 활성이 나타났다.

국내의 녹차추출물 또한 Nitric oxide 생성 억제 활성은 뚜렷하게 나타나지 않았다. 일본의 센차(IC<sub>50</sub> 값: 161.8 µg/mL) 와 호지차Ⅱ(IC<sub>50</sub> 값: 256.7 µg/mL) 및 쿠키차(경차)가 IC<sub>50</sub> 값 195.9 µg/mL로써 Nitric oxide 생성 억제 활성이 매우 높음을 알 수 있었으며, 모두 카페인을 제거한 녹차 추출물이 활성저해를 보였다. 더욱이 쿠키차(경차)는 IC<sub>50</sub> 값의 농도에서 세포독성을 관찰되지 않았음을 알 수 있었다(Fig. 9). Tsai 등(20)은 녹차의 Nitric oxide성 억제활성은 IC<sub>50</sub> 값이 113 µg/mL으로 높은 활성을 보여 본 실험한 결과보다 많은 활성이 나타남을 알 수 있었다. 이는 차나무가 기후적 환경에 가장 지배적이고 광범위한 분포와 오랜 기간을 통해 품종 내에 형태적 또는 생리·생태적으로 특유한 형질변이를 일으키는 것으로 알려지고 있다(64).

**Table 12. Cytotoxicity of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Korea on RAW 264.7 cells**

Green teas	Green teas				Decaffeinated green teas				
	μg/mL	250	500	1000	TC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>a)</sup>	250	500	1000	TC <sub>50</sub> (μg/mL)
Green tea 1	-	-	-	11.2 ± 0.8	>1000	-	-	19.4 ± 1.8	>1000
Green tea 2	-	-	-	18.0 ± 1.3	>1000	-	-	31.9 ± 1.7	>1000
Green tea 3-1	-	-	-	9.4 ± 2.1	>1000	-	-	-	>1000
Green tea 3-2	-	-	-	9.4 ± 6.3	>1000	-	-	14.5 ± 1.1	>1000
Green tea 4-1	-	-	-	9.4 ± 1.5	>1000	-	-	13.5 ± 3.5	>1000
Green tea 4-2	-	-	-	9.3 ± 1.9	>1000	-	-	17.8 ± 2.2	>1000
EGCG <sup>b)</sup>				16.4 ± 0.9	>1000(μM)				

Data are expressed as average of inhibitory activity(%) ±SD(n=3), -; Inhibitory activity<5%

<sup>a)</sup> TC<sub>50</sub> is the concentration producing 50% toxicity in RAW 264.7 cells.

<sup>b)</sup> Epigallocatechin gallate



**Table 13. Cytotoxicity of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Japan on RAW 264.7 cells**

Green teas	Green teas				Decaffeinated green teas				
	$\mu\text{g/mL}$	250	500	1000	$\text{TC}_{50}(\mu\text{g/mL})^{\text{a}}$	250	500	1000	$\text{TC}_{50}(\mu\text{g/mL})$
Sen-cha		$9.0 \pm 2.6$	$18.5 \pm 1.8$	$28.0 \pm 2.0$	>1000	$9.5 \pm 2.1$	$12.2 \pm 2.7$	$22.3 \pm 0.5$	>1000
Gyokuro		-	-	$25.7 \pm 0.9$	>1000	-	-	$15.3 \pm 2.3$	>1000
Hoji-cha 1		-	-	$9.7 \pm 5.1$	>1000	-	-	$9.4 \pm 0.7$	>1000
Hoji-cha 2		-	-	$7.8 \pm 1.7$	>1000	-	-	$20.0 \pm 4.9$	>1000
Kuki-Cha		$6.3 \pm 0.2$	$7.2 \pm 2.4$	$25.9 \pm 2.7$	>1000	-	-	$20.0 \pm 4.9$	>1000

Data are expressed as average of inhibitory activity(%)  $\pm$ SD( $n=3$ ), -; Inhibitory activity<5%

<sup>a)</sup>  $\text{TC}_{50}$  is the concentration producing 50% toxicity in RAW 264.7 cells.

**Table 14. Effects of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Korea on NO production in LPS-activated RAW 264.7 cells**

Green teas	Green teas					Decaffeinated green teas			
	$\mu\text{g/mL}$	250	500	1000	$\text{IC}_{50}(\mu\text{g/mL})^{\text{a}}$	250	500	1000	$\text{IC}_{50}(\mu\text{g/mL})$
Green tea 1		$8.3 \pm 5.0$	$12.9 \pm 4.4$	$26.0 \pm 4.8$	>1000	$26.0 \pm 1.9$	$34.0 \pm 1.5$	$34.6 \pm 2.1$	>1000
Green tea 2		$16.1 \pm 1.3$	$18.7 \pm 1.5$	$26.2 \pm 1.0$	>1000	$16.1 \pm 3.1$	$15.8 \pm 3.4$	$32.9 \pm 2.5$	>1000
Green tea 3-1		$22.3 \pm 0.4$	$29.2 \pm 1.5$	$37.1 \pm 0.4$	>1000	$24.2 \pm 0.7$	$35.2 \pm 1.3$	$39.3 \pm 0.5$	>1000
Green tea 3-2		$38.0 \pm 2.5$	$45.0 \pm 1.1$	$49.3 \pm 0.3$	>1000	$25.3 \pm 1.1$	$27.9 \pm 1.4$	$35.6 \pm 1.8$	>1000
Green tea 4-1		$17.8 \pm 1.3$	$22.5 \pm 0.9$	$22.9 \pm 0.3$	>1000	$30.7 \pm 1.2$	$31.6 \pm 1.0$	$33.0 \pm 0.8$	>1000
Green tea 4-2		$14.1 \pm 3.9$	$22.4 \pm 3.4$	$24.4 \pm 1.9$	>1000	$18.2 \pm 0.7$	$26.3 \pm 1.4$	$32.6 \pm 0.2$	>1000
EGCG <sup>b)</sup>		$26.6 \pm 2.3$	$46.6 \pm 3.2$	$56.6 \pm 0.9$	$581.0 \pm 76.8$ ( $\mu\text{M}$ )				

Data are expressed as average of inhibitory activity(%)  $\pm$ SD( $n=3$ ), -; Inhibitory activity<5%

<sup>a)</sup>  $\text{IC}_{50}$  is the concentration producing 50% inhibition of NO production in RAW 264.7 cells.

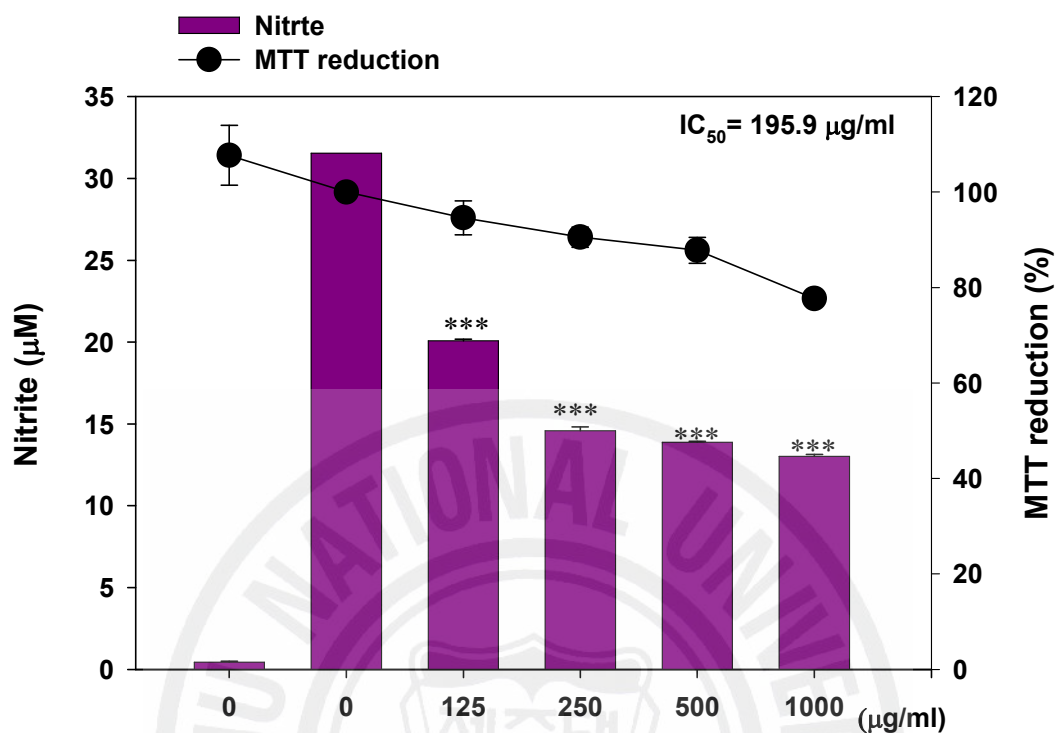
<sup>b)</sup> Epigallocatechin gallate

**Table 15. Effects of water extracts from green teas and decaffeinated green teas in Japan on NO production in LPS-activated RAW 264.7 cells**

Green teas	Green teas					Decaffeinated green teas			
	$\mu\text{g/mL}$	250	500	1000	$\text{IC}_{50}(\mu\text{g/mL})^{\text{a}}$	250	500	1000	$\text{IC}_{50}(\mu\text{g/mL})$
Sen-cha		$30.1 \pm 0.3$	$35.0 \pm 1.1$	$35.1 \pm 0.5$	>1000	$54.4 \pm 0.9$	$64.0 \pm 2.1$	$67.9 \pm 1.4$	$161.8 \pm 8.3$
Gyokuro		$20.6 \pm 6.1$	$26.6 \pm 0.1$	$28.2 \pm 2.2$	>1000	$28.7 \pm 1.9$	$36.7 \pm 1.7$	$40.4 \pm 2.1$	>1000
Hoji-cha 1		$23.2 \pm 3.2$	$30.6 \pm 3.4$	$33.9 \pm 2.8$	>1000	$25.8 \pm 0.2$	$37.5 \pm 0.8$	$39.8 \pm 0.4$	>1000
Hoji-cha 2		$34.3 \pm 3.0$	$36.2 \pm 1.2$	$36.4 \pm 0.6$	>1000	$49.2 \pm 0.1$	$61.8 \pm 0.1$	$62.1 \pm 0.1$	$256.7 \pm 0.4$
Kuki-Cha		$25.8 \pm 5.4$	$33.6 \pm 4.0$	$41.5 \pm 4.6$	>1000	$53.8 \pm 0.7$	$56.0 \pm 0.2$	$58.7 \pm 0.4$	$195.9 \pm 11.9$

Data are expressed as average of inhibitory activity(%)  $\pm$ SD( $n=3$ ), -; Inhibitory activity<5%

<sup>a)</sup>  $\text{IC}_{50}$  is the concentration producing 50% inhibition of NO production in RAW 264.7 cells.



**Fig. 9. Effect of water extracts from decaffeinated Kuki-cha on the NO production in LPS-sitimulated RAW 264.7 cells.** Cells were treated whit LPS (100 ng/mL) alone or LPS plus the indicated concentrations of water extracts from decaffeinated Kuki-cha for 24h.

\*\*\* p<0.001 vs LPS alone-treated cells.

## V. 요 약

한국산과 일본산 녹차 추출물의 시료로 폴리페놀 성분 함량을 측정하고, 다양한 녹차 추출물의 항산화 활성을 실험한 결과는 다음과 같다. 한국산 녹차추출물의 폴리페놀 함량은 세작보다는 우전이 함량이 높았고 9종의 폴리페놀 성분 중 EGCG 함량이 10.05 mg/g로 가장 높았다. 또한 일본산 녹차추출물의 폴리페놀 함량순서로는 센차>교쿠로>호지차1>호지차2>쿠키차이고, 센차의 EGCG 함량은 15.51 mg/g으로 측정되었다. DPPH radical 소거활성 효과를 측정한 결과 한국산 녹차추출물은 매우 높은 항산화 활성을 보였으며 항산화제인 BHA와 대체로 유사하였다. 또한 일본산에서는 센차가 DPPH radical 소거활성이 가장 높았으나 한국산 추출물 중에서 우전 보다는 낮은 결과를 나타내었다. Xanthine oxidase 저해활성에서는 한국산 녹차추출물 중 우전이 IC<sub>50</sub> 값이 147.4 µg/mL로 일본산 추출물에서는 센차가 IC<sub>50</sub> 값이 269.5 µg/mL으로 가장 높게 나타내었다. Nitric oxide 생성저해 활성은 비교적 높지는 않았지만 농도 의존적으로 활성이 증가되는 경향을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량은 한국산 추출물인 세작이 52.5%로, 일본산 추출물인 센차의 함량이 54%로 나타내었고 대부분의 녹차추출물은 카페인제거과정을 거친 추출물들이 총 폴리페놀 함량이 높음을 알 수 있었다. LPS로 자극한 RAW 264.7 세포에서 Nitric oxide 생성 억제활성은 미약하나 농도 의존적으로 Nitric oxide 생성 억제활성을 보였다. 또한 녹차 추출물에서 클로로포름용액으로 탈카페인한 추출물의 항산화 활성은 매우 높게 나타났다.

## VII. 참고 문헌

1. Park JH, Choi Hk and Park KH (1998) Chemical components of various green teas on Market. J. Kor. Tea Soc. 4(2):83-92
2. Cho WK The components and medicinal effects of green tea. Dept. of Food & Nutrition, Gachengil College
3. Ko WJ, Ko KS, Kim YD, Jeong KW, Lee SH and Koh JS (2006) Change in functional constituents and stability of green tea beverage during different storing conditions. Korean J. Food Preserv 13(3):421-426
4. Kim NY, Lee JH and H대 MY (2006) Protective effect of green tea extracts on Oxidative strees. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14(6):322-328
5. Oh JH, Kim EH, Kim JL, Moon YI, Kang YE and Kang JS (2004) Study on antioxidant potency of green tea by DPPH Method. J Korean Soc Food Sci Nutr 33(7):1079-1084
6. Sung KC (2006) A study on the pharmacetial characteristics and analysis of green-tas extract. J Korean Oil Chemists'Soc. 23(2):115-124
7. Lim DC, Shim KH, Hur JH, Choi JS and suh JS (1990) Changes in Major components during the manufacture of green tea. J. Inst. Agr. Res. Util. Gyeongsang Natl. Univ 24:123-130
8. Cho YS, Kim HS, Kim SK, Kwon OC, Jeong SJ and Lee YM (1997)

Antibacterial and Bactericidal activity of green tea extracts. J. Kor. Tea Soc 3(2):89-103

9. Kim KB, Yoo KH, Park HY and Jeong JM (2006) Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. J. Korean Soc, Appl, Biol. Chem. 49(4):328-333

10. Lee YJ, Ahn MS and Oh WT (1998) A study in the Catechins contents and antioxidative effect of various solvent extracts of green, oolong and Black Tea. J. Fd Hyg. Safety 13(4):370-376

11. Son GM, Bae SM, Chung JY, Shin DJ and Sung TS (2005) Antioxidative effect on the green tea and pueh tea extracts. Korean J. Food & Nutr. 18(3):219-224

12. Cho YJ, Chun SS and Choi C (1993) Inhibitory effect of condensed tannins isolated from Korean green tea against xanthine oxidase. J. Korean Soc. Food Nutr. 22(4):418-422

13. An BJ, Lee JT and Bea MJ (1998) Isoation of a novel polyphenol from oolong tea and Its effective prevention of the Gout. Korean J. Food Sci. Technol. 30(4):970-975

14. Lim YH, Moon DH, Son HS, Kim YH, Kim JG and Son BH (1995) An analysis of caffeine in coffee and tea based in the extraction conditions. Inje Medical Journal 16(2):327-340

15. Kim DK, Park JS and Kim YS (1988) Acute effects of caffeine challenge



in schizophrenics. J. Korean Neuropsychiatry Ass 27(1)

16. Yang JH and Kang IH (1987) Effects of histamin H<sub>2</sub> antagonist on pharmacokinetics of caffeine(I). J. Kor. Pharm. Sci. 17(4):189-195

17. Park JH, Kim JW, Kim JK, Han JS, Shin GH. Choi J and Choi HK (1999) Distribution of the chemical constituents in different parts of tea shoot for Okro. J. Kor. Tea Soc. 5(2):89-97

18. Lee HJ, Choi EY, Chang PS and Lee YH (2004) Classification and category determination of Korean traditional beverages(I). Dept. of Food and Nutrition, GachonGil College.

19. An BJ, Bae MJ and Choi C (1996) Inhibitory effect of flavan-3-ols isolated from oolong tea on xanthine oxidase. Korean J. Food Sci. Technol. 28(5):1084-1088

20. Tsai PJ, Tsai TH, Yu CH and Ho SC (2007) Comparison of NO-sacvenging and NO-suppressing activities of different hebal teas with those of geen tea. Food chemistry 103:181-187

21. Ancerewicz J, Migliavacca E, Carrupt PA, Testa B, Bree F, Zini R, Tillement JP, Labidalle S, Guyot D, Chauvet-Monges AM, Crevat A, and Le Ridant A (1998) Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. Free radical Biology and Medicine 25(1):113-120

22. Farhoosh R, Gilmovahhed G and Khodaparast M (2007) Antioxidant

activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). Food chemistry 100:231-236

23. Kodomari S. (1998) Status of tea production and pest control in Japan. J. Kor. Tea Soc 4(1):91-98

24. Liang Y and Kim JS (2003) Development of tea industry in China. J. Kor. Tea Soc 9(3):61-72

25. Copeland EL, Clifford MN and Williams CM (1998) Preparation of(-)-epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition. Food Chemistry 61(1/2):81-87

26. Jung JY, Han CR, Jeong YJ, Kim HJ, Lim HS, Lee KH, Park HO, Oh WM, Kim SH and Kim WJ (2007) Epigallocatechin gallate inhibits nitric oxide-induced apoptosis in rat PC12 cells. Neuroscience Letters 411:222-227

27. Seifried HE, Anderson DE, Risher EI, Milner JA (2007) A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. Journal of Nutritional Biochemistry

28. Liyana-Pathirana CM and Shahidi F (2007) Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. Food chemistry 101:1151-1157

29. Vignes M, Maurice T, Lante F, Nedjar M, Thethi K, Guiramand J and Recasens Max (2006) Anxiolytic properties of green tea polyphenol(-)-epigallocatechin gallate (EGCG). Brain Research 1110:102-115

30. Chan EWC, Kim YY and ChewYL (2007) Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food chemistry 102:1214-1222
31. Turkmen N, Sari F and Velioglu S (2006) Effects of extraction solvents in concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenol determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food chemistry 99:835-841
32. Lee SM, Na MK, An RB, Min BS and Lee HK (2003) Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassrhizoma*. Biol. Pharm. Bull 26(9):1354-1356
33. Shi J (2002) Bioavailability and efficiency of tea catechins as an antioxidant. 7:327-331
34. Kim YM and Park SG (2005) Induction of expression of inducible nitric oxide synthase by Taxol in murine macrophage cells. Biochemical and biophysical research communications 326:410-416
35. Singh RJ Hogg N and Kalyanaraman B (1995) Interaction of Nitric oxide with photoexcited rose bengal: Evidence for one-electron reduction of nitric oxide to nitroxyl anion. Archives of Biochemistry and Biophysics 324(2):367-373
36. Rubbo H, Parthasarathy S, Barnes S, Kirk M Kalyanaraman B and Freeman BA (1995) Nitric oxide inhibition of lipoxygenase-dependent liposome

an low-density lipoprotein oxidation : Termination of radical chain propagation reactions and formation of nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. Archives of Biochemistry and Biophysics 324(1):15-25

37. Takehara Y, Kanno T, Yoshika T, Inoue M and Utsmi K (1995) Oxygen-dependent regulation of mitochondrial energy metabolism by nitric oxide. Archives of Biochemistry and Biophysics 323(1):27-32

38. Nakagawa T and Yokozawa T (2002) Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. Food and chemical toxicology 40:1745-1750

39. Heijnen CGM, Haenen GRMM, Wiseman SA, Tijburg LBM and Bast A (2000) The interaction of tea flavonoids with the NO-system: discrimination between good and bad NO. Food chemistry 70:365-370

40. Mu MM, Chakravorty D, Sugiyama T, Koide N, Takahashi K, Mori I, Yishida T and Yokochi T (2001) The inhibitory action of quercetin in lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. Journal of Endotoxin Research 7(6)

41. Blanchette J , Jaramillo M and Olivier M (2003) Signalling events involved in interferon- $\gamma$ -inducible macrophage nitric oxide generation. Immunology 108:513-522

42. Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, and Rice-Evans C (1995) Polyphenolic flavanol as scavenger of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. Archives of Biochemistry and Biophysics 322(2):339-346

43. Liochev SI and Fridovich I (2002) Nitroxyl (NO<sup>-</sup>) : a substrate for superoxide dismutase. Archives of Biochemistry and Biophysics 402(2):166-171
44. Lin CC, Lu MJ, Chen SJ and Ho SC (2006) Heavy fermentation impacts NO-suppressing activity of tea in LPS-activated RAW 264.7 macrophages. Food chemistry 98:483-489
45. Gadow AV, Joubert E and Hansmann CF (1997) Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. Food chemistry 60(1):73-77
46. Timins KI and Mashingaidze A (1997) Influence of withering, including leaf handling, in the manufacturing and quality of black teas. Food chemistry 60(4):573-580
47. Riesselmann B, Rosenbaum F, Roscher S and Schneider V (1999) Fatal caffeine intoxication. forensic Science International 103:S49-S52
48. Obanda M and Ownor PO (1995) Clonal variations in the response of black tea quality due to plucking standards. Food chemistry 53(4):381-384
49. Vivot E, Munoz JD, Cruanes MC, Cruanes MJ, Tapia A, Hirschmann GS, Martinez E, Sapio OD, Gattuso M and Zacchino S (2001) Inhibitory activity of xanthine-oxidase and superoxide scavenger properties of *Inga verna* subsp. *affinis*. Its morphological and micrographic characteristics. Journal of Ethnopharmacology 76:65-71

50. Zhu SQ, Fang CX, Zhu SH, Zhang LZ Fan CP and Zang JX (2004) Inductive effect of Hypoxanthine-Xanthine Oxidase syten on lambda prophage. *Microbiology* 73(1):42-46
51. Kong LD, Cai Y, Huang WW, Cheng CHK and TAn RX (2000) Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *Journal of Ethnopharmacology* 73:199-207
52. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use a stable free radical. *Nature* 26:1199-1200
53. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR, (1982) Analysis of nitrate, nitrite, and (15N) nitrate in biological. fluids *Anal Biochem* 126:131-136
54. Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT, Packer L(1994) The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Biochem. Biophys Res Commun* 201: 748-755
55. Noro T, Oda Y, Miyase T, Ueno A, Fukushima S (1983) Inhibitories of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Dafne genkwa*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 31:3984-3987
56. Cheng ZJ, Kuo SC, Chan SC, Ko FN and Teng CM (1998) Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim Biophys Acta* 1392:291-299
57. Angayarknni J, Palaniswamy M, Murugesan S and Swaminathan K (2002) Improvement of tea leaves fermentation with *Aspergillus* spp.



Pectinase. Journal of Bioscience and bioengineering 94(4):299-303

58. Yang XR, Ye CX, Xu JK, Jiang YM (2007) Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia assamica Var.kucha* by HPLC. Food chemistry 100:1132-1136

59. Folin O., Denis W. (1915) A colorimetric method for the determination of phenols(and phenol derivatives)in urine. J. Biol. chem. 22:305-308

60. Yang JK, Gang BK, Kim JM, Park YG and Choi MS (2000) Physico-chemical properties and composition of fatty acid from seed oil of *camellia sinensis L.* J. Kor. Tea Soc. 6(3):83-91

61. Park YG (2007) Strategy of gene conservation of *camellia sinensis* in Korea. J. Kor. Tea Soc. 13(1):125-140

62. Kim BS, Yang WM, Choi J (2002) Comparison of caffeine, free amino acid, vitamin C and catechins content of commercial green tea in Bosung, Suncheon, Kwangyang, Handong. J. Kor. Tea Soc. 8(1):55-62

63. 이명자 (2002) 가열처리가 녹차의 이화학적 및 관능적 처리에 미치는 영향  
충남대학교

64. 신미경 (1994) 녹차의 과학. Korean J. Dietary culture 9(4)

65. Choi OJ and 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(3):356-362



66. 계인숙 (1999) 녹차 polyphenol의 peroxynitrite 및 활성산소 소거작용에 관한 연구 부산대학교
67. Jung YH, Han SH and Shin MK (2006) Effects of green and black korean teas on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. J East asian dietary life 16(5):550-558
68. Inger S, Aage T, Kari S, and Olav PF (1992) Tea consumption relationship to cholesterol, blood pressure, and coronary and total mortality. Ptev. Med. 21:546
69. Zongmao. C (1993) Function of tea in human health. Proceeding of the 2nd international symposium on green tea, seoul p7
70. Peizhen T, Tian Z, Ping Z, Shuqin W, Shujun C, Jingyi J, Jutao G and Hongshan C (1993) The inhibitory effects of catechin derivatives on the activities of human immunodeficiency virus reverse transcriptase and various DNA polymerases. Proceeding of the 2nd international symposium on green tea, seoul p49
71. Lee HW (2000) A study on caffeine containing foods and the effect of caffeine in humans Culinary research 6(3):343-355
72. Park JH and Choi HK (2001) Effect of anaerobic condition after green leaves storage in the  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) and Quality of green tea. J. Kor. Tea Soc. 7(1):163-171

73. Choi SH, Chung DS and Jea SJ (2005) A comparison of volatile aroma components in high grade Korean, Chinese and Japanese green tea. The Korean Home Economics Association 43(2):33-40
74. Hayashi T, Sawa K and Morita N (1988) Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids J. Natural Products 51: 345
75. Hatano T, Yasyhara T, Yoshhara R and Okuda T (1991) Inhibitory effects of galloyated flavonoids on xanthine oxidase. Planta Medica 57:83
76. Toda M, Okubo S, Ikigai H, Suzuki T, Suzuki Y and Shimamura T (1991) The proteative activity of tea against infection by *vibro cholerae* 0.1. Letter in applied microbiology. 70:109
77. Diker KS, Akan M, Hascelik G and Yurdakok M (1991) The bactericidal activity of tea against campylobacter jejuni and campylobacter coli. Letters in applied microbiology. 12:34
78. Yeo SG, Ahn CH, Kim IS, Park YB, Park YH and Kim SB (1995) Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. J. Korean Soc. Food Nutr. 24(2):293-298
79. Hara Y, Matsuzaki T, Suzuki T (1987) Angiotensin converting enzyme inhibiting activity of tea components. Nippon Nogeikagaku Kaishi 61:803
80. Katiyar SK, Agarwal R and Mukhtar H (1994) Inhibition of spontaneous and photo-enhanced lipid peroxidase in mouse epidermal microsomes by epicatechin derivatives from green tea. Cancer Lett 79(1):61-6

81. Uchida S, Ozaki M, Suzuki K and Shikida M (1992) Radioprotective effects of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate(green-tea tannin)in mice. Life. Sci 50(2):147-52

82. Kuroda Y (1996) Bio-antimutagenic activity of green tea catechins in cultured Chinese hamster V79 cells. Mutat Ras. 361(2-3):179-186

83. Kumatsu K, Tauchi H, Yano N, Endo S, Mastuura S and Shoji S (1997) Inhibition action of (-)-epogallocacatechin gallate on radiation-induced mouse oncogenic transformation. Cancer Lett. 112(2):135-9

