creative commons
COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

韓 英 淑 敎授指導

博士學位 請求論文

韓國 綠茶의 採葉 時期別 主要 成分 分析 및 抗菌 特性

2010

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

李 賢 淑

韓國 綠茶의 採葉 時期別 主要 成分 分析 및 抗菌 特性

韓 英 淑 敎授指導

이 論文을 博士學位 論文으로 提出함

2009年 10月

誠信女子大學校 大學院

食品營養學科

李 賢 淑

dCollection @ sungshin

認 准 書

李賢淑의 博士學位 論文을 認准함

審査委員 김 혜 영 (印)

審査委員 오 상 룡 (印)

審査委員 김 상 희 (印)

審査委員 안 홍 석 (印)

審査委員 한 영 숙 (印)

誠信女子大學敎 大學院

dCollection @ sungshin

논 문 개 요

본 연구는 녹차의 생리적 유용성을 높여주는 주요 성분의 함량을 채엽 시기별로 분석하고, 이에 따른 항균 특성을 탐색하였다. 이는 차의 기능성을 결정하는 채엽 적기(適期)를 활용한 다양한 차(茶) 제품의 개발을 통해 차산업의 활성화에 체계적으로 이용할 수 있는 기초 자료를 확보하고자 수행되었다.

본 연구의 시료는 전남 구례 소재의 시범포에서 시기별로 채엽하여 덖음 녹차를 만들어 사용하였다. 채엽 시기는 제1시기(2009년 4월 17일), 제2시기(5월 6일), 제3시기(5월 28일), 제4시기(6월 22일), 제5시기(7월 23일)이다.

먼저 채엽 시기에 따라 녹차의 주요 성분인 카테킨류, 총폴리페놀, 카페인, 총아미노산과 Vitamin C의 함량 변화를 HPLC를 이용하여 분석하였다.

다음으로 녹차의 water 추출물과 methanol 추출물을 제조하여 채엽 시기별로 녹차의 항균 특성을 살펴보았다. 식중독균 등 9종의 미생물(*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351), *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27607), *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia*)을 대상으로 생육 저해환을 이용하여 항균 특성을 검색하였다.

그리고 항균 활성 물질을 밝히고자 methanol 추출물을 용매별로 분획하여 각 분획물별 항균 활성을 조사하고, 이를 다시 HPLC로 분석해 보았다.

또 항균 활성 물질의 열과 pH에 대한 안정성을 생육 저해환 측정으로 살펴보았다. 이상의 방법으로 다음과 같은 결과를 얻었다.

dCollection @ sungshin

1. 채엽 시기별 녹차의 일반 성분 함량은 조단백질 19.8~30.0g%, 조지방 0.19~0.26g%, 탄수화물 61.41~68.11g%, 조회분 5.3~5.8g%, 수분 2.7~6.1g%로 나타났다. 각 채엽 시기별 녹차의 일반성분 함량의 비교를 통해서 채엽 시기에 따른 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

2. 채엽 시기별 녹차의 주요 성분의 함량은 다음과 같이 나타났다. 먼저 총카테킨 함량은 제1시기 16.73, 제2시기 17.18, 제3시기 17.58 제4시기 17.83, 제5시기 18.96g%로 나타났다.

총카테킨 함량은 제5시기(7월 하순)에 18.96g%로 가장 많았으며, EGCg, EGC, EC도 제5시기(7월 하순)에 가장 많았다. 총카테킨 함량은 채엽 시기가 늦어질수록 증가하는 경향을 보였다.

주요 카테킨의 조성은 채엽 시기에 관계없이 EGCg> ECg> EGC> EC의 순으로 함유되어 있었다. 카테킨 종류별로 살펴보았을 때, 채엽 시기가 늦어짐에 따라 증가하는 것은 GC, EGC, EC, EGCg이며, 감소하는 것은 C, GCg, ECg로 나타났다.

3. 채엽 시기에 따른 총폴리페놀 분석 결과는 22.71~26.46g% 까지 함유되어 있었다. 총폴리페놀 함량은 채엽 시기가 늦어지면서 유의적 차를 나타내며 증가하였다($p<0.01$).

4. 채엽 시기에 따른 카페인 함량 분석결과는 제1시기 2.73, 제2시기 2.48, 제3시기 2.41, 제4시기 2.16, 제5시기 2.15g%로 나타났다. 카페인 함량은 유의적($p<0.01$)으로 시기가 늦어질수록 점차 감소하는 것으로 나타났다.

dCollection @ sungshin

5. 채엽 시기에 따른 데아닌 함량은 제1시기 1.75, 제2시기 1.61, 제3시기 1.56, 제4시기 1.38, 제5시기 1.00g%로 나타났다. 데아닌 함량은 채엽 시기가 늦어짐에 따라 유의적 차를 나타내며($p<0.001$), 지속적으로 감소하는 것으로 나타났다. 즉, 채엽 시기가 빠를수록 데아닌과 총아미노산 함량이 많았다.

6. 녹차의 채엽 시기에 따른 Vitamin C 함량은 제1시기 344.43, 제2시기 407.26, 제3시기 294.94, 제4시기 245.99, 제5시기 165.29mg%로 나타났다. Vitamin C 함량은 제2시기에 407.26mg%로 가장 많았으나, 제2시기 이후, 채엽 시기가 늦어지면서 유의적 차를 보이며($p<0.01$) 감소하는 것으로 나타났다.

7. 채엽 시기별 녹차 추출물 용매별 분획물의 수율은 Methanol 추출 분획물이 33.70%, Chloroform 분획물이 12.02%, Ethylacetate 분획물이 1.15%, n-Hexane 분획물이 9.85%, Butanol 분획물이 5.65%, Water 분획물이 1.64%였다. 특히 Ethylacetate 분획물과 Water 분획물이 아주 낮은 수율을 보였다.

8. 채엽 시기별 항균 특성은 사용된 총 9가지 균주에 대해 물과 Methanol추출물에 모두에 대해 항균 활성을 보였다.
채엽 시기별로 살펴본 항균 활성은 제3시기(5월 하순)가 water 추출물과 Methanol 추출물이 높은 항균 활성을 보이며, 유의적($p<0.05$, $p<0.01$)으로 높게 나타났다.

9. Methanol 추출 분획물별로 항균 활성 억제 효과를 살펴본 결과,

dCollection @ sungshin

Ethylacetate 분획물에서 생육저해환의 크기를 살펴보면, *Escherichia coli* 가 12.67±0.23mm에서, *Streptococcus sobrinus*는 13.73±0.33mm에서 유의적($p<0.001$)으로 나타났다. 그 다음으로 n-Hexane 분획물에 대해서도 항균 활성을 나타내었다. *Staphylococcus aureus* 가 8.19에서 *Porphyromonas gingivalis* 가 9.46까지 유의적($p<0.01$ ~0.0001)으로 나타났다. Butanol 분획물에서는 *Streptococcus mutans* 가 7.79에서, *Salmonella choleraesuis* 가 8.76으로 유의적($p<0.01$) 차로 약간의 항균 효과가 나타났다.

Chloroform 분획물과 Water 분획물에서는 항균 효과가 나타나지 않았다.

Methanol 추출 분획물에서 항균 활성 억제 효과는 Ethylacetate 분획물의 생육저해환이 실험 균주 전부에 대해 강한 항균 효과를 나타냄을 확인하였다.

10. Methanol 추출물의 각 분획물별 HPLC 분석 결과, Ethylacetate 분획물에서, EGCg가 가장 많이 검출되었으며, ECG> EGC> EC의 순으로 검출되었다. Ethylacetate 분획물 속에 카테킨이 다량 존재함을 확인하였다.

이를 통해 녹차의 항균 특성을 갖는 성분이 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC 임을 다시 확인할 수 있었다.

11. 열에 대한 안정성은 실험 균주 모두에 대하여 안정한 것으로 나타났다. 생육저해환의 크기는 40℃에서 110℃까지는 온도가 높아짐에 따라 그 크기가 약간 더 크게 나타나 항균 활성이 증가함을 보였으며, 그리고 130℃로 높아지면서는 약간 감소하는 경향을 보였다.

12. pH에 대한 안정성은 pH 7에서 2로 낮아짐에 따라, 또 pH 9에서 pH 11로 높아짐에 따라 생육저해환의 크기가 유의적($p<0.01$)으로 감소하는 경향을

dCollection @ sungshin

보였다. 그러나 9종의 균들은 pH 2, 5, 7, 9, 11 사이에서 약간의 차이를 보이나, 대체로 pH에 대해서 안정한 것으로 나타났다.

13. 채엽 시기별로 카테킨 중 항균 효과가 높은 EGCg, ECG, EGC, EC 함량이 가장 많은 시기는 제5시기로 나타났다. 그러나 차는 주로 물에 우려서 음용하는 것임에 물 추출물의 항균 활성이 가장 크게 나타난 시기가 제3시기(5월 하순)라는 결과를 비교분석했을 때, 녹차의 항균 특성을 나타내는 EGCg, ECG, EGC, EC 함량이 많은 제5시기가 아니라는 점에 주목하게 된다.

즉, 녹차의 항균 특성이 카테킨 함량의 많음만으로 결정되는 것이 아닌 것으로 사료된다.

이상의 결과, 채엽 시기에 따라 차잎의 주요 성분의 함량 변화와 차(茶)의 항균 특성이 카테킨임을 확인할 수 있었다.

앞으로의 차류 제조에 있어서는 생산시 채엽 시기의 적기(適期) 산출은 가장 기본적으로 확보되어야 할 기초자료가 되어야 할 것이다. 그래서 기능성 식품인 차 제품마다의 기능성에 맞추어 관련 성분의 함량이 적기인 시점에 채엽을 하여 생산해내는 시스템을 확보, 발전시켜 나아가야 할 것이다. 이는 경제적 효용성을 확보하는 방안으로 앞으로의 차산업 발전의 체계적이고 차별화될 수 있는 한 방안이 될 수 있을 것이다.

또한 경제 발전과 함께 외식 산업의 증대는 각종 질환의 감염 위험에 노출되어 있다. 국민 건강의 예방을 위해 천연 항균제인 차 음용의 생활화를 통해 각종 질환을 예방할 수 있을 것으로 사료된다.

따라서 본 연구를 통한 차의 채엽 시기에 따른 성분과 차의 항균 특성을 이용한 앞으로의 한국 차산업 문화 발전의 기초 자료로 활용되기를 기대해본다.

dCollection @ sungshin

목 차

논 문 개 요

Ⅰ. 서론 ····· 1
1. 차나무 ····· 4
1) 차의 식물학적 특성 ····· 4
2) 차의 정의 ····· 4
3) 재배 환경 ····· 5
4) 차의 원산지와 분포 ····· 5
2. 차의 기원과 그 역사 ····· 6
1) 차의 기원설 ····· 6
2) 차의 역사 ····· 6
3. 차의 분류 ····· 9
4. 녹차 제다법 ····· 11
5. 차의 화학 성분 ····· 13
1) 폴리페놀 ····· 13
2) 카페인 ····· 15
3) 아미노산 ····· 15
4) 비타민류 ····· 16
5) 미네랄과 사포닌 ····· 16
6. 차의 기능성 ····· 17
1) 항균 작용 ····· 17
2) 항충치 및 항구취 작용 ····· 19
3) 항산화작용 ····· 19
4) 항암 작용 ····· 20

dCollection @ sungshin

5) 혈압 상승 억제작용 및 관상동맥 질환 예방 효과 ····· 21
6) 항당뇨 작용 ····· 22
7) 항알레르기 작용 ····· 23
8) 환경호르몬에 대한 작용 ····· 23
9) 피부에 대한 작용 ····· 23

Ⅱ. 재료 및 방법 ····· 26
1. 실험 재료 ····· 26
1) 시료의 제조 ····· 26
2) 시약 및 기구 ····· 28
3) 공시균주 및 배지 ····· 28
2. 실험 방법 ····· 30
1) 찻잎의 일반 성분 분석 ····· 30
2) 찻잎의 주요 성분 분석 ····· 30
3) 항균 활성 검색용 추출 및 methanol 추출 분획물의 조제 ····· 33
4) 채엽 시기별 각 추출물의 항균력 측정 ····· 35
5) Methanol 추출물의 분획물별 HPLC 분석 ····· 35
6) 열 및 pH 안정성 측정 ····· 37
7) 통계 처리 ····· 37

Ⅲ. 결과 및 고찰 ····· 38
1. 채엽 시기별 녹차의 일반 성분 ····· 39
2. 채엽 시기별 녹차의 주요 성분 ····· 40
1) 카테킨 함량 ····· 40
2) 총폴리페놀 함량 ····· 45
3) 카페인 함량 ····· 48
4) 데아닌 및 총아미노산 함량 ····· 50

dCollection @ sungshin

5) Vitamin C 함량 ····· 53
3 채엽 시기별 녹차 추출물의 항균성 검색 ····· 55
1) 항균 검색용 Methanol 추출물과 용매별 분획물의 수율 ····· 55
2) 채엽 시기별 녹차 추출물의 항균력 ····· 56
3) 용매별 분획물의 Clear zone(생육 저해환) 측정 ····· 61
4) Methanol 추출물의 각 분획물별 HPLC 분석 ····· 65
5) 열에 대한 안정성 ····· 70
6) pH에 대한 안정성 ····· 73

Ⅳ. 결 론 ····· 77

Reference

ABSTRACT

dCollection @ sungshin

List of Table

Table 1. Classification of teas ····· 10
Table 2. List of Microorganisms and media used for antibacterial activity tests ····· 29
Table 3. HPLC analysis conditions of catechin, caffeine and amino acid ····· 31
Table 4. HPLC analysis conditions of vitamin C ····· 32
Table 5. HPLC analysis conditions of solvent fractions of methanol extracts from green tea leaves ····· 36
Table 6. Comparison of general compositions in green tea leaves according to harvest periods ····· 39
Table 7. Comparison of catechin contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 41
Table 8. Comparison of total polyphenol contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 46
Table 9. Comparison of caffeine contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 47
Table 10. Comparison of theanine and total amino acid contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 52
Table 11. Comparison of vitamin C contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 53
Table 12. Yield rations of extraction of green tea by solvents ····· 55
Table 13. Antibacterial activities of water and methanol extracts from green tea on several microorganisms ····· 59
Table 14. Antibacterial activities of water and methanol extracts from green tea on several microorganisms ····· 60
Table 15. Antibacterial activities of solvent fractions of methanol extracts on green tea ····· 64

dCollection @ sungshin

Table 16. Antibacterial activities of methanol extracts from green tea on several microorganisms ····· 64
Table 17. Antibacterial activities of solvent fractions of methanol extracts from green tea on several microorganisms ····· 65
Table 18. Antibacterial activities of solvent fractions of methanol extracts from green tea on several microorganisms ····· 69
Table 19. Effect of temperature treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea ····· 71
Table 20. Effect of pH treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea ····· 75

dCollection @ sungshin

List of Figure

Fig. 1 Green tea manufacture process ····· 12
Fig. 2 Structures of catechins ····· 14
Fig. 3 Tea plant leaves ····· 27
Fig. 4 A stone pot ····· 27
Fig. 5 A farm of tea plant setting an example ····· 27
Fig. 6 Scheme of extraction and solvent fractionation of methanol extract from green tea leaves ····· 34
Fig. 7 Schematic diagram of sample preparation of the determination of EC, ECG, EGC and EGCg in green tea ····· 36
Fig. 8 Comparison of catechin contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 42
Fig. 9 Comparison of total polyphenol contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 46
Fig. 10 Chromatogram of standard amino acids and theanine, catechins, caffeines, vitamin C ····· 47
Fig. 11 Comparison of caffeine contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 49
Fig. 12 Comparison of theanine and total amino acid contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 52
Fig. 13 Comparison of vitamin C contents in green tea leaves according to harvest periods ····· 54
Fig. 14 Antibacterial activity of the methanol extract and the solvent fraction of green tea ····· 62
Fig. 15 HPLC chromatogram of catechins extracted from green tea ····· 68

dCollection @ sungshin

Fig. 16 Effect of temperature treatment on Antibacterial activity of methanol extracts in green tea ····· 72
Fig. 17 Effect of pH treatment on Antibacterial activity of methanol extracts in green tea ····· 76

dCollection @ sungshin

Ⅰ. 서 론

차(茶)는 인류에게 있어서 가장 오래된 음료 중의 하나로 고대로부터 지금까지 널리 음용되고 있다. 최근에는 차의 성분 및 효능에 대한 과학적 연구가 활발해지면서 차의 기능성이 규명되고, 세계 10대 식품으로 선정되면서 건강 기능성 식품으로서 그 이용도가 높아지고 있다. 근래에는 생산 여건과 제다기술의 발전과 함께 차의 맛과 향이 좋아지면서 식후나 여유 시간에 차를 마시는 것이 생활의 일부가 되면서 대표적 기호음료이자 건강식품으로 인식되고 있다(오구니 2004).

차는 녹차, 홍차 등 발효 정도에 따라 다양한 종류가 생산되고 있으나, 다양하고 개성있는 현대인의 기호에 맞추기 위해 계속 새로운 차 종류와 차 관련 제품이 개발 생산되고 있다. 우리나라 차 소비자의 경우, 차의 품질을 대부분 맛과 향으로 평가한다고 한다(양원모 2006). 그런 가운데 소득 수준 향상에 따른 건강 지향적인 식생활 패턴에 맞춰 차의 소비는 계속 늘고 있으며, 점점 고액화되는 경향을 보이고 있다(유양석 2009).

차의 맛과 향은 자연조건인 산지의 토양과 기후, 품종 그리고 제조방법 등 여러 요인에 의해 결정된다. 우리나라에서는 남부 지역의 하동, 보성 등의 대표적인 지역을 중심으로 생산되고 있다. 주로 재배되는 차나무 품종은 재래종 이외 야부기다 등 몇 종이 되지 않는다. 이런 이유로 차의 맛과 향을 결정을 짓는 즉, 차 제품의 차별화, 다양화 추구에서 자연조건이 이외 기타의 차별화 될 수 있는 한 방법이 차의 제조 공정이 될 수 있을 것으로 사료된다.

우리나라에서는 주로 불발효차인 녹차를 많이 음용하고 있는데, 특히 풋풋하면서도 약간 구수한 향이 있으며, 부드럽고 단맛이 나는 수제형 덖음녹차를

dCollection @ sungshin

선호하는 경향이 있다(양원모 2006).

차에는 단백질, 탄수화물, 지질 등의 기본 성분 이외에 폴리페놀, 유리아미노산, 카페인, 비타민 C, 휘발성 성분, 무기물 등의 다양한 유효성분들이 함유되어 있다. 이런 차의 성분 중 카테킨, 유리아미노산, 카페인, 비타민 C, 휘발성 성분(향기 성분)은 차의 향과 맛을 결정하여 차의 품질은 물론 차의 기능성을 결정하는 주요성분이다(정동효 2006, 김종태 1996).

차의 품질 및 기능성을 좌우하는 화학성분은 찻잎의 채취 시기와 찻잎의 성숙도에 따라 크게 달라진다(Takayanagi 등 1978, Nakagawa 1975). 카테킨은 차의 품종, 생육시기, 채엽 부위, 피복 유무 등에 따라 달리 나타난다. 생합성 과정 중에 온도와 일조량에 따라 큰 영향을 받기 때문이다(山西 貞 1981). 카테킨의 함량은 다양한 차의 기능성에 큰 영향을 미친다.

이 차의 기능성에 대한 연구는 질병의 예방 및 치료의 약리적 작용에 관한 연구로 녹차 음용에 대한 심혈관계 질환 및 암에 대한 예방 효과(大休正司 1987), 항 전립선암 및 질환에 대한 효과(Shengrong S. 등 2005), 항암 효과(Weisburger 등 1998, Hibasami 등 1998, Liao, S. 등 1995, Kuroda, Y 등 1999), 차의 항알러지 효과(Sugiyama 등 1991) 등이 있다.

특히 차의 카테킨은 항산화작용(Ho Chi-Tang 등 1992) 및 항암작용, 녹차 추출액의 항십이지장궤양 작용(Chung YS 등 2001), 녹차 폴리페놀류의 항돌연변이 효과(Lin, J.K. 등 1995) 그리고 각종 식품 유해균에 대한 차류 추출물의 항균 효과(오덕균 등 1999) 등의 생리적 활성에 대한 연구가 다양하게 보고되고 있다.

최근에는 녹차 성분 중 L-theanine의 relax 및 스트레스 완화 효과(Lekh RAj Juneja *et al* 2008), 녹차 카테킨의 조류 및 인간 인플루엔자바이러스 제어를 위한 연구(Song, 2008) 등 다양한 연구가 이루어지고 있다.

dCollection @ sungshin

그런 가운데 국내에서의 차의 항균성에 대한 연구로 국내외산 녹차 추출액의 항균 작용(Kim YG 1995), 식품 유해균에 대한 녹차, 오룡차 및 홍차 추출물의 항균 효과(Yeo SG 등 1995), 녹차추출물과 보존료의 식중독세균에 대한 항균활성 비교(Park CS 등 2000)와 변패 미생물에 대한 녹차 물 추출물의 항균 활성(Shin YH 등 2009), 발효 정도에 따른 국내산 야생차 추출물의 항균 활성(Choi OJ 등 2005)과 발효 정도별 성분 변화와 항균 활성(Shin GH 2004) 등이 보고되어 있다.

찻잎의 수확시기와 관련한 연구로는 수확시기가 주요 성분 함량에 미치는 영향에 관한 연구(Park JH 등 2008, Kim SH 등 2004)와 숙도와 기호성 관련 연구(Takayanagi 등 1985) 등이 있다.

또 차와 구강 건강과의 관계에 대한 연구로는 녹차 폴리페놀의 구강 질환 예방과 구강 건강 증진 효과(Christine D. 2005)와 치주 질환 세균에 대한 녹차 카테킨의 억제 효과에 대한 연구(Masaaki Okamoto 2005) 등이 있다.

그리고 차를 이용한 식품 개발을 위한 연구로 녹차가루를 첨가한 두부(Jung JY 2000)와 다식의 제조에 대한 연구(Choi OS 2009, Kim 2009), 가루녹차를 첨가한 식혜(Park SI 2006), 빵에 첨가한 녹차가 품질에 미치는 영향(Kim JS 2000) 등이 있다.

본 연구는 채엽시기별 녹차의 주요 성분을 분석하고, 항균 특성을 탐색하여 채엽시기의 적기를 산출하여 한국산 녹차의 품질 향상 및 기능성 확보를 위한 차별화 방안을 모색하는데 그 목적이 있다.

그리고 천연 항균물질인 차의 이용을 통한 식품 안정성 확보 및 활용화와 함께 천연 기능성 식품인 녹차의 음용 생활화를 위한 건강 증진 자료로 본 연구가 활용되기를 기대해본다.

dCollection @ sungshin

1. 차나무

1) 차나무의 식물학적 특성

차나무는 차나무과(Theaceae), 차속(茶屬) 차종(茶種)으로 식물학자 린네(C.V. Linne)의 분류 이후, 속명이 카멜리아(*Camellia*)와 데아(*Thea*)가 혼용되었으나, 현재는 국제식물명명법의 결정에 따라 *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze로 확정되어 통용되고 있다.

우리나라의 재래종 차나무는 다년생으로 잎은 두텁고 광택이 있는 짙은 녹색으로 긴 타원형이며, 3~10㎝ 정도로 가장자리에 거치가 많다. 꽃은 9~11월에 피는데 작은 편이며, 흰색으로 보통 5개의 꽃받침이 있고, 암술 하나에 수술은 굉장히 많으며 황금색이다. 열매는 다음해 가을에 맺히며, 보통 지름이 약 1㎝인 씨앗이 2~3개 열린다. 뿌리는 건조한 기후에 잘 견디고 땅 밑 5m까지 내려가는 직근성이다.

2) 차의 정의

차(茶)는 차나무 *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze의 잎으로 만들어진 것을 말한다. 차나무의 어린 잎을 따서 덖거나 말리거나 발효시키는 등의 다양한 제조방법을 통해서 만들어진다. 이렇게 만들어진 차는 자연적, 사회적 환경에 따라서 각 지역마다 나라마다 마시는 방법과 그 이용법이 다양하다.

dCollection @ sungshin

3) 재배 환경

차나무는 pH 4.5~5.5 정도의 약산성의 부식토이면서 배수가 잘되는 토양이 재배적지이다. 기온은 연평균 14~16℃ 정도이면서 겨울철에는 -10℃ 이하가 수일간 계속되지 않아야 한다. 연강수량은 1,300~1,500㎜ 이상으로, 생육기인 4~10월중에 60% 정도가 내려야 한다.

국내에서는 북위 35° 이남의 전남북, 경남 및 경북 일부 지역, 제주도에서 생산되고 있다. 전 세계적으로는 아시아(중국, 일본, 대만, 인도, 스리랑카, 인도네시아, 말레이시아, 터어키 등)와 아프리카(케냐, 말라위, 탄자니아, 남아프리카공화국 등), 남아메리카, 호주, 뉴기니아, 러시아 등에서 생산되고 있다.

4) 차의 원산지와 분포

차나무는 차속(茶屬 *Camellia*)으로 분류되는 80여종 중의 하나로 그 분포 범위가 매우 넓다. 현재 아시아를 중심으로 아프리카, 남아메리카, 오세아니아 등의 50여 개 국가에서 재배되고 있다. 차나무 원산지에 대한 연구는 우커스(W.H. Ukers)가 중국 운남성을 중심으로 한 인도지나 반도의 북부, 미얀마에서 귀주, 광서성까지의 지역임을 언급하면서 시작되었다.

인도 아샘종에서 기인한 인도 원산지설도 있으나, 대체로 대엽종과 중엽종, 소엽종이 혼재하고 있는 중국 운남성을 중심으로 한 운귀고원설(雲貴高原說)을 타당하다고 보고 있다(정동효 1997).

또 중국의 서남지구에 속하는 운귀고원이 히말라야 산맥의 조산운동에 의해 고원이 형성되면서 지역적으로 여러 기후구가 생겨났는데, 이곳은 고온다우 기후구로서 온난하고 강우량도 많아 열대 식물의 대온상지로서 동백나무과 식

dCollection @ sungshin

물의 대부분이 이 일대에 집중 분포하고 있다. 이곳의 차나무인 열대형의 대엽종이 온대 기후구에서 건조와 햇빛 부족에 견디도록 소엽종으로 진화된 것으로 보는 설도 있다(김종태 1996).

2. 차의 기원과 그 역사

1) 차의 기원설

중국 당나라 때 육우가 쓴 다경(茶經, Tea Classic))에서 차를 마시는 것은 신농씨로부터 시작되었다고 하였다. 이렇게 차의 기원이 시작된 신농씨는 기원전 2700여 년경 백성을 교화하여 농업을 가르치고, 불을 사용하는 법을 알려주었다고 한다.

이 신농씨가 산과 들에서 나는 여러 식물들을 직접 먹어보며 독초를 가리는 중에 어느 날 중독되어 쓰러졌다가 떨어진 차나무 잎을 먹고 정신을 차렸다는 설과 차나무 아래서 물을 끓이다 우연히 떨어진 찻잎에서 우러나온 찻물을 마신 신농씨가 쓰고 떫었으나, 해갈과 함께 정신을 맑게 하는 작용이 있음을 알게 된 이후로 마시게 되었다는 설이 있다.

이런 설을 통하여 원시 시대 이후로, 경험적으로 해독 작용을 비롯한 다양한 차의 효능을 알게 된 인간들이 질병의 예방이나 치료용으로 차를 이용하게 되었음을 알 수 있다.

dCollection @ sungshin

2) 차의 역사

신농씨 이후로, 차는 오랜 역사 속에서 질병의 치료나 예방의 효과가 알려지면서 인간 생활에 있어서 유용한 식물로 알려졌다.

중국에서는 '식약동원(食藥同源)'의 하나로 이용되었으며, 차는 천지 신과 조상 제례에 올리면서 점차 인간의 삶 속에서 자연스레 마시는 음료가 되었다.

차는 피로 회복과 해갈작용, 질병 치료 등의 차의 효능을 알게 되면서 차를 달여 마시기 시작한 것 같다. 인간의 식문화면에서 살펴보면, 불을 이용하여 끓여서 마시면서 그 맛이 써서 고차(苦茶)라고 부르기도 하였다.

중국 육우(陸羽)의 다경(780년 刊)에는 차의 역사와 다양한 문화의 발전을 찾아볼 수 있다. 특히 그 당시의 병차(餠茶) 제다법과 함께 차를 음용하는 법, 끓이는 법(煮茶法), 차도구, 물과 불의 이용, 그리고 예로부터 차를 즐겨 음용해온 선인들의 발자취를 살펴볼 수 있다. 이 다경 이후로, 중국 당나라 때의 차 마시는 풍속은 서민들에게까지 보급되고 차의 생산량도 많아졌다.

송대(宋代)에는 단차를 곱게 갈아서 거품을 내서 마시는 점다법(點茶法)의 발전과 함께 도자기의 발달로 차문화는 더욱 화려해졌다. 그리고 투다(鬪茶)까지 성행하면서 차문화의 극치를 보여주었다. 송대에 있어서 차는 서민들에게도 필수품으로 없으면 안되는 것이 되었고, 국가에서는 소금, 술과 더불어 차에도 세금을 매기게 되었다. 이러한 당 · 송대의 차는 다른 나라와의 무역품이 되는 등 중요한 교역 물품 중의 하나로 나라의 중요한 재원이 되기도 하였다.

원대(元代)에 이르러서는 여러 번에 걸친 원정 때 차가 타지역으로 퍼져나갔다고 보고 있다. 특히 중앙아시아를 비롯한 유목민들의 식생활에 있어서 차가 자리 잡게 된 것이 이 시기인 것으로 사료된다. 또한 당 · 송대와 달리 마시는 음료로서만이 아닌 음식문화 속에서 차가 다양하게 이용되는 것을 볼 수

dCollection @ sungshin

있다.

명대(明代)에 들어서면서 잎차가 만들어지기 시작하였다. 차잎을 덖어서 말리는 제다법이 보편화되었으며, 포다법(泡茶法)에 의해 차를 우러내어 마시게 되었다. 이 당시 송대의 단차(團茶) 만드는 법이 단절이 된 이후로, 송대의 단차는 재현되지 못하고 있다.

청대(淸代)에는 잎차와 함께 중국 각 지역에서 다양한 차가 만들어졌다. 홍차와 오룡차가 만들어지고, 운남의 보이차가 황실에 바쳐지는 등 차의 제다에 있어서 큰 발전을 가져왔다.

이러한 중국에서의 차 제다법의 다양한 발전은 각 지역의 차생산지에서 황제에게 바치는 공납용의 차를 생산하면서 더욱 발전하였다. 물론 공납의 폐해도 컸으나, 이로 인해 차문화의 발전을 가져온 것만은 분명한 일이다.

차가 유럽에 자리잡게 것은 17세기 포르투갈과 네덜란드 동인도 회사를 통해 각국에 전해지면서부터다. 하지만 그 가격이 너무 비싸서 대중화되는데 어려움이 많았다. 또한 차에 대한 수요가 높아지면서 밀수와 위조의 성행을 가져오기도 하였다. 그 과정 속에서 제국주의로 인한 국제 전쟁의 한 원인이 된 것이 바로 보스턴 차 사건과 아편 전쟁이다.

18세기가 되면서 유럽으로의 차 무역은 더욱 발전하였으며, 이어서 인도와 인도네시아 등에서 홍차가 생산되면서 중국 이외의 곳에서도 차가 생산되기 시작하였다. 그리고 이 홍차가 유럽으로 공급되면서 유럽에 홍차문화가 자리하게 된다.

우리나라의 차는 신라 선덕왕(632~647년) 때부터 있었으나, 흥덕왕 3년(828년) 대렴(大廉)이 당으로부터 차 종자를 가져와 지리산에 심게 한 이후로 재배하게 되었다고 한다.

dCollection @ sungshin

차문화는 신라 시대를 거쳐 고려 시대에 매우 번성하였다. 불교와 더불어 융성하였는데, 왕실이나 문인, 승려, 귀족들에 의해 보급·전파되었다. 국가적인 행사인 팔관회와 연등회에는 반드시 차가 등장하였다. 차를 관장하는 다방과 차를 생산하는 다소도 있었다.

조선 시대에 들어와 차문화는 크게 성행하지 못하였으나, 19세기에 접어들면서 다산 정약용을 위시하여 초의선사나 추사 김정희 등을 통해 활발한 차문화의 모습을 찾아볼 수 있다.

이후 일제 강점기에 일본식 다원이 전라도 일부 지역에 만들어지기도 하였다. 6. 25와 근대 국가 경제의 극한 상태 속에서도 차문화는 이어져왔다.

그리고 1960년대의 홍차 생산과 1970년대 중반 기업에 의해 녹차가 대량생산되기 시작하였다. 1980년대 이후, 경제 발달로 인한 소득 수준의 증가와 함께 오늘날의 차문화 산업은 크게 성장하였다. 특히 건강과 웰빙에 대한 일반인의 관심 증대는 차계의 다양한 차생활 운동과 함께 차문화의 발전을 가져왔다.

최근 글로벌시대를 맞아 차문화는 우리의 대표적인 전통문화로 자리잡고 있으며, 현대화 과정 속에서 타문화와 함께 더욱 발전하고 있다.

3. 차의 분류

차는 제다 방법에 따라 여러 종류의 차를 만들고 있다. 이렇게 만들어진 차는 발효정도에 따라 분류된다. 발효 정도에 따라 분류해보면, 먼저 찻잎이 발효하지 않은 녹차, 전체적으로 발효시킨 홍차, 일부를 발효시킨 반발효차로 분류할 수 있다. 반발효차는 또 포종차와 우롱차로 분류되며, 미생물이 관여하는

dCollection @ sungshin

발효차로 푸얼차가 있다. 이들 차를 우려낸 찻물색에 따른 분류로 녹차, 홍차, 백차, 청차, 흑차 등으로 나누고 있다.

또 향기와 다른 재료를 첨가하거나 인스턴트 음료의 형태인 가공차 등이 생겨나고 있다. 그리고 차잎을 채엽하는 시기에 따라 즉 차잎의 크기에 따라 우전, 작설, 세작, 중작, 대작 등으로도 나누고 있다.

Table 1. Classification of teas

Unfermented tea (Green tea)	Steaming	Matcha
		Gyokuro
		Sencha
		Bancha
	Rosting	Bancha
		Gylkuro(Japanese tea)
		Longjing(Chinese tea)
Semi-fermented tea	Withering semi-fermented	
Fully fermented tea (Black tea)	Chinese black tea	
	English black tea	
Fungal fermented tea	Anaerobic fermented tea	Miang
Processed tea	Flavoring tea Tea bag Instant tea Can	

dCollection @ sungshin

4. 녹차 제다법

녹차는 찻잎을 채취한 후, 찻잎 속의 산화효소인 폴리페놀옥시다제를 불활성화시킴으로써 산화발효를 정지시켜 만든다. 이 발효를 정지시키는 방법에는 열로 덖는 방법과 증기를 가열하는 방법이 있다. 전자를 덖음차라 하며, 후자를 증제차라 한다.

증제차는 증열(蒸熱) → 조유(燥柔) → 유념(柔捻, 비비기)→ 중유(中柔)→ 정유(精柔) → 건조의 공정으로 만들어진다. 증제차는 고압 수증기를 가하여 순식간에 만들어지기 때문에 침상형으로 녹색이 유지되며, 차의 맛이 담백하고 신선하다.

덖음차는 찻잎을 채취하여 수분이 없는 상태에서 뜨거운 솥에서 재빨리 덖어 열을 가하며 찻잎의 숨을 죽인다(증열). 그리고 꺼내어 식히며 손으로 비빈 다음(유념), 다시 솥에서 덖는 과정을 3~4차례 반복하면서 차의 모양을 만들고 건조시켜서 만들어진다.

이 때 고열로 처리하는 과정에서 차의 독특한 향과 구수한 향이 생겨난다. 녹차는 상큼한 향과 함께 감칠맛이 어우러지면서 뒷맛이 산뜻할 때 좋은 차라고 한다.

그리고 옥록차(玉綠茶)라고 하여 증제차의 제다법으로 만들어서는 마지막 공정을 은근한 솥에서 불기운을 맞아 맛과 향이 덖음차로 하여 구수하게 만든 차와 찻잎을 갈아서 가루 상태로 만든 말차 등이 만들어지고 있다.

dCollection @ sungshin

Fig. 1 Green tea manufacture process

dCollection @ sungshin

5. 차의 화학 성분

차의 주요 성분은 차나무의 품종, 토양, 기후 등의 자연환경 및 재배조건, 채엽 시기나 채엽 부위 등의 차이에 따라 다르게 나타난다.

차는 타 기호음료에 비하여 폴리페놀, 당유기산, 질소화합물, 무기질, 비타민, 섬유소, 지질 등이 많이 함유되어 있는 것이 특징이다. 고형성분은 차를 우릴 때 약 40% 정도가 용출된다.

차의 풍미는 향기와 맛이 어울려 느껴지는 것으로 차잎의 화학성분 조성 및 차의 가공법과 그 저장방법 등이 영향을 미친다. 차는 이중 카페인의 쓴맛, 탄닌의 떫은 맛, 질소 화합물의 구수한 맛, 아미노산의 감칠맛 등의 화학적인 맛과 색, 향기 및 외관 등의 심리적인 맛이 다양한 조화를 이루면서 다양한 기호성을 갖는다.

1) 폴리페놀

차의 기능성에 관한 주된 관심은 차에 함유되어 있는 카테킨(catechins)류에 집중되어 있다. 이 카테킨류는 강력한 항산화제로서 차의 심장병 예방효과, 항암효과, 항균효과 등 녹차의 다양한 기능성을 설명하는 주된 성분이다.

차잎의 폴리페놀 함량은 6종의 카테킨과 그 유도체로 구성된다. 녹차에는 이 카테킨 중 -epigallocatechin-3-gallate (EGCg), -epigallocatechin(EGC), -epicatechin-3-gallte(ECg), -epicatechin(EC) 등이 주로 함유되어 있다.

네 가지 카테킨 중 쓴맛을 내는 유리형 카테킨(EC, EGC)은 계절에 따라 큰 변화가 없으나, 쓰고 떫은맛을 내는 에스테르형 카테킨(ECg, EGCg)은 첫물차보다 두물차, 세물차의 함량이 월등히 높아진다.

dCollection @ sungshin

차맛의 쓴맛과 떫은맛을 나타내는데, 차나무의 품종, 채취시기에 따라 다소 다르게 나타난다. 이는 생합성 되는 과정에서 일조량의 영향을 받기 때문이다. 따라서 대체로 기온이 낮은 시기의 첫물차는 카테킨 함량이 적어 녹차 제조에 적합하고, 반면 일조량을 많이 받는 여름철 차잎은 떫은맛이 강하므로 우롱차나 홍차 제조에 적합하다. 그러나 제조된 이후의 카테킨 함량은, 녹차에 약 10~18% 함유되어 있으며, 발효시켜 만든 우롱차나 홍차보다 함량이 더 높다(Weisburger JH 1997).

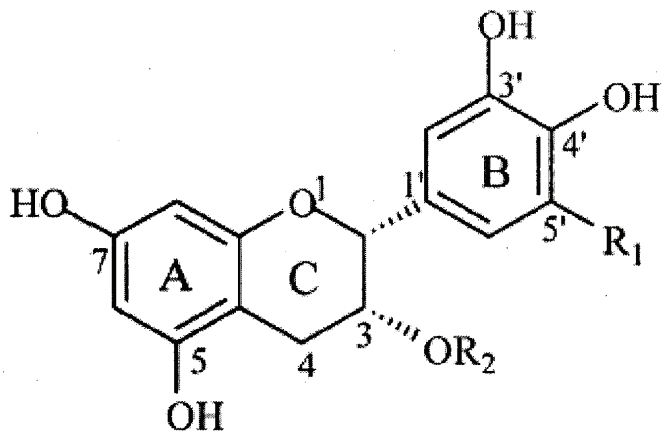


Fig. 2 Structures of catechins. For EGCg, R_1 = OH and R_2 = galloyl ; for ECg, R_1 = H and R_2 = galloyl ; for EGC, R_1 = OH and R_2 = H; for EC, R_1 = H and R_2 = H

dCollection @ sungshin

2) 카페인

카페인은 특유의 쓴맛을 가지며, 각성작용, 이뇨작용, 강심작용을 나타낸다. 차잎 중의 카페인은 원두커피나 마테차에 비해 함량이 많지만, 차를 우려낼 때 60~70% 정도만이 우러나기 때문에 한 잔 당 카페인의 섭취량은 커피의 반 정도이다. 또한 차잎 중에 데아닌과 카테킨 성분에 의해 카페인 흡수가 저해되고 생리적 작용이 억제되기 때문에, 과다 음용시 카페인 과다 현상이 커피에 비해 적게 나타난다.

3) 아미노산

녹차 중에는 1~5%의 유리 아미노산이 함유되어 있으며, 약 28종의 아미노산으로 구성되어 있다. 차잎 중의 아미노산 함량은 채엽 시기, 차나무의 부위, 품종, 피복 유무, 질소 비료의 유무 등에 따라 달라진다.

유리 아미노산 중 theanine과 glutamic acid는 중요 아미노산으로 차의 맛에 큰 영향을 준다. 특히 데아닌(theanine) 성분은 채엽시기가 빠르면 그 아미노산 함량이 높은 것으로 알려져 있다. 데아닌은 Camellis species, C. japonica 등의 몇 종에서만 발견되는 아미노산으로(Chu, D.C. 1997) 차의 데아닌은 glutamic acid와 ethyl amine으로부터 형성되어, 차 특유의 감칠맛과 단맛을 가진다. 이때 햇볕이 차단되어 일조량이 감소되면 차잎에 축적되고, 햇볕을 쪼일 경우는 카테킨으로 변한다고 보고되어 있다(貞 1981). 이를 이용하여 차광 재배하여 만든 차가 바로 말차이다. 또한 채엽 시기가 빠른 고급 녹차 및 옥로차, 분말차에 다량으로 함유되어 있다.

dCollection @ sungshin

4) 비타민류

차잎 중에는 물에 녹는 수용성 비타민과 물에 녹지 않는 지용성 비타민이 있는데, 수용성 비타민으로는 비타민 B군과 C, P(루틴)가 있고, 지용성 비타민으로 비타민 A, D, E, K가 있다. 비타민 C의 함량은 다른 채소나 과일에 비해서 월등히 높은 편이며 차 종류에 따라서도 차광 재배한 옥로차나 반발효차, 홍차는 녹차에 비해 함량이 낮은 편이다. 우롱차나 홍차는 발효 과정 중 효소에 의해 환원형 비타민 C가 산화형 비타민 C로 변화되기 때문이다. 지용성 비타민 A는 생잎 중에 17~18㎎% 정도 함유되어 있고 비타민 E(토코페롤)는 다른 과실류에 비해 월등히 많이 함유되어 있고, 특히 효력이 강한 α-토코페롤이 대부분을 차지하고 있어 비타민 E의 보고라 할 수 있다.

5) 미네랄과 사포닌

차잎 중의 미네랄 성분은 4.2~6.2% 정도로 칼륨(K), 칼슘(Ca), 인(P). 마그네슘(Mg), 망간(Mn), 철(Fe) 성분이 함유되어 있다. 특히 불소(F)와 망간, 철 성분이 다른 작물에 비해 많이 함유되어 있으나, 칼슘 성분은 함량이 적다. 차를 우려낼 때 침출되는 무기 성분은 약 2%가 우러나며, 철과 요오드 성분의 용해성이 높다.

차종자의 사포닌은 유화제로서 공업적으로 널리 이용되고 있으며, 보통 세물차 중에 0.07% 정도 함유되어 있어 약간의 쓴맛과 아린 맛을 낸다. 기포를 형성하는 작용이 있어 말차를 마실 때, 차의 거품(沫餑 말발) 형성에 관여한다.

dCollection @ sungshin

6. 차의 기능성

차가 항산화효과, 항암효과(Suganuma 등 1999, Seo 2003), 항균효과(Liu Ting Li 2003), 심장병 발생 억제 효과(Min, 2003), 항당뇨 효과 등이 있음이 밝혀지면서 기호음료만이 아닌 건강 음료로 자리 잡고 있다.

그동안 차에 관한 연구는 차의 주 소비지인 일본과 중국에서 활발히 진행되었으나, 그 기능성이 밝혀지면서 최근에는 유럽과 미국 등지에서도 많은 연구결과가 발표되고 있다.

최근에는 녹차의 기능성 성분의 구조와 분리, 정제 등과 같은 화학적인 면뿐만 아니라 다양한 역학조사(Liu Ting Li 2003), 동물 모델을 이용한 실험, in vitro 실험(Seo 2003)을 통해 녹차의 기능성을 증명하고 있다.

1) 항균 작용

Hara 등(原 1989)은 대표적인 식중독균에 대한 차 카테킨류의 항균 활성을 최소 저해농도(MIC)로서 구하였다. 그 결과 차 카테킨류는 포도상구균(*Staphylococcus aureus),* Wilchii균*(Clostridium perfrinfgens),* cereus균*(Bacillus cereus),* 장염비브리오*(Vibrio paraphaemolyricus)*를 포함한 Vibrio속 3균주*, Plesiomonas shigelloides* 에 대하여 뚜렷한 항균 활성을 나타내었다.

또 분리 정제된 각 카테킨류, 테아플라빈류는 B. botulinus균 포자뿐만 아니라 동일 영양세포에 대하여도 항균력을 가진다고 보고하였다.

Toda 등(1991)은 MRSA(Methicillin resistant *Staphylococcus aureus)* 에 대한 차 카테킨류의 살균 작용을 보고하였다. 여기에 의하면 EGCg는

dCollection @ sungshin

250ppm이라는 낮은 농도로 MRSA에 대하여 충분히 살균 효과를 내었다고 한다.

일본 昭和대학 의학부의 Shimamura 등(島村忠勝 1992)은 차 카테킨류가 호흡기 감염의 원인 균인 백일해균(*Bordetella pertussis*)나 *Mycoplasma pneumonia* 장관감염의 원인 균인 Vibrio cholerae에 항균 활성을 나타내는 것을 밝혀내었다. Shimamura 등은 차의 성분 중에는 티푸스, 적리균, 콜레라균, 장염 비브리오균 등과 같은 병원성 세균에 대해 강한 살균작용이 있음을 발견하였다(Kim 1996).

특히 Yukiko 등(2005)의 연구를 살펴보면, 식중독균인 *Escherichia coli* 0157: H7균에 대한 녹차 추출물의 억제 효과를 조사하였다. 녹차 추출물이 함유된 식염수 인산 완충액에서 4~6시간 동안 배양시 억제되는 것을 확인하였다. 생존력 역시 1,000㎍/ml 의 카테킨을 함유하는 배양액에서 6시간 배양했을 때, 500, 200㎍/ml 의 카테킨 농도에서 24시간 배양했을 때 완전히 억제되었다.

녹차 한 잔을 마실 때 섭취하는 녹차 추출물의 양은 900㎍/ml 이다. 또 섭취된 녹차 추출물은 보통 사람의 장내에 20시간 정도 머무는 것으로 보고되었다(Hara Y 1997). 이 결과는 음료로써 섭취되는 녹차 추출물의 양이 몇몇 병원균의 증식과 생육을 억제하기에 충분하다는 것을 입증한다고 하겠다.

이로써 이전의 연구(Hara -Kudo 등 2001)와 함께 습관적인 녹차 음용이 사람의 소화기계에서 몇몇 병원균의 증식과 생육을 억제하는데 효과적임을 확인할 수 있다.

dCollection @ sungshin

2) 항충치 및 항구취 작용

차 카테킨류의 충치균에 대한 항균 작용에 대하여 Sakanaka 등(1989) 의 보고가 있다. 4종류의 보통 음용 농도의 차 음료에 충치균(*Streptococcus mutans*)을 접종하고 그 동향을 살펴본 결과, 4종의 차 음료는 녹차> 푸얼차 > 홍차의 순으로 강한 항균 활성을 나타내었다. 이때 녹차에서는 10^4 /㎖ 단위의 충치균이 1시간 후 완전히 사멸하였다. 이때 우롱차에는 약한 항균활성을 보였다.

Liu Ting Li(2003)는 녹차 폴리페놀의 항충치효과와 임상 연구를 하였다. 대표적인 충치균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sobrinus*를 다양한 농도의 녹차 폴리페놀에 배양하면서 균의 증식과 치아 표면의 부착성을 조사한 것이다. 그 결과, *Streptococcus mutans*의 균 증식이 1.25% 농도의 녹차 폴리페놀에서 완전히 억제되었고, *Streptococcus sobrinus*균의 부착성이 0.025~0.1% 농도에서 유의적으로 감소되었다. 이를 통해 충치와 치주염의 발병율을 감소시키는 이상적인 천연물질로서의 녹차 폴리페놀이 기여할 것이라는 결과를 얻어내었다.

또 녹차의 카테킨은 충치의 원인이 되는 글루칸을 합성하는 glucosyl transferase(GTF)를 억제하는 것으로 밝혀져 녹차 음용은 충치 예방에도 효과적임을 알 수 있다(Hattori M. 1990, Rasheed 1998).

3) 항산화작용

차잎 중의 카테킨 성분은 식용 유지에 대한 항산화 작용이 있음이 보고되었다. Hara(原) 등은 차카테킨의 돼지 기름에 대한 산화방지 효과 실험에서 조

dCollection @ sungshin

카테킨 10ppm 첨가에 의해 토코페롤 200ppm과 같은 산화방지 효과를 나타내었다. 항산화력은 EGC> EGCg> EC> ECg> α-토코페롤 순으로 강한 항산화효과를 나타내었다고 한다(Kim 1996).

녹차에 관련된 항산화 기능은 주로 녹차에 함유되어 있는 폴리페놀계에 의한 작용으로 식용유지의 산화를 방지하거나 적색 식품의 탈색을 방지하는 천연 산화제로 식품산업에 광범위하게 사용되고 있다.

라아드에 대한 녹차엽 추출물의 항산화력은 조catechin 보다 낮았으며, α-tocopherol, 레시틴 같은 항산화제와 병용한 결과 대단히 높은 항산화 상승 효과가 나타났다(Chu 등 1997).

생체 내에서도 녹차는 강력한 항산화력을 나타낸다. 체내에 적당량의 항산화제가 존재하지 않으면 호흡을 통해 유입된 산소는 여러 가지 과산화물과 과산화 라디칼을 생성시켜 이들은 정상세포에 손상을 주게 된다. 따라서 채소나 과일, 음료 등을 통해서 항산화제를 섭취해 주어야 한다.

연구자들은 하루에 녹차를 5~7잔을 마시는 것이 바람직하다고 권하고 있다. 실제로 녹차 음용자들은 비음용자들에 비하여 심질환 이환율이 낮은 것으로 밝혀졌다(Weisburger 등 1998).

4) 항암 작용

Oguni 등의 역학 조사 결과, 일본의 차산지인 시즈오카현의 암 사망률이 전국 평균치에 비해 매우 낮다는 사실에서 녹차의 항암 효과가 주목받기 시작하였다. 1969년에서 1982년의 14년간의 위암 사망비의 분포 비교에서 녹차를 자주 마시는 경향이 유의적으로 인정되었다.

녹차를 이용한 생체 내에서의 항암 작용에 관한 연구를 보면 카테킨 중 주요

dCollection @ sungshin

성분인 EGCg의 암세포와 동물 실험 모델을 이용한 연구를 통해 녹차가 직장암, 유방암, 피부의 종양, 전립선암, 폐암, 위암 등 각종 암에 대해 세포 증식이 억제되고 암세포가 사멸하여 암의 발생과 진행 과정이 녹차에 의해 억제된다고 보고되었다(Weisburger 등 1998, Hibasami 등 1998, Liao, S. 등 1995, Kuroda, Y 등 1999). 이런 보고에서 녹차 카테킨이 항돌연변이 및 항종양 효과를 가지고 있음을 알 수 있다. 최근에는 카테킨 성분의 항암 메커니즘에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

또한 세포의 수명을 자연적으로 조절하는 기능의 하나인 아포토시스는 몇몇 항암제에 의해 유도되고 발암촉진인자에 의해 억제되는 것으로 알려져 있다. 최근의 연구에서 녹차의 EGCg는 정상세포에는 영향을 미치지 않고 암세포에만 작용하여 세포 증식을 억제하고 암세포의 아포토시스를 유도하여 강력한 화학적 예방효과를 나타낸다고 보고하였다(Chen, ZP. 등 1998).

거의 대부분의 종양 증식과 전이에 혈관 형성이 필요한데 녹차의 EGCg에 의해서 농도 의존적으로 이 과정이 억제되는 것이 밝혀졌다. 실험에 사용된 EGCg는 보통 사람이 녹차를 2~3잔정도 마셨을 때의 농도였다(Cao, Y. 등 1999).

현재 사용되고 있는 항암제들이 대부분 암세포뿐만 아니라 정상세포에도 작용하여 부작용이 심하므로 사용에 제한이 많고 경제적인 부담도 큰 편이다. 그러므로 일상적으로 음료나 음식으로 섭취할 수 있는 녹차는 이상적인 항암제라고 할 수 있다.

5) 혈압 상승 억제작용 및 관상동맥 질환 예방 효과

근래 녹차 제조과정에서 차 생엽을 적채 후에 질소 가스 등의 불활성 가스로

dCollection @ sungshin

방치하여 혐기 처리하면 ɣ -amino butyric acid(GABA)가 보통 차의 10~30배로 다량 생성된다. 이 성분은 고혈압 강하 효과가 뛰어나 일본에서는 GABA tea 제품으로 개발되어 기능성 차로서 판매되고 있으며, 또한 많은 연구가 행해지고 있다.

또 체내 지방층 속의 산화 LDL은 혈관 내에서 콜레스테롤로 축적되어 동맥경화를 유발한다. 이런 동맥 경화의 원인을 예방하기 위해서는 항산화제에 의한 LDL의 산화를 방지해야 한다.

이런 효과를 갖는 천연 항산화제는 대부분 식물에 존재하며 폴리페놀, 플라보노이드 등 가장 강한 항산화작용이 있는 것으로 알려져 있다.

차를 자주 마시는 사람은 차를 마시지 않거나 가끔 마시는 사람에 비하여 관상동맥성 심장병의 발병률이 저하된다는 것이 역학조사에서 입증되었다.

녹차를 열수로 추출하여 LDL에 대한 항산화활성을 연구한 결과, 혈관내피세포에서 유도되는 LDL의 산화가 억제되었다(Maramatsu, K. 등 1991).

또 녹차 성분과 EGCg는 혈장의 총 콜레스테롤 농도와 LDL콜레스테롤 농도 저하, 동맥경화지수의 개선 및 대동맥 지질 이상에 대한 예방효과도 나타내는 것으로 밝혀졌다(大休 등 1987, Zongmao 1993).

6) 항당뇨 작용

당뇨병은 현대 사회에서 많이 발생하는 내분비계 질환으로 알려져 있다. 녹차 카테킨이 소장 내의 α-아밀라제, α-글루코시다제, 설탕 등 전분과 당을 분해하는 효소의 활성을 억제하여 소장 내로 포도당의 흡수를 저하시킴으로써 혈당의 급격한 상승을 막는 것으로 밝혀졌다(Matsumoto 1993).

dCollection @ sungshin

7) 항알레르기 작용

알레르기는 증상에 따라 가벼운 재채기나 두드러기, 비염, 천식 이외에 생명을 위협하기도 한다. Sugiyam 등 (1991)은 차의 EC, ECG, EGC, EGCg 의 히스타민 유리 억제 활성을 검토한 결과, EGC, EGCg은 강한 억제작용을 나타냈으며, 현재 알레르기 치료제로 사용되는 tranilat와의 비교 실험에서도 더 강한 활성을 나타내었다.

8) 환경호르몬에 대한 작용

일본 후쿠오카현 보건환경연구소의 모리타 등(1997)은 가루녹차를 함께 섭취시킨 수컷 랫트에서 환경호르몬으로 알려진 내분비계교란물질의 간 분포와 분변으로의 배설량을 검토하였다.

가루녹차를 섭취한 군에서는 대조군에 비해 내분비계교란물질의 분변으로의 배설량이 2.4~9.1배까지 증가하였으며, 간에서 검출된 농도는 대조군의 20~79%까지 낮았다. 이는 가루녹차를 섭취함으로써 내분비계교란물질의 소화관내로의 흡수가 저해되기 때문인 것으로 추측되며 녹차에 함유된 식이섬유가 내분비교란물질을 흡착하여 소화관 내로의 흡수가 저해되어 분변으로 배설된다고 하였다.

9) 피부에 대한 작용

최근 녹차와 피부와의 연구에서 차의 catechin 성분이 피부에 수렴 작용과 진정 작용을 하며 피부 노화를 방지하는 것으로 알려져 있다.

dCollection @ sungshin

햇빛에 오래 노출되면 피부 세포 내에 활성 산소와 유리 라디칼이 생성되어 피부 단백질의 변성 및 지질의 과산화를 통해 피부염이나 암을 일으키는 주원인으로 작용하게 된다(Oguni 1992, Danno, K. 1984).

차의 catechin 성분은 자외선에 의한 유리 라디칼의 생성을 억제하는 항산화 효과를 나타내기 때문에 피부 노화를 예방 및 억제하는 작용과 홍반 억제 효과, 과산화지질 생성 억제 효과를 갖게 한다((Makhtar 1992). 이를 이용한 녹차의 피부 미용 효과를 이용한 세안용 제품이 생산되고 있으며, 화장품으로 개발되어 있다.

이상으로 살펴보았듯이 녹차를 마시는 기호음료로만 생각하지 말고 차의 항균작용을 비롯한 각 기능성을 이용하여 적극적으로 활용되어야 할 것이다.

이미 일본에서는 공기 정화기나 에어컨의 필터에 차 카테킨을 적용하여 공기 중의 바이러스를 제거하는 제품이나 구취 제거, 충치 예방용 정제, 녹차의 항산화성, 항균 효과를 이용한 식품 선도 유지제 등 다양한 제품이 개발되어 생산 판매되고 있다. 우리도 이렇듯 천연 항균제로서 차를 이용한 제품의 적극적인 생산과 활용이 이루어지길 바란다.

본 연구는 찻잎의 채엽 시기별 제다 녹차의 주요 성분 차이를 분석하여 보다 양호한 품질의 차를 제조할 수 있는 활용자료를 얻기 위해 수행되었다.

연구를 위해 여러 생리적 유용성이 있음에 따라 많은 사람에게 음용되고 있어 그 활용성이 높은 녹차를 선택하였다. 녹차는 채엽 시기와 제조 공정에 따라 구성 성분의 변화가 일어나며, 품질을 결정하는 차의 맛과 향이 생겨난다.

녹차의 고급화와 생산성 향상 및 한국형 녹차의 생산 방향 설정을 위해 수제형 덖음 녹차에 대한 연구가 필요한 시점이다.

dCollection @ sungshin

우리나라와 중국은 높은 온도에서의 덖음 처리에 의해 산화효소를 불활성화시켜 만든 덖음 녹차를 선호하고 있다. 그러나 생산되는 덖음 녹차 대부분이 무쇠나 스텐리스 재질의 솥에서 만들어지고 있다. 이에 예부터 곱돌솥에서 음식이 만들어졌을 때 그 맛이 좋다는 것에 착안하여 본 연구에서는 곱돌을 재질로 하여 솥 두께와 표면을 특수 제작한 석정(石鼎)을 이용하여 만든 덖음 녹차를 시료로 사용하였다. 그리고 녹차의 고급화를 위해 돌솥을 이용한 덖음 녹차의 생산이 한 방안이 될 수 있음을 연구해보았다.

찻잎의 채엽 시기에 따른 주요 성분 차이를 규명하는 것은 찻잎을 제품으로 제조할 때 어느 시기의 잎을 채엽하는가 또 어떤 제품을 생산할 수 있는가를 미리 파악하는 기초 자료로 중요하다.

그리고 차의 생리적 유용성을 높여주는 주요 성분의 함량 분석과 함께 식중독균과 충치균, 구취균 등에 대한 차의 항균 특성을 살펴본 것은 현대인의 식생활이 외식과 단체급식, 인스턴트 식음료의 이용이 높아지는 경향을 보이면서 세균성 질환 발생 및 식중독 사고의 위험성 증가와 함께 충치의 발생률이 높아지고 있음에 천연 항균제인 차 음용의 생활화를 통해 이를 예방할 수 있을 것으로 사료되었기 때문이다.

본 연구를 통해 차생활을 통한 식후 충치 예방과 구취 예방은 물론 현대인의 건강한 심신 유지를 위한 웰빙의 한 방법으로 차 음용의 생활화를 적극 권하는 바이다.

dCollection @ sungshin

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 시료의 제조

본 실험에 사용한 찻잎은 전남 구례군 마산면 황전리 소재의 장죽전제다 다원의 일정 구역을 선정하여 시범포를 만들고 채엽하였다.

시범포의 차잎은 각 5회에 걸쳐 채엽하였다. 차잎이 처음 나오는 것을 딴 후, 일정 시기가 지나 1창 2기의 찻잎이 나오는 것을 보면서 5회에 걸쳐 잎을 각 2㎏씩 채취하였다. 채엽 시기는 제1시기(2009년 4월 17일), 제2시기(5월 6일), 제3시기(5월 28일), 제4시기(6월 22일), 제5시기(7월 23일)이다.

각 시기별로 채엽한 찻잎은 솥에서 전 과정을 덖고 건조시키는 덖음법으로 녹차를 만들어 시료로 사용하였다.

덖음 녹차는 3번의 덖음과 유념으로 만들어졌다. 첫 번 덖음은 280℃±10℃에서 10분간 덖은 후, 5분간 유념을 하고, 두 번째 덖음은 150℃±10℃에서 5분간 덖고 다시 5분 유념 후, 세 번째 덖음을 120℃~130℃±10℃에서 10분간 덖고 5분 유념을 하였다. 그리고 90℃~110℃±10℃ 에서 30분간 건조 후, 70℃~90℃±10℃에서 1시간 건조로 제조되었다.

시료는 polyethylen bag으로 포장하여 냉장고에 저장하며 분석시료로 사용하였다. 차의 주요 성분 분석시에는 50-80mesh 사이로 분쇄하여 시료로 이용하였다.

녹차를 만들기 위한 제다용 솥은 곱돌로 제작된 것을 사용하였다(Fig. 4).

dCollection @ sungshin

Fig. 3 Tea plant leaves

Fig. 4 A stone pot

Fig. 5 A farm of tea plant setting an example

dCollection @ sungshin

2) 시약 및 기구

녹차 성분 분석을 위한 표준품 catechin(C), epicatechin(EC), epicatechin gallate(ECg), epigallocatechin(EGC), gallocatechin(GC), epigallocatecnin gallate(EGCg), gallocatechin gallate(GCg), theanine, caffeine, Vitamin c는 Sigma chemical Co.(St Louis, MO, USA) 제품을, methanol, water 등 용매는 HPLC용으로 Mallinckrodt Baker Inc.(Phillipsburg, NJ, USA) 제품을, meta-phosphoric acid 등 그 밖의 것은 시약 특급을 사용하였다.

추출에 사용한 methanol, n-hexane, chloroform, ethylacetate, butanol은 Duksan(Duksan Pure Chemicals, Korea)사의 제품을 사용하였다.

paper disc는 Whatman(England)사의 제품으로 직경 6㎜제품을, fliter paper는 Whatman(No.2 England)사의 제품을 사용하였다.

3) 공시균주 및 배지

배지 제조에 사용된 Tryptic Soy Agar(TSA)는 Difco(U.S.A)사의 제품을 사용하였다. 사용된 균주는 한국미생물보존센터에서 식중독균주와 충치균주를, 생물자원센터로부터 구취균주를 분양받아 계대하여 37℃에서 24~48시간 배양하여 활성화시켜 사용하였다(Table 2).

식중독균은 *Escherichia coli*(KCCM 11234), *Salmonella choleraesuis* ssp. *choleraesuis*(KCCM 11806), *Salmonella choleraesuis* ssp. *choleraesuis*(KCCM 40763), *Staphylococcus aureus* ssp. *aureus*(KCCM 12256)를, 충치균은 *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351), *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27607), *Streptococcus mutans*(KCCM 11823)를, 구취균은 *Porphyromonas*

dCollection @ sungshin

gingivalis(KCTC 5352)와 *Prevotella intermedia*(KCTC 3692)를 사용하였다. Incubator의 습도는 항상 95%로 유지하였다.

Table 2. List of Microorganisms and media used for antibacterial activity tests

Sample	Strains		Media used	Temp.(℃)
Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*	KCCM 11234	TSA	37℃
	Salmonella choleraesuis	KCCM 11806		
	Salmonella choleraesuis	KCCM 40763		
	Staphylococcus aureus	KCCM 12256		
Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*	ATCC 27351	TSA	37℃
	Streptococcus sobrinus	ATCC 27607		
	Streptococcus mutans	KCCM 11823		
Black-pigmented gram negative	*Porphyromonas gingivalis*	KCTC 5352	TSA	37℃
	Prevotella intermedia	KCTC 3692		

dCollection @ sungshin

2. 실험 방법

1) 차잎의 일반 성분 분석

채엽 시기별 녹차의 일반 성분은 A.O.A.C 법에 따라 분석하였다. 조단백질은 Semimicro Kjeldha법(Kjeltec 1030 Auto Analyzer, Tecator, Sweden), 조지방은 Soxhlt추출법, 조회분은 직접 회화법(A.O.A.C 1995)으로, 수분 함량은 105℃ 상압가열 건조법으로 측정하였다. 탄수화물의 함량은 100%에서 조단백질, 조지방, 조회분 및 수분 함량을 뺀 값으로 하였다.

2) 찻잎의 주요 성분 분석

채엽 시기별로 채취하여 만든 녹차의 주요 성분의 함량을 분석하였다. 주요 성분으로 카테킨류, 아미노산, 카페인, Vitamin C의 함량을 측정하였다.

(1) 카테킨, 카페인 및 데아닌 정량

카테킨, 카페인 및 데아닌 정량을 위해 가루녹차 1g에 50% ethanol 100 mL를 혼합하고, 30℃에서 120분간 교반 추출 후 여과하여 분석용 시료로 사용하였다. HPLC 분석조건은 Hu 등의 방법(1)을 변형하여 multiwavelength detector (MD-2010 Plus)를 장착한 HPLC system(JASCO Co., Japan)을 이용하여 XTerra RP18 column(3.5 μm, 4.6×150 mm, Waters, Milford, Massachusetts, USA)을 사용하여 분리하였다. 이때 이동상은 0.2% ortho phosphoric acid와 methanol의 농도구배에 의해 40℃에서 유속 1.0 mL/min으로 하여 210 nm에서 검출하였다.

dCollection @ sungshin

Table 3. HPLC analysis conditions of Catechin, Caffeine and Amino acid

Items	Conditions
Instument	MD-2010 Plus (JASCO Co., Japan)
Column	XTerra RP18 column (3.5 μm, 4.6×150 mm)
Buffer solution	0.2% ortho phosphoric acid, methanol
Flow rate	1.0 mL/min
Detector and wavelength	210 nm
Column temp.	40℃

(2) 총아미노산 정량

차의 분석법(2)에 따라 위의 시료 여액에 polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)을 가해 진탕하고, 30 분간 정치 후 여과한 여액 1 mL를 screw-cap tube (15 mm×125 mm)에 가하고 ninhydrin 용액 (ninhydrin 5 g/ethylene glycol monomethyl ether 250 mL와 0.4 M 구연산을 2 N NaOH를 사용해 pH 5.2로 조절한 pH 5.2 구연산 완충용액 250 mL를 혼합한 용액) 0.5 mL와 $SnCl_2$ 용액 ($SnCl_2 \cdot 2H_2O$ 50 mg을 pH 5.2 구연산 완충용액 25 mL에 용해) 0.5 mL를 가해 잘 혼합한 후, 80℃ 항온수조에서 30분간 가온한 후, 신속히 냉각하여 희석액 (isoprophylalcohol : H_2O = 1:1)을 5mL 가해 잘 흔들어준 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 아미노산 함량은 glutamic acid를 사용해 검량선을 작성한 후 환산하였다.

dCollection @ sungshin

(3) 총폴리페놀 정량

총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 변법(3)에 따라 시료 0.1 mL에 증류수 6 mL, Folin-Ciocalteu 시약 0.5 mL를 가하여 혼합하고, 8분 후에 15% Na_2CO_3 2 mL를 가한 후 10 mL로 정용하고, 2시간 방치 후에 765 nm에서 흡광도를 측정하여 gallic acid로 환산하여 정량하였다.

(4) Vitamin C 정량

차의 분석법(2)에 따라 차 분말 1g을 100 mL flask에 취해 2% 메타인산 용액 80 mL를 가해 실온에서 30분간 추출하여 100 mL로 정용 후 여과하고, 0.45 ㎛ membrane filter 후 HPLC를 위한 분석용액으로 사용하였다. HPLC 분석조건은 multiwavelength detector (MD-2010 Plus)를 장착한 HPLC system(JASCO Co., Japan)을 이용하여 XTerra RP18 column(3.5 μm, 4.6×150 mm, Waters, Milford, Massachusetts, USA)을 사용하여 1% meta phosphoric acid의 농도에서 유속 1.0 mL/min으로 하여 30℃에서 242 nm로 검출하였다.

Table 4. HPLC analysis conditions of Vitamin C

Items	Conditions
Instument	MD-2010 Plus (JASCO Co., Japan)
Column	XTerra RP18 column (3.5 μm, 4.6×150 mm)
Buffer solution	1% meta phosphoric acid
Flow rate	1.0 mL/min
Detector and wavelength	242 nm
Column temp.	30℃

dCollection @ sungshin

3) 항균 활성 검색용 추출 및 methanol 추출 분획물의 조제

각 시기별로 채취하여 만든 녹차의 methanol 추출물 조제는 각각 준비한 시료와 methanol을 1 :10 (w/v)의 비율로 혼합하여 실온에서 24시간 동안 2회 반복하여 교반 추출하였다. 추출한 각 액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후, 회전진공 증발기(Rotary evaporator, EYERA, Japan)로 45℃의 수욕상에서 감압 농축하였다.

녹차의 물 추출물의 조제는 준비한 시료와 증류수를 1 :10 (w/v)의 비율로 혼합하여 100℃에서 24시간 동안 2회 반복하여 추출하였다. 추출한 각 액을 여과지(Whatman No. 2)로 여과한 후, 회전진공 증발기(Rotary evaporator, EYERA, Japan)로 90℃의 수욕상에서 감압 농축하였다.

이렇게 추출한 물 추출물과 methanol 추출물은 4℃의 냉장고에 보관하면서 실험하였다.

그리고 methanol 추출물로부터 분획물을 얻기 위하여 극성에 따라 n-hexane, chloroform, ethylacetate, butanol을 Fig. 6과 같이 순차적으로 분획하였다.

먼저 methanol 추출물 10㎖에 10배의 증류수(100㎖)와 n-hexane(100㎖)를 첨가하여 분획하였다. 동일한 방법으로 chloroform, ethylacetate, butanol을 첨가하여 분획하고 최종적으로 water 분획물을 얻었다. 분획물은 4℃의 냉장고에 보관하면서 실험하였다.

dCollection @ sungshin

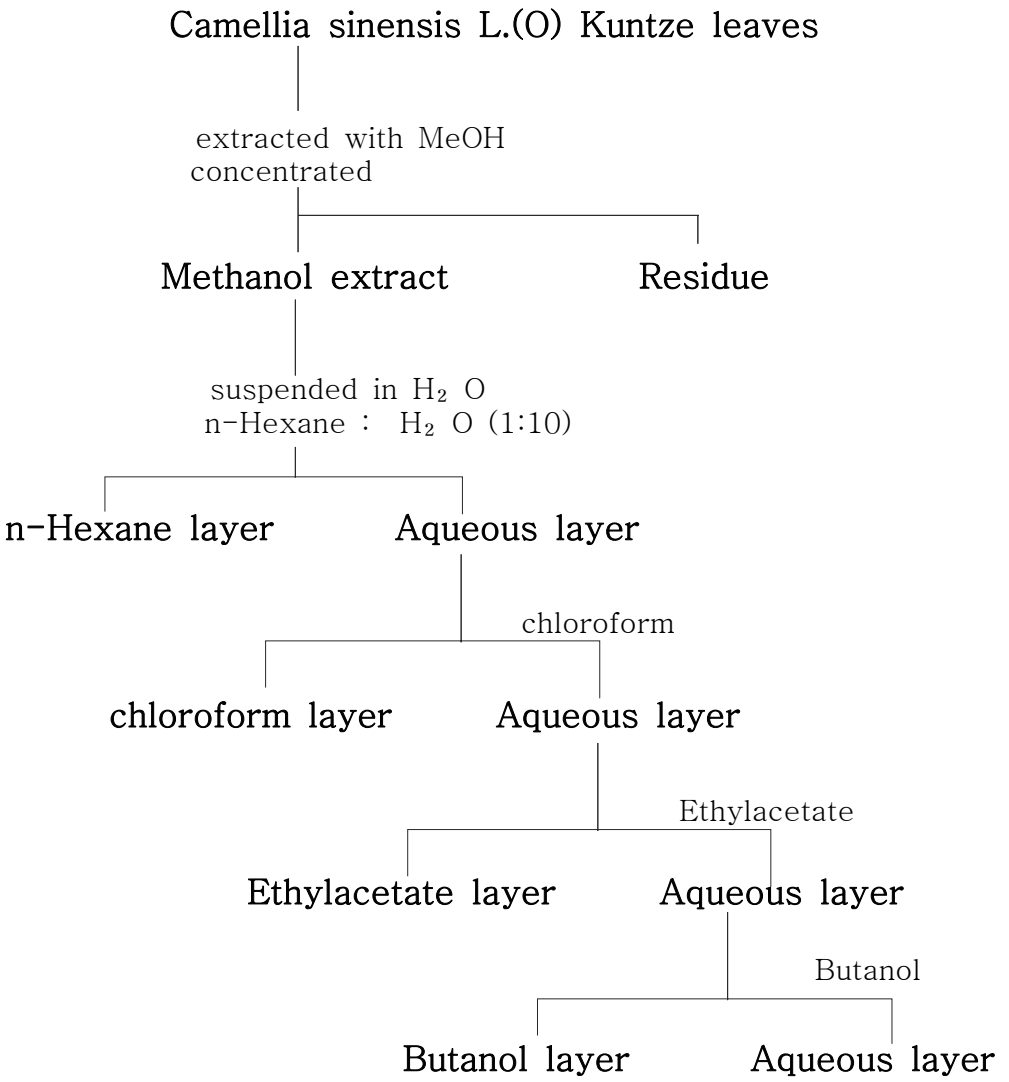


Fig. 6 Scheme of extraction and solvent fractionation of methanol extract from green tea leaves

dCollection @ sungshin

4) 채엽 시기별 각 추출물의 항균력 측정

각 시기별로 채취하여 만든 물과 methanol 추출물 및 분획물의 항균력을 알아보기 위하여 paper disc method를 이용하였다. 먼저 각 균주 1백금이를 취하여 10ml의 broth에 접종하고, 37℃에서 18시간 동안 배양하여 활성화시켰다. 이 활성액 0.1ml를 두께가 4~5mm인 TSA 배지에 도말하고, 멸균된 6mm filter paper disc(Whatman AA Discs)를 1.0mg/disc의 농도로 각 추출물을 흡수시켜 추출 용매를 휘발시키고 난 후, plate 표면 위에 놓아 37℃에서 24시간 동안 배양하였다.

배양 후, disc 주위의 생육저해환(clear zone)의 직경(mm)을 측정하여 항균력을 비교하였다.

5) Methanol 추출물의 분획물별 HPLC 분석

차의 항균 활성에 관여하는 성분(카테킨)을 확인하기 위하여 methanol 추출 분획물별로 HPLC 분석을 하였다.

이를 위해 먼저 methanol 추출물 10㎖에 10배의 증류수(100㎖)와 n-hexane(100㎖)를 첨가하여 분획하였다. 동일한 방법으로 chloroform, ethylacetate, butanol, water 층을 분획하여 각각의 분획추출물을 얻었다.

이를 다시 45℃의 수욕상에서 감압 농축하여 n-hexane 재추출물(분획추출물)을 얻었다. 그리고 분획추출물은 0.45㎛ membrane filter로 제균한 후, Table 5의 조건으로 HPLC 분석을 하였다. (Fig. 7 참조)

dCollection @ sungshin

Table 5. HPLC analysis conditions of solvent fractions of methanol extracts from green tea leaves

Items	Conditions
Instument	HP1100 HPLC system Agilent 6130 single quadrupole Lc/ms (U.S.A)
Column	Zorbax Eclipse Plus C18 (HT 3.0×100 mm, 1.8 micron 600Bar)
Column temp.	30℃
Mobile phase	0.5% formic acid
Flow rate	0.25 mL/min
Dring Gas Flow	11ℓ/min
Dring Gas Temp.	250℃
Nebulizer pressure	45psi

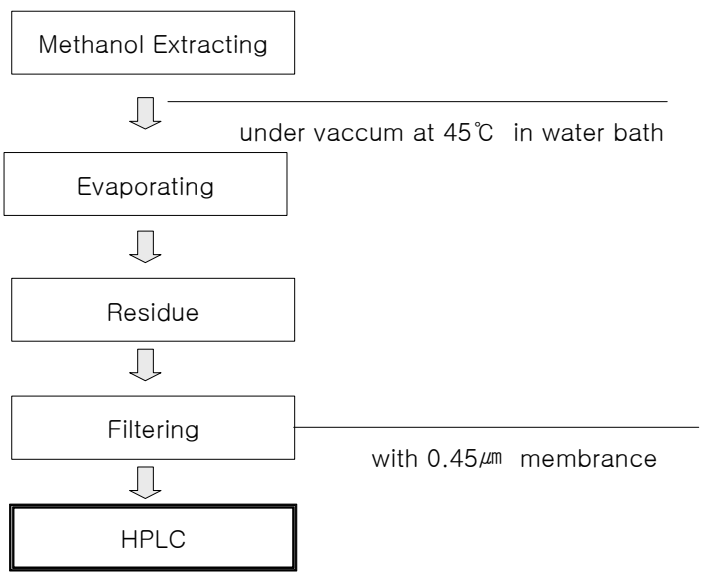


Fig. 7 Schematic diagram of sample preparation of the determination of EC, ECG, EGC and EGCg in green tea

dCollection @ sungshin

6) 열 및 pH 안정성 측정

찻잎의 열 안정성을 측정하기 위해 40, 80, 100, 120℃에서 30분 동안 열처리한 후, 처리 온도별로 찻잎 추출물의 농도가 1mg/disc 가 되도록 paper disc method 로써 항균력 측정법과 동일하게 측정하였다.

pH 안정성은 pH에 따라 용매를 2, 5, 7, 9, 11 로 조정한 후, 시료를 가하였다. 그 후 37℃에서 1시간 동안 방치한 다음, Hcℓ과 NaOH를 이용하여 pH 7로 중화시켜 pH 3~11까지 조절하여 열 안정성과 동일한 방법으로 하여 생육저해환의 지름을 측정 비교하였다. 2회 반복 실험하여 평균값으로 나타냈다.

7) 통계 처리

통계분석은 SAS 9.1(ver.)을 사용하였으며, 분산분석(ANOVA)을 이용하여 분석하였다. 모든 통계적으로 유의미한 차이를 보이는 변수들에 대해 Duncan's Multiple Range Test를 실시하여 검정하였다.

dCollection @ sungshin

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 채엽 시기별 녹차의 일반 성분

채엽 시기별로 만든 녹차의 일반 성분의 함량을 측정한 결과는 Table 6과 같다.

조단백질 함량은 19.8~30로, 제1시기에 30, 제2시기에 28.6, 제3시기에 28.7, 제4시기에 19.8g로 크게 감소하였다가 제5시기에 23.6g으로 나타났다. 이러한 결과에서 제4시기의 큰 감소는 장마로 인한 것으로 생각된다.

Choi 등 (2003)의 보고에서 조단백질의 함량은 37.31g으로 본 연구보다 높게 나타났으나, Park 등(1998)의 23.88~30.5g과는 거의 같은 수준으로 나타났다.

조지방은 제1시기에 0.23, 제2시기에 0.26, 제3, 제4, 제5시기에 0.19g로 나타났다. Whang (2008)의 0.85에 비하면 적은 함량으로 나타났다. Kim (1996)은 차나무의 품종, 계절, 채엽 시기, 기후, 재배 기술 등에 따라 성분이 다양하다고 하였다. 다양한 찻잎의 지방 분석은 건물당 0.8~5.1g로 차이가 있었는데, 이는 찻잎이 성장하면서 당지질이 증가하는데 따른다고 하였다.

탄수화물은 제1시기에 61.77, 제2시기에 62.34, 제3시기에 61.41, 제4시기에 68.11, 제5시기에 66.61g으로 나타났다. 전 시기에 걸쳐 61.77~68.11로, Whang (2008)의 59.81과 식품성분표(2007) 함량인 53.4g보다 많이 함유되어 있음을 보여 주고 있다.

회분은 제1시기, 제2시기, 제3시기는 5.3, 제4시기는 5.8, 제5시기는 5.5%로 나타났다. Jeong (2005)은 5.0~5.21%로, Shin 등(1995)의 4.50~5.17%

dCollection @ sungshin

보다 높은 함량을 나타냈으며, Choi 등 (2003)의 보고에 의한 5.3%와 비슷한 수준이다.

Table 6. Comparison of general compositions in green tea leaves according to harvest periods

Compositions	Sample				
	1[1)]	2	3	4	5
Crude protein (g)	30.00	28.60	28.70	19.80	23.60
Crude fat (g)	0.23	0.26	0.19	0.19	0.19
Carbohydrate (g)	61.77	62.34	61.41	68.11	66.61
Crude ash (%)	5.30	5.30	5.30	5.80	5.50
Moisture (%)	2.70	3.50	4.40	6.10	4.10

[1)] 1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

그러나 Whang (2008)의 6.4보다는 적은 함량이다. 이런 정도의 함량은 채엽 시기에 따라 큰 차이가 없는 것으로 사료된다.

녹차의 수분은 제4시기의 6.1 이외에는 2.7~4.4% 정도로 나타났다. 제4시기의 6.1%는 채엽 시기 전후의 장마로 인한 기후 조건과 함께 본 연구에서는 수제차이기에 나타나는 제다 과정에서의 약간의 미비함으로 인한 결과로 사료된다.

Jeong (2005)은 수분 함량이 5.45~5.96%라고 하여 본 결과보다 높게 나타났으며, Choi 등 (2003)의 보고에 의한 수분 함량은 3.29로 본 결과와 큰 차

dCollection @ sungshin

이는 보이지 않는다.

전체적으로 채엽 시기가 늦어지면서 조단백질과 조지방은 점차 감소하는 경향을 보이고, 회분과 탄수화물은 점차 증가하는 경향을 보인다. 제4시기의 수분의 증가와 조단백질의 감소는 장마로 인한 것으로 생각된다. 이상의 결과를 통하여 채엽 시기에 따른 녹차의 일반 성분 함량의 차이를 확인할 수 있었다.

2. 채엽 시기별 녹차의 주요 성분

1) 카테킨 함량

채엽 시기별 녹차의 카테킨 분석결과는 Table 7과 Fig. 8과 같다. 녹차 카테킨의 주요 성분인 유리형 EC, EGC와 ester형 EGCg, ECg 등 4종류의 카테킨이 대부분을 차지하고 있음을 볼 수 있었다.

녹차의 총카테킨 함량은 제1시기 16.73, 제2시기 17.18, 제3시기 17.58, 제4시기 17.83, 제5시기 18.96g%로 나타났다. 이는 Choi 등 (2003)의 보고에서 총카테킨 함량은 14.18, Park 등 (1997)의 14.57 과 비교하였을 때 높은 함량의 차이를 보이고 있다.

총카테킨 함량은 제1시기(4월 중순)> 제2시기(5월 초순)> 제3시기(5월 하순)> 제4시기(6월 하순)>제5시기(7월 하순)의 순으로 증가하는데, 각 시기별로 유의적 차를 보였다($p<0.001$). 총카테킨 함량은 채엽 시기가 늦어질수록 증가하는 경향을 보였다.

이는 Muramas(1994)와 Kim(1996)이 카테킨은 온도가 상승하고 햇빛이 강할 때 합성이 촉진되어 채엽시기가 늦을수록 함량이 많다고 한 보고와 일치하였다.

dCollection @ sungshin

Table 7. Comparison of catechin contents in green tea leaves according to harvest periods (Mean±S.D)

Composition	Sample (g%)					F-value
	1[1)]	2	3	4	5	
GC	0.14±0.002^{dF}	0.19±0.002^{bF}	0.18±0.002^{cE}	0.23±0.002^{aE}	0.22±0.01^{aD}	210.28**
EGC	1.16±0.02^{dC}	2.05±0.01^{cC}	2.55±0.01^{bC}	2.81±0.09^{aC}	2.40±0.12^{bC}	177.67**
C	0.31±0.002^{aE}	0.21±0.001^{bF}	0.13±0.002^{cE}	0.12±0.0004^{dE}	0.13±0.01^{cD}	1198.07**
EC	0.51±0.01^{cD}	0.80±0.004^{bD}	0.79±0.003^{bD}	0.89±0.04^{aD}	0.75±0.04^{bD}	59.05*
EGCg	10.20±0.05^{A}	9.96±0.03^{A}	10.44±0.21^{A}	10.69±0.28^{A}	11.22±0.57^{A}	5.16
GCg	0.50±0.01^{aD}	0.36±0.001^{cE}	0.31±0.01^{dE}	0.31±0.02^{dE}	0.41±0.03^{bD}	52.79*
ECg	3.91±0.01^{B}	3.62±0.004^{B}	3.17±0.04^{B}	3.29±0.21^{B}	3.83±0.43^{B}	4.55
F-value	68373.2**	137704**	4140.28**	1536.64**	422.19**	
Total Catechins	16.73±0.06	17.18±0.06	17.58±0.27	17.83±0.33	18.96±1.20	4.31

[1)] 1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

GC: gallocatehin EGC: epigallocatehin, EGCg: epigallocatehin gallate, C: catehin

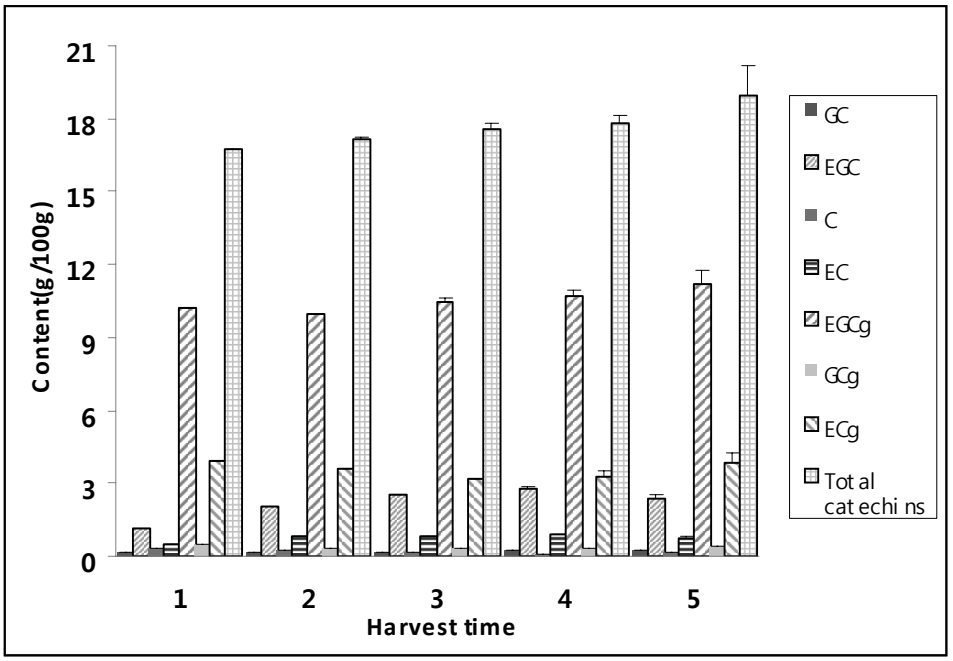
EC: epicatehin GCg: gallocatehin gallate ECg: epicatehin gallate

* p<.001, ** p<.0001

abcd : Means with the same superscripts in a row are significantly different from among the content at p<.001, p<.0001

ABCD : Means with the same superscripts in a column are significantly different from among the content at p<.0001

dCollection @ sungshin



1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

Fig. 8 Comparison of catechin contents in green tea leaves according to harvest periods

주요 카테킨의 조성은 채엽 시기에 관계없이 EGCg> ECg> EGC> EC 의 순으로 함유되어 있었다. 이는 Choi 등 (2003)의 EGCg> ECg> EC> EGC 와 차이를 보였다. 또 Lee (2003)와 Choi 등 (1992)은 EGCg> EGC> ECg> EC의 순이었다. 이상의 카테킨의 종류별 함량 차이를 堀田 (1989)은 동일 품종이라도 재배지나 재배 조건 등에 따라 각각의 함량은 변동한다고 하였다. 또 Lee 등 (2007)은 차의 수확시기와 차를 가공하는 방법의 차이에 따라 다르며, 카테킨 성분 중 항산화능에 영향을 미치는 주요 성분은 EC, ECG, EGCg 로 분석되었다고 하였다.

dCollection @ sungshin

카테킨 종류별 함량은 대체로 EGCg가 54~55%, EGC 20~21%, ECg 17~18%, EC 4~5%, C 1~2% 순이었다(Park JH 등 2008). (Fig. 8 참조)

GC의 경우, 채엽 시기가 늦어짐에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 보였다($p<0.0001$). 제1시기의 경우, GC 함량이 0.14에서 제4시기는 0.23g%로 가장 높았으며, 이후 제5시기는 장마로 다소 낮아진 것으로 사료된다.

EGC의 경우, 제1시기에 1.16에서 제2시기에 2.05, 제3시기에 2.55, 제4시기에 2.81g%, 제5시기에 다소 낮은 2.40으로 나타났다. 제5시기에 낮아진 것은 장마로 인한 것으로 사료된다.

C의 경우, 제1시기에 0.31에서 제2시기 0.21, 제3시기 0.13 제4시기 0.12, 제5시기 0.13g%로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 나타내며 유의적 차를 보였다($p<0.0001$).

EC의 경우, 제1시기에 0.51에서 제2시기 0.80, 제3시기 0.79 제4시기 0.89, 제5시기 0.75g%로 채엽 시기가 늦어질수록 점차 증가하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 보였다($p<0.001$). 제5시기에 낮아진 것은 장마로 인한 것으로 사료된다.

EGCg의 경우, 제1시기에 10.20에서 제2시기 9.96, 제3시기 10.44, 제4시기 10.69, 제5시기 11.22g%로 채엽 시기가 늦어짐에 따라 증가함을 찾아볼 수는 있으나, 통계적으로 유의적 차를 나타내지 못하면서 다양한 변화를 보였다.

GCg의 경우, 제1시기에 0.50에서 제2시기 0.36, 제3시기 0.31 제4시기 0.31, 제5시기 0.41g%로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 나타내었다($p<0.001$). 다른 카테킨들은 제5시기에 장마로 인해 감소하는 경향에 비해 오히려 두드러지게 증가함을 보였다.

ECg의 경우, 제1시기에 3.91, 제2시기에 3.62, 제3시기에 3.17, 제4시기에

dCollection @ sungshin

3.29, 제5시기에 3.83g%로 채엽시기가 늦어지면서 감소하는 경향을 나타내나 통계적으로 유의적 차를 보이는 값은 아니었다. 그러나 GCg와 같이 장마의 영향을 받은 제5시기에 증가하였음을 보였다.

본 연구의 결과, 카테킨 종류별로 살펴보았을 때 채엽 시기가 늦어짐에 따라 증가하는 것은 GC, EGC, EC, EGCg이며, 감소하는 것은 C, GCg, ECg로 나타났다. 또한 차의 채엽 시기에 따른 카테킨 함량의 차이가 분명히 있음을 알 수 있었다.

특히 항산화, 항균 등 생리활성 효과가 뛰어난 EGCg 의 함량이 전체 카테킨의 50% 이상을 차지하고 있었다. 이는 Lin 등 (1996)과 Lee YJ 등 (1998)의 EGCg 의 함량이 가장 높고, 지배적으로 나타났다는 결과와 같았다.

차의 카테킨 중 유리형 EC, EGC보다 강한 쓴맛과 떫은맛을 느끼게 하는 몰식자산 ester인 ECg와 EGCg가 많으면 차맛에 영향을 미친다고 하였다(山西 1981). Lee 등 (2007)의 연구에서도 녹차, 우롱차, 홍차 모든 차에서 EGCg의 함량이 가장 높았으며, 발효될수록 그 양이 감소하는 것으로 나타났다(Peterson 2005).

본 연구에서의 차의 기능성의 주요 성분인 총카테킨 함량이 타 보고에 비해 높은 경향을 나타내는 것으로 보아 실험에 사용된 녹차의 시료가 고급 품질로 사료된다.

dCollection @ sungshin

2) 총폴리페놀 함량

차잎의 채엽 시기에 따른 총폴리페놀 분석 결과는 Table 8과 Fig. 9로 나타났다.

총폴리페놀 함량은 제1시기에 22.71, 제2시기에 23.98, 제3시기에 24.24, 제4시기에 25.28, 제5시기에 26.46g%로 측정되었으며, 채엽 시기가 늦어지면서 총폴리페놀 함량은 증가하였고, 시기별로는 유의적 차를 나타내었다 ($p<0.01$).

즉, 채엽 시기가 늦어질수록 제1시기(4월 중순) < 제2시기(5월 초순) < 제3시기(5월 하순) < 제4시기(6월 하순) < 제5시기(7월 하순)의 순으로 총폴리페놀의 함량이 증가하는 경향을 나타내었다.

녹차의 폴리페놀은 수색, 향기, 맛 등에 영향을 주는 주성분으로 flavanols, flavonols, leucoanthocyanins, phenolic acid 등으로 구분되며, 이중 flavanols은 폴리페놀의 주요 성분으로 75.8%를 차지한다.

녹차의 뛰어난 항산화력은 타 식품에 비해 질병 예방 차원에서 크게 인정을 받으며, 이에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

dCollection @ sungshin

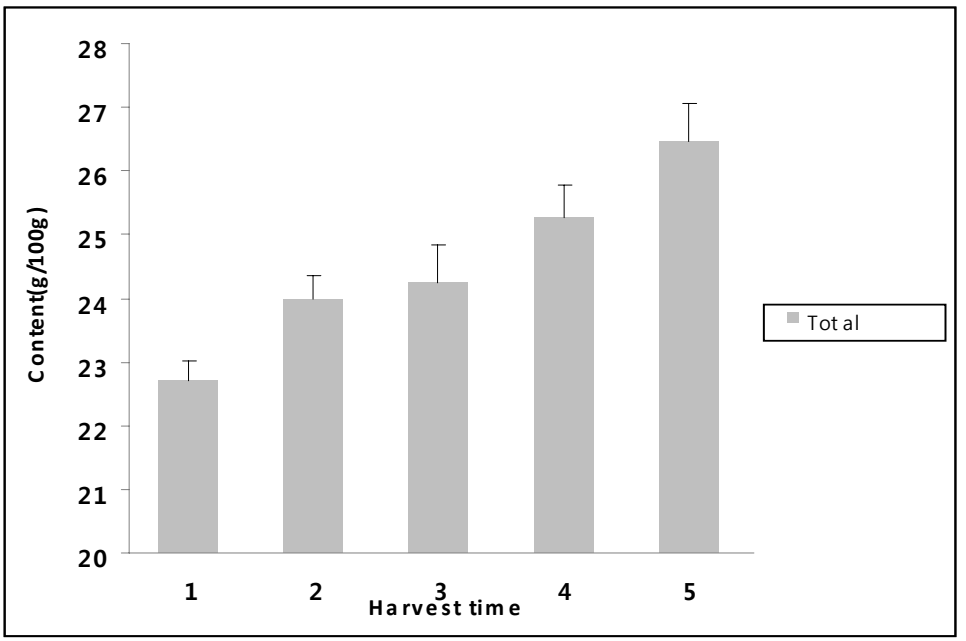
Table 8. Comparison of total polyphenol contents in green tea leaves according to harvest periods (Mean±S.D)

	Sample (g%)					F-value
	1[1)]	2	3	4	5	
Total polyphenol	22.71±0.32[c]	23.98±0.39[bc]	24.24±0.60[b]	25.28±0.51[ab]	26.46±0.61[a]	15.99

[1)] 1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

[*] p<.01

abcd : Means with the same superscripts are significantly different from among the content at p<.01



1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

Fig. 9 Comparison of total polyphenol contents in green tea leaves according to harvest periods

dCollection @ sungshin

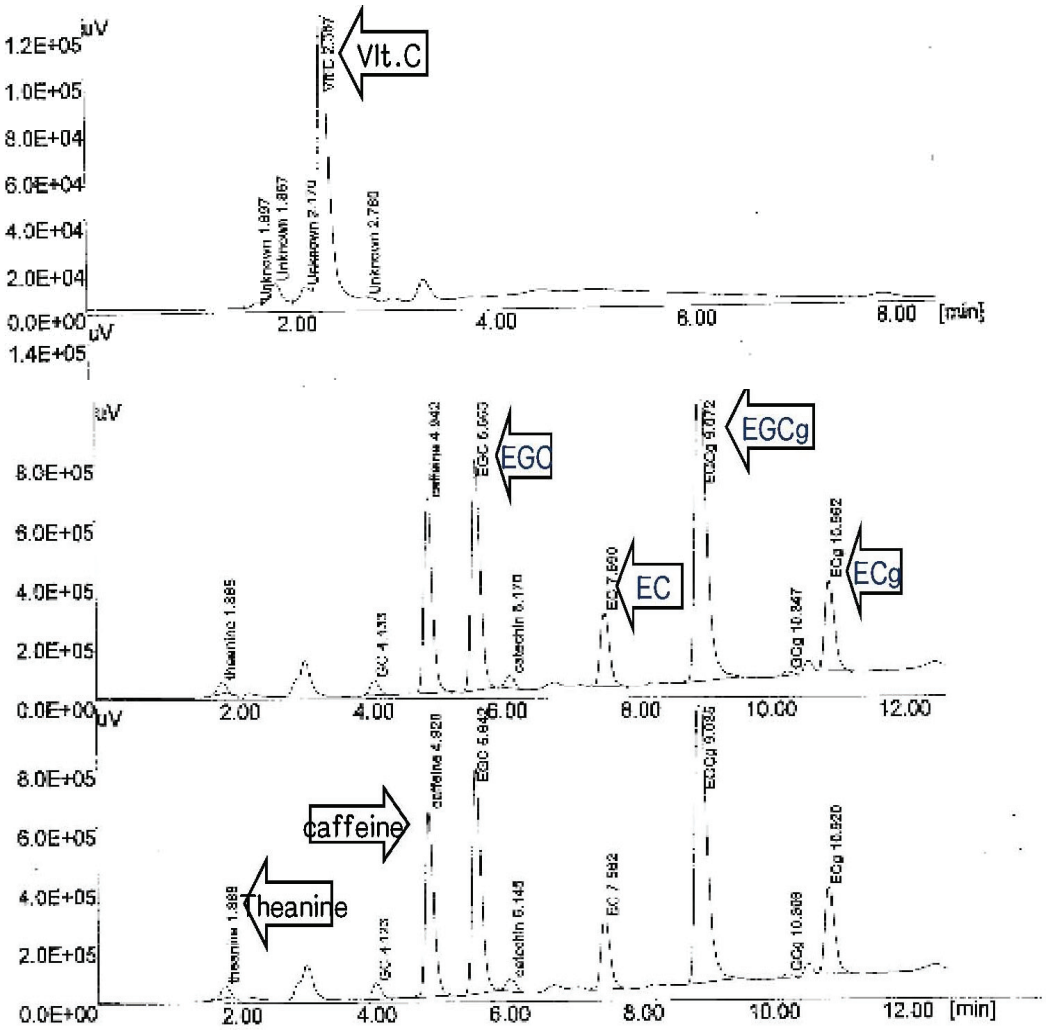


Fig. 10 Chromatogram of standard amino acids and theanine, catechins, caffeines, vitamine

dCollection @ sungshin

3) 카페인 함량

채엽 시기에 따른 카페인 함량 분석결과는, Table 9와 Fig. 11과 같다.

제1시기 2.73, 제2시기 2.48, 제3시기 2.41, 제4시기 2.16, 제5시기 2.15 g%로 나타났으며, 카페인 함량은 채엽 시기가 늦어질수록 유의적($p<0.01$)으로 점차 감소하는 경향을 나타내었다.

이는 Nakagawa 등(1975)이 채엽 시기가 늦을수록 함량이 감소한다고 한 보고와 일치하였다.

Lee (2003)와 Choi 등 (2003)은 카페인 함량이 3.5 전후로 높게 보고하였으나, Kawasakami 등(1987)은 녹차의 카페인 함량을 2.0~4.85g% 정도로 보고되고 있는데, 이러한 카페인 함량의 차이는 질소 비료의 영향을 많이 받는 것으로 알려져 있다(Kawasakami 등 1987).

dCollection @ sungshin

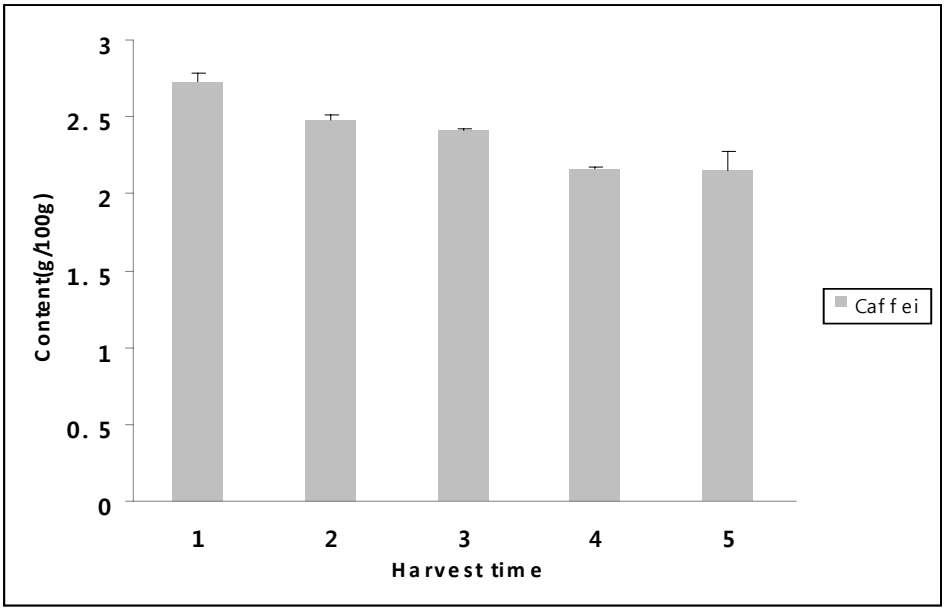
Table 9. Comparison of caffeine contents in green tea leaves according to harvest periods (Mean±S.D)

	Sample (g%)					F-value
	1[1)]	2	3	4	5	
Caffeine	2.73±0.06[a]	2.48±0.03[b]	2.41±0.01[b]	2.16±0.01[c]	2.15±0.13[c]	27.86*

[1)] 1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

* $p<.01$

abcd : Means with the same superscripts are significantly different from among the content at $p<.01$



1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

Fig. 11 Comparison of caffeine contents in green tea leaves according to harvest periods

dCollection @ sungshin

4) 데아닌 및 총아미노산 함량

채엽 시기에 따른 데아닌 함량은 Table 10, Fig. 12와 같다. 데아닌 함량은 제1시기 1.75, 제2시기 1.61, 제3시기 1.56, 제4시기 1.38, 제5시기 1.00g%로 채엽 시기가 늦어지면서 지속적으로 감소하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 나타내었다($p<0.001$). 이는 제1시기(4월 중순) > 제2시기(5월 초순) > 제3시기(5월 하순) > 제4시기(6월 하순) > 제5시기(7월 하순)로 나타낼 수 있다.

데아닌의 함량은 Choi 등 (2003)의 1.21보다 높은 경향을 보이며, Park JH 등(2008)과 Kim 등(2004)의 보고와 유사한 결가를 나타내었다.

또한 총아미노산에서 데아닌이 차지하는 정도는 61.7(제1기 4월 중순), 74.9(제2기 5월 초순), 75.1(제3기 5월 하순), 75.7(제4기 6월 하순), 57.4g%(제5기 7월 하순)로 50% 이상을 차지함을 확인할 수 있었다.

녹차에 함유된 총아미노산 함량은 1.744~2.803g%로, 4월 중순에 가장 많이 함유되어 있었다. 제1시기(4월 중순)> 제2시기(5월 초순)> 제3시기(5월 하순)> 제4시기(6월 하순)> 제5시기(7월 하순)의 순으로, 채엽 시기가 빠를수록 그 함량이 많았다. 이는 Park JH 등(2008)과 Kapahachi 등(1988)의 연구에서 채엽 시기가 늦어질수록 총아미노산의 양이 감소한다는 보고와 일치하였다. 또 Nakagawa 등(1975)은 채엽 시기가 늦어질수록 총아미노산 함량이 10~50%정도 함량이 감소한다는 보고와 유사한 경향을 나타내었다.

또한 Nakagawa 등(1975)의 보고에서 총아미노산의 함량에 따라 등급을 고급 1.66~3.03%, 중급 0.80~1.77%, 저급 0.63~1.01%로 나누었는데, 본 실험의 결과는 1.74g% 이상으로 실험 시료가 고급에 속한다고 볼 수 있다.

Theanine은 차 특유의 감칠맛과 단맛을 가지는 아미노산의 일종으로 차에

dCollection @ sungshin

서 처음 발견이 되었다(Sagesaka, 1949). Glutamic acid와 ethy amine으로부터 형성되는 Theanine은 햇빛이 차단되어 일광 조사량이 감소됨으로써 차잎에 축적되고 햇빛에 쪼일 경우 catechin으로 변하게 된다고 보고되어 있다(山西 1981, 小林 1984, Kim 1996). 수확기가 빠른 첫물차에 비교적 많이 함유되어 있다고 한다(Kim 1996 p.161, 高柳 등 1986). 또 Theanine이 caffeine의 작용을 억제시킨다는 보고가 있다(Sagesaka 1991, 大石 1987).

dCollection @ sungshin

Table 10. Comparison of theanine and total amino acid contents in green tea leaves according to harvest periods

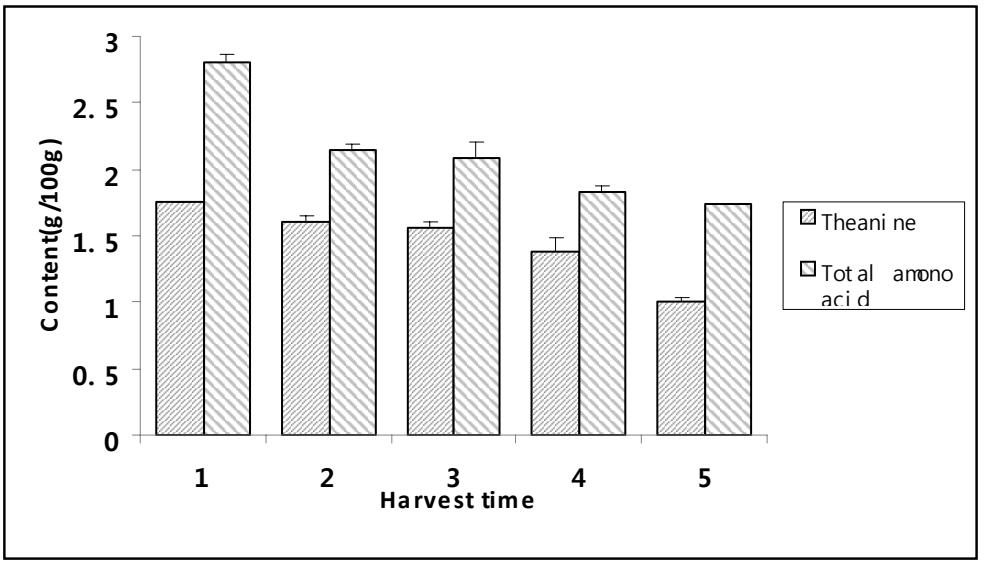
(Mean±S.D)

Composition	Sample (g%)					F-value
	1[1)]	2	3	4	5	
Theanine	1.75±0.0001[a]	1.61±0.04[ab]	1.56±0.05[b]	1.38±0.11[c]	1.00±0.04[d]	47.50*
Total amono acid	2.80±0.07[a]	2.15±0.04[b]	2.08±0.12[b]	1.83±0.04[c]	1.74±0.001[c]	78.61*

1) 1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

* p<.001

abcd : Means with the same superscripts are significantly different from among the content at p<.01



1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

Fig. 12 Comparison of theanine and total amino acid contents in green tea leaves according to harvest periods

dCollection @ sungshin

5) Vitamin C 함량

채엽 시기에 따른 녹차의 Vitamin C 함량은 Table 11, Fig. 13과 같다.

제2시기(5월 초순)에 407.260으로 가장 많이 함유되어 있었으며, 제5시기(7월 하순)에는 165.288mg%로 가장 적게 함유되어 있었다. 제2시기(5월 초순)> 제1시기(4월 중순)> 제3시기(5월 하순)> 제4시기(6월 하순)> 제5시기(7월 하순)의 순으로, 제2시기 이후로는 채엽 시기가 늦어지면서 감소하는 경향을 보였으며, 시기별로 유의적인 차를 나타내었다($p<0.01$).

제1시기가 제2시기보다 적은 것은 제1시기의 찻잎이 아직 미성숙 상태에서 제2시기에 찻잎이 성숙한 상태로 접어들면서 Vitamin C의 함량이 가장 많이 나타난 것으로 사료된다.

본 연구의 결과는 Kapahachi 등(1988)과 Tsushida 등(1980)의 Vitamin C의 함량이 171.5~364.9mg%로 채엽 시기가 늦을수록 함량이 감소한다는 보고와는 약간 다른 결과를 보였다.

또한 Lee YJ 등 (1998)의 101.6 ~ 87.5mg%보다 높으며, 前田 등 (1977)이 90~393 함유되었다는 보고의 범위 내에 모두 포함되었다.

dCollection @ sungshin

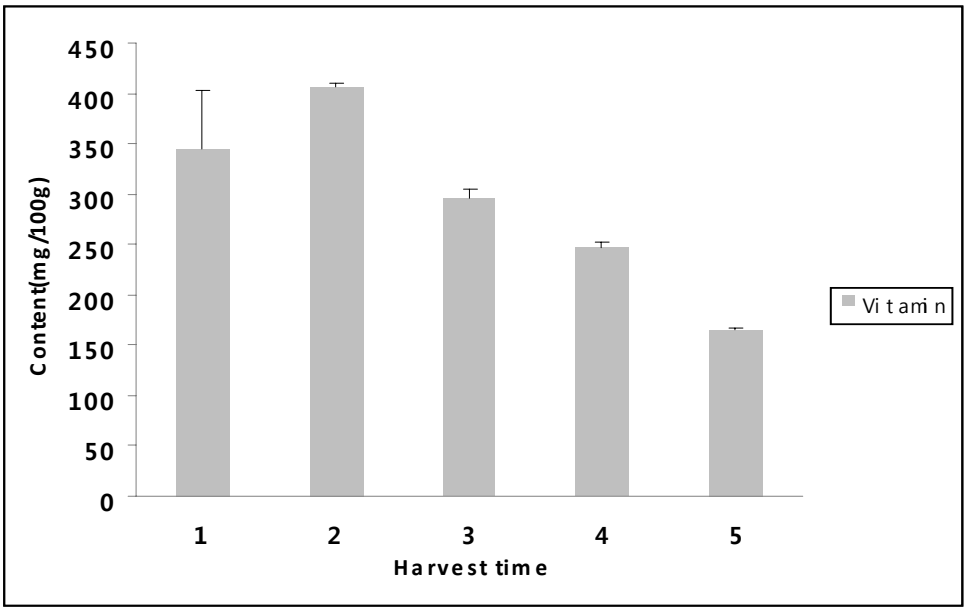
Table 11. Comparison of vitamin C contents in green tea leaves according to harvest periods (Mean±S.D)

	Sample (mg/100 g)					F-value
	1[1)]	2	3	4	5	
Vitamin C	344.43±59.22^{ab}	407.26±2.96^{a}	294.94±10.70^{bc}	245.99±6.14^{c}	165.29±1.28^{d}	23.31*

[1)]1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

* $p<.01$

abcd : Means with the same superscripts are significantly different from among the content at $p<.01$



1: Harvest 18, April 2: Harvest 6, May 3: Harvest 28, May 4: Harvest 22, June 5: Harvest 23, July

Fig. 13 Comparison of vitamin C contents in green tea leaves according to harvest periods

dCollection @ sungshin

2. 채엽 시기별 녹차 추출물의 항균성 검색

1) 항균 검색용 추출물과 용매별 분획물의 수율

각 시기별로 채취하여 만든 녹차 시료를 실온에서 24시간 동안 2회 반복하여 교반 추출한 methanol 추출물과 추출물을 극성에 따른 용매별로 얻은 용매별 분획물의 수율은 Table 12와 같다.

methanol 분획물 이 33.70%, Chloroform 분획물이 12.02%, Ethylacetate 분획물이 1.15%, n-Hexane 분획물이 9.85%, butanol 분획물이 5.65%, Water 분획물이 1.64%이었다. Ethylacetate 분획물과 Water 분획물이 낮은 수율을 보였다. Methanol, Chloroform, n-Hexane, butanol, Water, Ethylacetate 의 순으로 수율이 낮게 나타났다.

Table 12. Yield rations of extraction of green tea by solvents

Solvent	Yield(%, w/w)
Methanol	33.70
n-Hexane	9.85
Chloroform	12.02
Ethylacetate	1.15
Butanol	5.65
Water	1.64

$$\text{Extraction yield (\%)} = \frac{\text{solid in extract gr}}{\text{raw material gr(dry weight)}} \times 100$$

dCollection @ sungshin

2) 채엽 시기별 녹차 추출물의 항균력

각 시기별로 채엽하여 만든 녹차의 물 추출물과 메탄올 추출물에 따른 항균 활성을 측정한 결과는 Table 13, 14와 같다. 항균성 검색에 사용된 총 9가지 균주에 대해 물과 메탄올 추출물에 대해 모두 항균 활성을 보였다.

물 추출물에서는 *Salmonella choleraesuis* (KCCM 118016)가 고른 항균 활성으로 생육저해환의 크기가 유의적 차를 나타내었다($p<0.01$). 특히 *Salmonella choleraesuis* (KCCM 40763)는 제3시기 생육저해환의 크기가 17.95로 유의적 차를 나타내었다($p<0.05$).

메탄올 추출물에서는 *Escherichia coli*와 *Salmonella choleraesuis* (KCCM 11806, KCCM 40763), *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia* 가 유의적($p<0.05$) 차를 보이며, *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351) 또한 각 채엽 시기별로 유의적 차를 나타내었다($p<0.01$).

메탄올 추출물에서 *Escherichia coli* 는 제1, 제2시기에 생육저해환의 크기가 17.92, 17.96로 유의적 차를 보이고 있다($p<0.05$). *Salmonella choleraesuis* (KCCM 11806)은 14.83, *Streptococcus sobrinus* 는 생육저해환의 크기가 20.13로 항균 활성이 가장 유의적으로 높게 나타났다($p<0.01$). *Streptococcus mutans*는 21.47로 생육저해환의 크기가 유의적 차를 보이며($p<0.05$), 큰 활성을 보이고 있다. *Porphyromonas gingivalis*는 16.50 등의 크기로 유의적 차를 보이며($p<0.05$), 큰 활성을 보이고 있다. *Prevotella intermedia*는 21.11의 크기로 유의적 차를 보이며($p<0.05$), 큰 활성을 보이고 있다. 지금까지의 차의 항균성 연구는 대부분이 식중독균을 가지고 한 실험으로, 이 가운데 *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*가 강한 항균 활성을 보이거나(Choi OJ *et al* 2005), *Escherichia coli*가 강한 항균성을 보이는 것

dCollection @ sungshin

을 확인할 수 있었다(Cho SY *et al* 2005).

녹차 추출물의 공시균주에 대한 항균작용은 연구에 따라 차이가 있으나, Kim (1995)은 *Escherichia coli*는 낮은 항균 작용을 나타내거나 거의 억제효과를 얻을 수가 없었으며, *Streptococcus mutans* 등은 높은 항균 작용을 나타내었다. 用村 등(1989), 小野(1992) 와 角田 등(1994) 에 의하면, 차 카테킨이 *Streptococcus mutans* 에 대해 강한 항균 작용을 함으로써 충치를 억제하거나 예방할 수 있다고 하였다.

본 연구에서도 메탄올 추출물을 이용한 충치균인 *Streptococcus mutans* (No 11823)와 *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351)가 $p<0.01$의 유의적 차로 항균 활성이 가장 높은 것으로 나타났다. 또 Park(1998)은 녹차 물추출물이 *Staphylococcus aureus* 에 대하여 강한 항균 활성을 나타내며, 그 증식 억제 효과는 첨가한 녹차 물추출물의 농도에 비례한다고 하였다. 이때 *Escherichia coli* 에 대한 항균 활성은 낮은 편으로 나타났다. 이는 본 연구의 결과와 같은 경향을 보였다.

본 연구에서는 차의 항충치 효과와 항구취 효과를 상세히 탐색해보고자 하였던 바, 충치균과 구취균에 대한 항균 활성이 메탄올 추출물의 경우, 식중독균보다 강한 것을 확인할 수 있었다.

또한 채엽 시기별로 살펴본 항균 활성은 제4시기(6월 하순)의 물 추출물은 구취균(*Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia)* 에 대해, 메탄올 추출물에 있어서는 식중독균(*Escherichia coli* 등)에 대해 유의적($p<0.05$)으로 높게 나타났다. 그러나 제3시기의 물 추출물의 생육저해환이 각종 균에 대해 크기가 유의적이지는 못하지만 평균적으로 크게 나타난 것을 볼 수 있다.

이렇듯 항균 활성이 높게 나타나는 원인은 녹차의 기능성을 결정하는 주요

dCollection @ sungshin

성분에서 찾아볼 수 있다. 이를 카테킨의 종류별 함량을 통해 살펴보면 EGCg의 경우, 전체 시기에서 높은 함량을 보이고 있지만 특히, EC와 EGC, GC 의 경우, 6월 하순경이 가장 높게 나타난 것을 볼 수 있다. 이것을 보면 EC, ECG, EGCg 등이 항산화능에 영향을 미치는 중요성분으로 알려져 있듯이 메탄올 추출물에 대한 항균 활성에 있어서도 강한 반응을 나타내며, 항균 활성에 영향을 끼치는 등 이들 간에 역학적인 관계가 있지 않나 사료된다.

또한 항균 활성이 높은 시기가 총카테킨 성분이 가장 많은 제5시기(7월 하순)가 아닌 것을 살펴볼 때, 항균성이 카테킨 함량의 다소에 의한 것만은 아닌 것으로 앞으로 연구해 볼 과제이다.

이는 Suganuma (1999) 의 EGCg 등의 세포에 대한 아포토시스 유도작용이 EC에 의하여 공동적으로 증폭하는 것으로 보고된 연구에서도 알 수 있다. 이 EC의 효과는 EGCg 가 세포로 들어가는 것을 촉진하는 것으로 생각되고 있다(Jeong 2005). 즉 항균 활성을 위한 작용에 카테킨 종류별에 따른 성분들의 작용이 복합적으로 관련하는 것으로 생각된다.

Ikigai 등(1993)은 카테킨이 직접 세포의 지질 이중막을 파괴시킴으로써 외부물질의 유입을 통제하는 세포의 기능이 상실되어 세포가 사멸한다고 하였다. 또한 카테킨 주에서 gallate가 결합된 (-) -ECg -EGCg가 강한 항균작용을 한다고 하였고, 카테킨 분자 중 B-ring의 3′, 4′의 위치에 3개의 OH기가 존재하는 것에서 강한 항균력을 나타낸다고 하였다(Hara 등 1989, Sakanaka 등 1989).

위의 결과를 보면, 차의 항균성 물질이 충치와 구취에 영향을 주는 *Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Prevotella intermedia*의 항균 활성이 높게 나타난 것으로 보아 차의 음용을 생활화한다면 충치와 구취 예방에 효과가 있을 것으로 보인다. 또한 EGCg 를 단독으로 섭취하는 것보다 catechin 혼합물 혹은 녹차로 섭취하는 것이 유용할 것으로 판단된다.

dCollection @ sungshin

Collection @ sungshin

Table 13. Antibacterial activities of water and methanol extracts from green tea on several microorganisms

(Mean±S.D)

Extracts	Strains		Clear Zone on plate(mm) mg/disc					F-value
			1[1)]	2	3	4	5	
Water	Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	16.56±1.53	13.69±0.04	17.25±0.30	15.43±1.61	14.50±0.49	4.04
		Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	16.21±0.61^{b}	14.34±0.30^{c}	16.82±0.32^{b}	18.34±0.86^{a}	16.64±0.42^{b}	13.9**
		Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	17.24±0.21^{ab}	13.13±0.76^{c}	17.95±0.88^{a}	16.71±1.00^{ab}	14.94±1.62^{bc}	7.58*
		Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	14.83±0.71	13.18±0.24	14.83±2.10	13.75±1.05	13.55±1.73	0.64
	Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	16.75±1.05	12.60±0.28	16.31±3.63	13.99±1.42	15.36±2.06	1.42
		Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	16.67±0.95	13.74±0.18	18.99±2.21	16.15±1.17	15.78±2.16	3.00
		Streptococcus mutans(KCCM 11823)	14.58±2.30	12.86±0.37	17.64±1.34	14.86±1.35	14.91±0.29	3.22
	Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	14.39±1.67	13.17±0.52	14.33±0.15	16.66±0.37	14.22±2.78	1.50
		Prevotella intermedia(KCTC 3692)	15.81±0.70	12.98±0.18	16.29±4.07	15.35±0.13	14.27±3.05	0.67
Methanol	Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	17.92±0.08^{ab}	17.96±1.32^{ab}	13.90±2.18^{c}	20.99±0.54^{a}	16.64±0.57^{bc}	9.24*
		Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	14.83±1.94^{a}	15.86±1.46^{a}	8.88±0.04^{b}	16.68±0.08^{a}	16.22±2.60^{a}	8.16*
		Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	12.87±2.14	15.24±2.98	9.63±1.27	17.21±0.46	14.45±2.77	3.52
		Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	12.52±2.91	14.70±6.02	12.59±0.86	17.35±1.56	13.46±2.02	0.77
	Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	17.90±0.53^{b}	17.50±1.71^{b}	14.17±0.14^{c}	20.13±0.23^{a}	14.50±0.28^{c}	18.54**
		Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	17.77±2.51	16.94±0.61	13.95±0.49	19.41±2.08	17.88±0.03	3.63
		Streptococcus mutans(KCCM 11823)	18.72±1.73^{ab}	18.21±0.32^{ab}	14.76±2.52^{b}	21.47±0.54^{a}	16.40±1.35^{b}	5.55*
	Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	16.50±0.21^{a}	16.33±0.49^{a}	12.74±1.38^{b}	17.43±0.07^{a}	16.75±2.09^{a}	5.19*
		Prevotella intermedia(KCTC 3692)	17.87±0.22^{b}	17.60±0.93^{b}	14.11±0.12^{c}	21.11±1.40^{a}	17.59±2.05^{b}	8.68*

[1)] 1: , 2: , 3: , 4: , 5:

* $p<.05$, ** $p<.01$

abcd : Means with the same superscripts are significantly different from among the content at $p<.05$, $p<.01$

dCollection @ sungshin

Table 14. Antibacterial activities of water and methanol extracts from green tea on several microorganisms.

(Mean±S.D)

Extracts	Strains		Clear Zone on plate(mm) mg/disc					F-value
			1[1)]	2	3	4	5	
Water	Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	16.56±1.53	13.69±0.04	17.25±0.30	15.43±1.61	14.50±0.49	4.04
		Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	16.21±0.61^{b}	14.34±0.30^{c}	16.82±0.32^{b}	18.34±0.86^{a}	16.64±0.42^{b}	13.9**
		Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	17.24±0.21^{ab}	13.13±0.76^{c}	17.95±0.88^{a}	16.71±1.00^{ab}	14.94±1.62^{bc}	7.58*
		Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	14.83±0.71	13.18±0.24	14.83±2.10	13.75±1.05	13.55±1.73	0.64
		F-value	2.54	3.47	2.68	5.59	2.22	
	Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	16.75±1.05	12.60±0.28	16.31±3.63	13.99±1.42	15.36±2.06	1.42
		Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	16.67±0.95	13.74±0.18	18.99±2.21	16.15±1.17	15.78±2.16	3.00
		Streptococcus mutans(KCCM 11823)	14.58±2.30	12.86±0.37	17.64±1.34	14.86±1.35	14.91±0.29	3.22
		F-value	1.24	8.45	0.54	1.36	0.13	
	Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	14.39±1.67	13.17±0.52	14.33±0.15	16.66±0.37	14.22±2.78	1.5
		Prevotella intermedia(KCTC 3692)	15.81±0.70	12.98±0.18	16.29±4.07	15.35±0.13	14.27±3.05	0.67
		T-value	-1.11	0.49	-0.68	4.75*	-0.02	
Methanol	Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	17.92±0.08^{ab}	17.96±1.32^{ab}	13.90±2.18^{c}	20.99±0.54^{aA}	16.64±0.57^{bc}	9.24*
		Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	14.83±1.94^{a}	15.86±1.46^{a}	8.88±0.04^{b}	16.68±0.08^{aB}	16.22±2.60^{a}	8.16*
		Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	12.87±2.14	15.24±2.98	9.63±1.27	17.21±0.46^{B}	14.45±2.77	3.52
		Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	12.52±2.91	14.70±6.02	12.59±0.86	17.35±1.56^{B}	13.46±2.02	0.77
		F-value	2.92	0.33	6.44	10.61*	0.95	
	Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	17.90±0.53^{b}	17.50±1.71^{b}	14.17±0.14^{c}	20.13±0.23^{a}	14.50±0.28^{c}	18.54**
		Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	17.77±2.51	16.94±0.61	13.95±0.49	19.41±2.08	17.88±0.03	3.63
		Streptococcus mutans(KCCM 11823)	18.72±1.73^{ab}	18.21±0.32^{ab}	14.76±2.52^{b}	21.47±0.54^{a}	16.40±1.35^{b}	5.55*
		F-value	0.17	0.71	0.16	1.41	9.04	
	Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	16.50±0.21^{a}	16.33±0.49^{a}	12.74±1.38^{b}	17.43±0.07^{a}	16.75±2.09^{a}	5.19*
		Prevotella intermedia(KCTC 3692)	17.87±0.22^{b}	17.60±0.93^{b}	14.11±0.12^{c}	21.11±1.40^{a}	17.59±2.05^{b}	8.68*
		T-value	-6.33*	-1.7	-1.4	-3.71	-0.41	

[1)] 1: , 2: , 3: , 4: , 5: * p<.05, ** p<.01

abcd : Means with the same superscripts in a row are significantly different from among the content at p<.05, p<.01

ABCD : Means with the same superscripts in a column are significantly different from among the content at p<.05

3) 용매별 분획물의 Clear zone(생육 저해환) 측정

채엽 시기별 항균 활성을 측정한 결과, 물 추출물의 생육저해환이 실험 균주에 대해 평균적으로 크게 나타난 시기인 제3시기(5월 하순)의 시료를 선택하였고 이 시료를 메탄올 추출 후 분획하였다. 이것은 차를 물에 우려서 음용하는 것에 주안점을 두고, 물 추출물의 항균 활성 결과 중 가장 크게 나타난 시기를 선택한 것이다.

그리고 이 제3시기의 시료를 다시 메탄올 추출하여 생육 저해환을 측정하였다(Table 15 참조). 그 크기는 8.83~14.76mm 까지로 항균 활성이 크게 나타났다.

첫 번째로 분획하는 용매는 n- hexane 으로 이것은 대체로 추출물 속의 클로로필을 분리하는 것이다. 그리고 Chloroform, Ethylacetate, butanol을 이용하여 순서대로 분획하여 최종에는 water 분획물을 얻게 된다.

이렇게 하여 녹차의 메탄올 추출물의 각 용매별 분획물을 얻은 후, disc plate method 에 따라 생육 저해환을 측정하여 각 균주에 대한 항균 활성 억제 효과를 검색하였다. 그 결과는 Table 16, 17과 같다.

항균 활성 억제 효과를 살펴본 결과, 메탄올 추출물의 분획물 중에서 Ethylacetate 분획물의 생육저해환이 실험 균주 전부에 대해 강한 항균 효과를 나타내었다.

그 다음으로 n- hexane 분획물에서 항균 효과를 나타내었으며, Butanol 분획물에서는 약간의 항균 활성 반응을 보였다. 그리고 Chloroform 분획물과 water 분획물에서는 항균 효과가 나타나지 않았다.

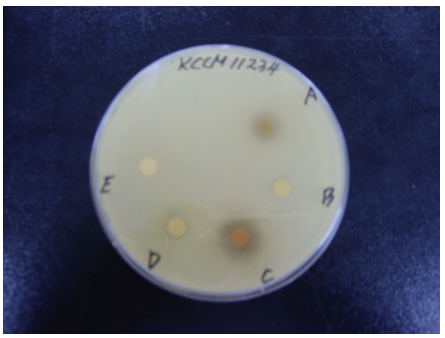
Ethylacetate 분획물에서 생육저해환의 크기는 *Escherichia coli* 에서 12.67±0.23mm에서 *Streptococcus sobrinus* 13.73±0.33mm으로 유의적으로 나타났다($p<0.001$). 이는 Ethylacetate에서 분획 추출된 성분이 카테킨으로 항균 활성이 높게 나타난 것으로 사료된다.

그 다음으로 n-Hexane 분획물에 대해서도 항균 활성을 나타내었다.

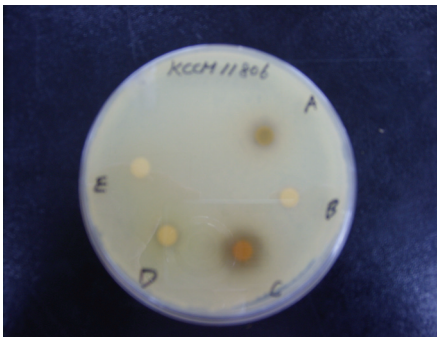
dCollection @ sungshin

Staphylococcus aureus 가 8.19mm에서 *Porphyromonas gingivalis* 가 9.46mm까지 유의적으로 나타났다($p<0.01\sim0.0001$).

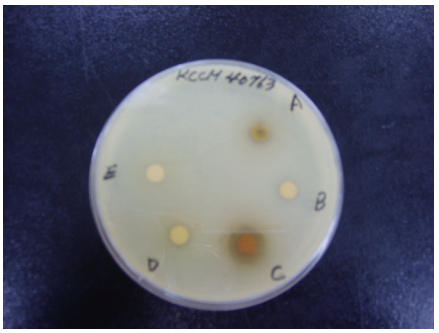
Butanol 분획물에서는 약간의 항균 효과가 나타났다. *Streptococcus mutans* 가 7.79mm에서 *Salmonella choleraesuis* 가 8.76mm로 유의적으로 나타났다($p<0.01$). 그리고 chloroform 분획물과 water 분획물에 있어서는 항균 효과가 나타나지 않았다.



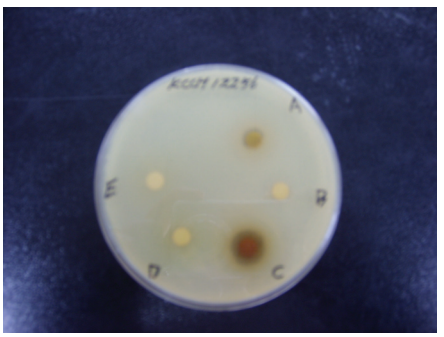
1



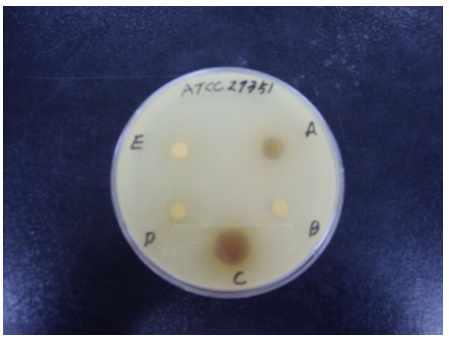
2



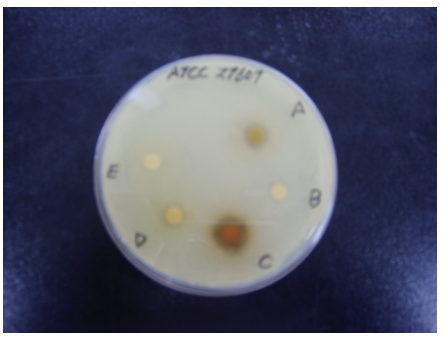
3



4

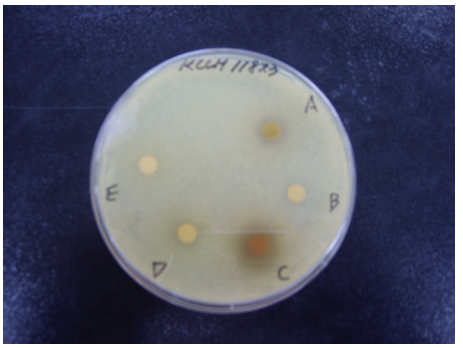


5

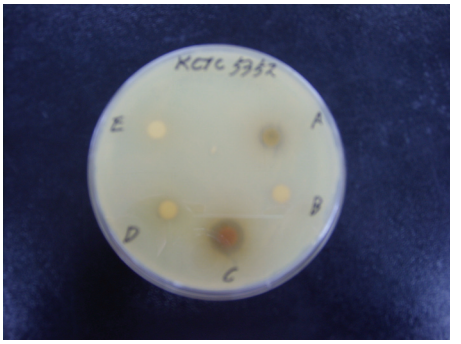


6

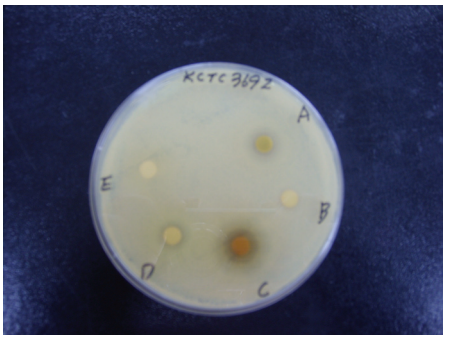
dCollection @ sungshin



7



8



9

Fig. 14 Antibacterial activity of the methanol extract and the solvent fraction of green tea (A: n-hexane, B: chloroform, C: ethylacetate, D: butanol, E: water) : 1. *Escherichia coli* (KCCM 11234) 2. *Salmonella choleraesuis* ssp. *choleraesuis* (KCCM 11806) 3. *Salmonella choleraesuis* ssp. *choleraesuis* (KCCM 40763) 4. *Staphylococcus aureus* ssp. *aureus* (KCCM 12256) 5. *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351) 6. *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607) 7. *Streptococcus mutans* (KCCM 11823) 8. *Porphyromonas gingivalis* (KCTC 5352) 9. *Prevotella intermedia* (KCTC 3692)

dCollection @ sungshin

Table 15. Antibacterial activity of methanol extracts from green tea on several microorganisms

Strains	Clear Zone diameter	Clear Zone on plate (mm)
Escherichia coli	+++	13.90
Salmonella choleraesuis	+	8.83
Salmonella choleraesuis	++	9.63
Staphylococcus aureus	+++	12.59
Streptococcus sobrinus	+++	14.17
Streptococcus sobrinus	+++	13.95
Streptococcus mutans	+++	14.76
Porphyromonas gingivalis	+++	12.74
Prevotella intermedia	+++	14.11

- : No inhibition (6mm) + : Very slight inhibition (6~9mm)

++ : Moderate inhibition (9~12mm) +++: Heavy inhibition (12mm이상)

Table 16. Antibacterial activity of solvent fractions of methanol extracts from green tea on several microorganisms

Strains	Clear Zone on plate (mm)				
	n-Hexane	Chloro-form	Ethyl-acetate	Butanol	Water
Escherichia coli	9.16	-	12.67	8.16	-
Salmonella choleraesuis	9.11	-	12.51	8.76	-
Salmonella choleraesuis	8.38	-	13.25	8.07	-
Staphylococcus aureus	8.19	-	12.66	7.81	-
Streptococcus sobrinus	8.67	-	13.64	7.83	-
Streptococcus sobrinus	8.90	-	13.73	8.12	-
Streptococcus mutans	9.36	-	13.10	7.79	-
Porphyromonas gingivalis	9.46	-	13.14	8.60	-
Prevotella intermedia	9.22	-	12.97	8.47	-

dCollection @ sungshin

Table 17. Antibacterial activity of solvent fractions of methanol extracts from green tea on several microorganisms

Strains	Clear Zone on plate (mm)				
	n-Hexane	Chloro-form	Ethyl-acetate	Butanol	Water
Escherichia coli	++	-	+++	+	-
Salmonella choleraesuis	++	-	+++	+	-
Salmonella choleraesuis	+	-	+++	+	-
Staphylococcus aureus	+	-	+++	+	-
Streptococcus sobrinus	+	-	+++	+	-
Streptococcus sobrinus	+	-	+++	+	-
Streptococcus mutans	++	-	+++	+	-
Porphyromonas gingivalis	++	-	+++	+	-
Prevotella intermedia	++	-	+++	+	-

- : No inhibition (6mm) + : Very slight inhibition (6~9mm)
++ : Moderate inhibition (9~12mm) +++: Heavy inhibition (12mm 이상)

4) Methanol 추출물의 각 분획물별 HPLC 분석

극성용매를 이용하는 분획법은 메탄올 추출물 속의 각 성분을 용매를 이용하여 제각기 분리시켜 얻어내는 것이다.

메탄올 추출물의 분획물에 대한 Clear zone(생육 저해환) 실험을 통하여 각 분획물 중 특히 Ethylacetate 분획물와 n- hexane 분획물 그리고 butanol 분획물에서의 항균 효과를 볼 수 있었다. 이에 그 항균 작용을 하는 성분을 확인하기 위하여 메탄올 추출물을 각 분획물별로 HPLC 분석을 하였다. 그 결과는 Fig. 15와 같다.

dCollection @ sungshin

첫 번째로 분획하는 용매는 n- hexane 으로 이것은 추출물 속의 클로로필을 분리하는 과정이다. 그러나 본 연구에서 n- hexane 분획물의 분석결과, EGCg, ECG, EGC, EC가 함께 검출되었다. 이로써 n- hexane 분획물의 disc plate method를 이용한 Clear zone(생육 저해환) 실험에서 실험 균주 9종에 대하여 8.38~9.46의 크기의 항균 효과를 나타내었는데, 이것은 분획물 속의 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC에 의한 것으로 HPLC 분석에서 확인되었다.

Choi OJ 등 (2005)과 Choi 등(2005)의 n- hexane 분획물은 항균 활성을 보이지 않았다. 본 연구와 다른 결과로, 이는 3회의 분획 과정에서도 제대로 분획이 되지 않아 n- hexane에 카테킨이 소량이지만 용해된 것으로 사료된다.

그 다음 Chloroform 분획물의 HPLC 분석에서는 카페인이 검출되었다. Chloroform 분획물의 disc plate method를 이용한 Clear zone(생육 저해환) 실험에서 생육 저해환이 형성되지 않음을 통하여 Chloroform 분획물 속의 카페인이 항균 효과를 갖지 못함을 알 수 있었다.

그리고 Ethylacetate 분획물의 HPLC 분석 결과, 카테킨 중 EGCg가 가장 많이 검출되었으며, ECG> EGC> EC의 순으로 검출되었다. Ethylacetate 분획물 속에 카테킨이 다량 존재함을 확인하였다.

또한 Ethylacetate 분획물의 disc plate method를 이용한 Clear zone(생육 저해환) 실험에서 실험 균주 9종 모두에 대하여 12.51~13.73mm 크기의 항균 효과를 나타낸 것이 분획물 속의 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC에 의한 것임을 확인하였다.

그리고 butanol 분획물의 HPLC 분석에서 적은 양의 EGCg와 EGC, EC가 검출되었다. 이로써 butanol 분획물의 disc plate method를 이용한 Clear

dCollection @ sungshin

zone(생육 저해환) 실험에서 7.79~8.76 크기의 저해환이 형성된 이유가 EGCg와 EGC, EC 때문이라는 것을 확인하였다.

그리고 최종 산물인 water 분획물의 HPLC 분석에서는 특별한 성분이 검출되지 않았다. water 분획물이 생육 저해환을 형성하지 않음은 카테킨과 같이 항균 작용을 하는 성분이 없기 때문이 아닌가 사료된다.

Choi 등(2005)은 본 연구 결과와는 달리 물 분획물에서 생육 억제효과가 가장 크게 나타났다고 하였다.

현재까지 보고된 연구에 따르면, 차의 항균 검색을 위한 추출물의 분핵은 주로 에탄올 분획을 해왔다. Choi OJ 등 (2005)의 에탄올 분획의 결과에서 n-Hexane 분획물에 대해서 항균 활성을 보이지 않았다.

Lee 등 (2001)이 보고한 오미자추출물 연구에서 에틸아세테이트 분획물의 항균활성이 가장 높게 나타났으며, 헥산과 물 분획물에서는 항균력이 나타나지 않았다. 또 Choi 등(2005)의 차의 에탄올 추출물을 분획한 결과, 물 분획물에서 생육억제효과가 가장 크게 나타났고, 그 다음으로 에틸아세테이트 분획물, 에테르 분획물의 순으로 항균활성이 나타났으며, 헥산 분획물에서는 항균 활성을 보이지 않았다. 그리고 발효가 많이 진행된 차일수록 생육저해환의 크기가 적었다고 보고하였다.

본 연구 결과와 앞선 연구를 비교분석해 보면, 이전 에탄올 추출 연구에서와 같이 메탄올 추출물에서도 차에 함유된 항균성 물질이 특정 용매에만 용해되지 않고 다른 용매에도 용해되는 것으로 보아 한 가지 성분이라기보다는 여러 성분이 서로 복합적으로 항균 작용을 하는 것으로 추정된다.

이상의 메탄올 추출물의 용매별 분획물을 HPLC 분석을 한 결과, 차의 주요 성분 중 항균 효과를 갖는 것이 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC 임을 다시 확인할 수 있었다.

dCollection @ sungshin

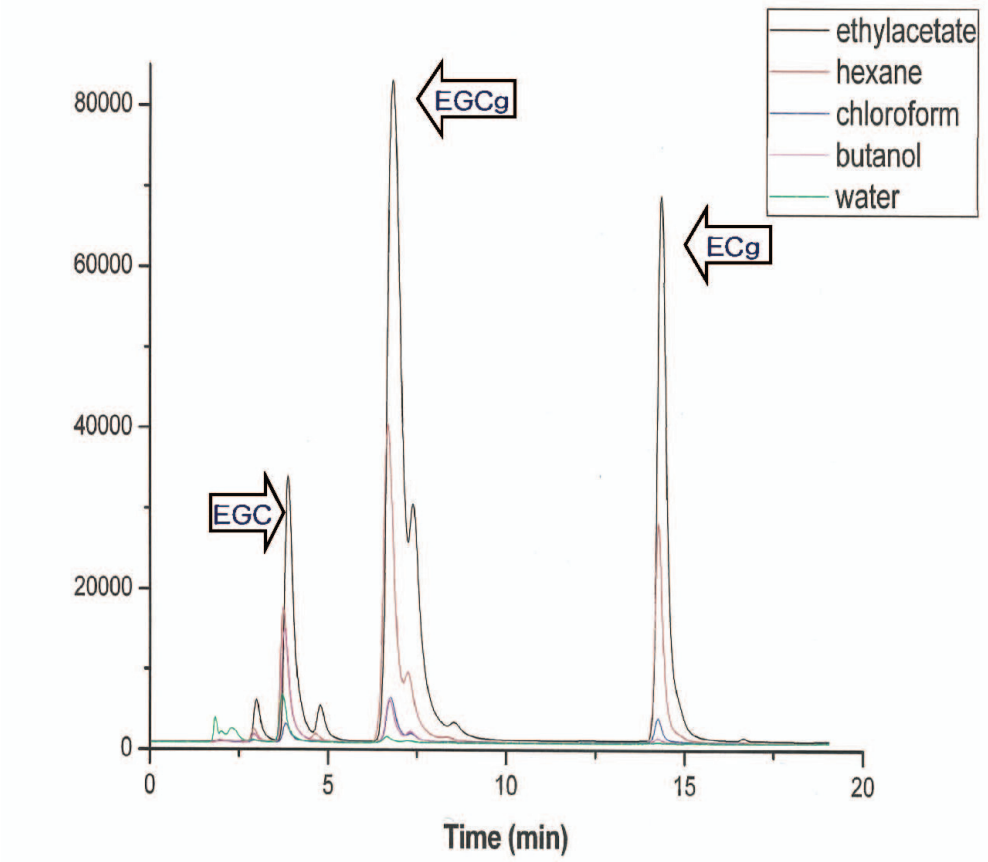


Fig. 15 HPLC Chromatogram of Catechins extracted from green tea

dCollection @ sungshin

Collection @ sungshin

Table 18. Antibacterial activity of solvent fraction of methanol extracts on green tea

Sample	Strains	Clear zone plate (mm)					F-value
		n- hexane	Chloroform	Ethylacetate	butanol	water	
Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	9.16±0.36^{bA}	-	12.67±0.23^{a}	8.16±0.02^{c}		182.00***
	Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	9.11±0.17^{bA}	-	12.51±0.40^{a}	8.76±0.17^{b}	-	120.08**
	Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	8.38±0.13^{bB}	-	13.25±0.16^{a}	8.07±0.03^{b}	-	1163.29****
	Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	8.19±0.06^{bB}	-	12.66±0.76^{a}	7.81±0.51b	-	51.61**
	F-value	11.06*		1.03	4.47		
Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	8.67±0.57^{b}	-	13.64±0.23^{a}	7.83±0.30^{b}		128.78**
	Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	8.90±0.08^{b}	-	13.73±0.33^{a}	8.12±0.02^{c}	-	488.97***
	Streptococcus mutans(KCCM 11823)	9.36±0.41^{b}	-	13.10±0.03^{a}	7.79±0.47^{c}	-	115.43**
	F-value	1.49		4.41	0.61		
Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	9.46±0.06^{b}	-	13.14±0.06^{a}	8.60±0.01^{c}	-	4776.09****
	Prevotella intermedia(KCTC 3692)	9.22±0.69^{b}	-	12.97±0.16^{a}	8.47±0.49^{b}	-	46.54**
	F-value	0.49		1.39	0.36		

* p<.05, ** p<.01, *** p<.001, **** p<.0001

abcd : Means with the same superscripts in a row are significantly different from among the content at p<.05, p<.01

ABCD : Means with the same superscripts in a column are significantly different from among the content at p<.05

5) 열에 대한 안정성

녹차 메탄올 추출물의 가열에 따른 생육저해환의 크기는 Table 19와 Fig. 16으로 나타났다.

9종의 균들은 40~110℃까지 온도에 따라 약간의 변화는 보이나 대체로 열에 안정한 것으로 나타났다.

생육저해환의 크기는 40℃에서 110℃까지는 온도가 높아짐에 따라 그 크기가 약간 더 크게 나타나 항균성이 증가함을 보이나, 130℃로 높아지면서는 약간 감소하는 경향을 보였다. 이는 녹차 메탄올 추출물의 점성이 높아지면서 배지에 크게 작용하지 못하는 것으로 생각된다. 그러나 항균성은 여전히 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

9종의 균들 중 *Escherichia coli* 와 *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607), *Streptococcus mutans* 은 $p<0.01$의 유의적 차를 나타내었으며, *Staphylococcus aureus,* *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351), *Porphyromonas gingivalis* 은 $p<0.05$의 유의적 차를 나타내었다.

충치균인 *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607), *Streptococcus mutans,* 구취균인 *Porphyromonas gingivalis* 들에 대한 항균성이 높게 나타났다.

본 결과를 통하여, 차를 우리는데 찻물의 온도에 제한 받지 않고, 90℃ 이상의 뜨거운 물로 우려내는 경우에도 항균성이 매우 안정됨으로써 식후에 적극적인 차의 음용을 통하여 충치 예방에 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

dCollection @ sungshin

Collection @ sungshin

Table 19. Effect of temperature treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea

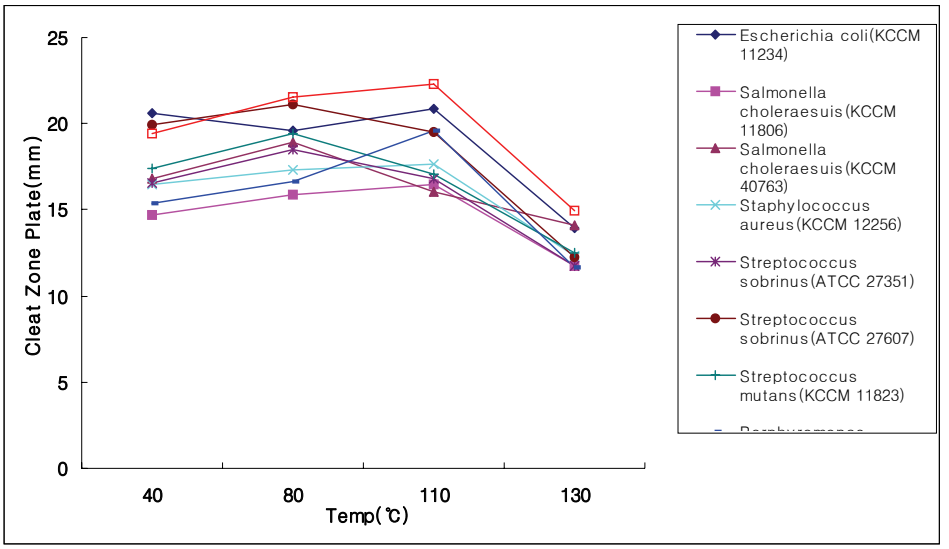
Sample	Strains	Clear zone plate (mm)				F-value
		40[1)]	80	110	130	
Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	20.61±0.02^{a}	19.60±0.25^{a}	20.87±0.38^{a}	13.92±0.86^{b}	89.29**
	Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	14.70±4.01	15.90±3.63	16.44±2.83	11.70±1.18	0.93
	Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	16.79±0.87	18.94±1.35	16.03±1.29	14.08±0.95	6.25
	Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	16.46±1.67^{a}	17.28±0.49^{a}	17.63±0.60^{a}	12.36±1.22^{b}	9.71*
	F-value	2.52	1.46	3.78	2.42	
Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	16.54±0.65^{aB}	18.50±1.50^{a}	16.84±1.07^{a}	11.76±1.33^{b}	12.01*
	Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	19.94±1.05^{aA}	21.12±0.42^{a}	19.51±1.66^{a}	12.21±1.03^{b}	25.68**
	Streptococcus mutans(KCCM 11823)	17.43±0.53^{bB}	19.43±1.20^{a}	17.08±0.42^{b}	12.47±0.02^{c}	36.39**
	F-value	10.37*	2.73	3.18	0.27	
Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	15.34±0.08^{b}	16.60±0.11^{ab}	19.57±2.31^{a}	11.64±0.18^{c}	16.11*
	Prevotella intermedia(KCTC 3692)	19.43±0.82	21.56±1.11	22.28±3.17	14.96±4.27	2.88
	F-value	-7.01*	-6.28*	-0.98	-1.1	

[1)] 40: , 80: , 110: , 130: ℃

* p<.05, ** p<.01

abcd : Means with the same superscripts in a row are significantly different from among the content at p<.05, p<.01

ABCD : Means with the same superscripts in a column are significantly different from among the content at p<.05



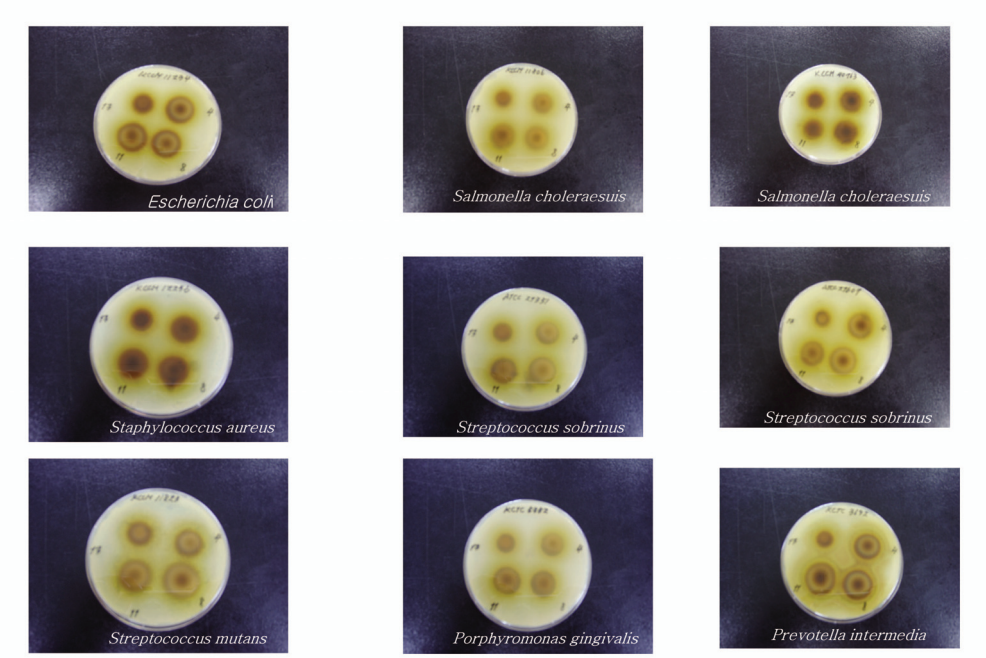


Fig. 16 Effect of temperature treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea

dCollection @ sungshin

6) pH에 대한 안정성

녹차 메탄올 추출물의 pH에 따른 생육저해환의 크기는 Table 20과 Fig. 17로 나타났다.

생육저해환의 크기는 pH 7에서 2로 낮아짐에 따라, 또 pH 9에서 pH 11로 높아짐에 따라 그 크기가 감소하는 경향으로, 유의적 차($p<0.01$)를 나타내지만 여전히 항균성을 보이고 있다. 즉, 9종의 균들은 pH 2, 5, 7, 9, 11까지에 크기의 변화는 보이나 대체로 pH에 안정한 것으로 나타났다.

특히 *Escherichia coli* 와 *Staphylococcus aureus, Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351)은 $p<0.01$로, *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607)는 $p<0.05$로 유의적 차를 보이고 있다.

식중독균인 *Escherichia coli* 와 *Salmonella choleraesuis, Staphylococcus aureus* 등은 pH 2와 5에서 유의적 차를 나타내며($p<0.01$), 산성에서도 항균성을 갖는 것으로 나타났다.

Kim 등(2003)의 연구에서는 pH4~9 범위에서 *Escherichia coli* 등의 몇몇 미생물의 생육저해환의 크기가 동일하다고 하였다.

Park(2000)과 Cha(2001) 의 *Escherichia coli* 의 경우, 산성의 조건보다 알칼리성 조건에서 생육이 더 억제되었다는 내용과 일치한다고 하겠다.

Park 등(2000)은 녹차추출물에서 *Escherichia coli , Staphylococcus aureus* 는 pH가 높을수록 저농도에서 세균의 증식이 억제되었다는 것과 같은 경향을 보이고 있다.

즉, 녹차추출물의 경우 pH가 낮을수록 항균활성이 감소하는 경향을 보이는 것은 자연환경 속에서 많은 세균들이 산성 조건하에서 내성을 획득하여 내산성을 나타낸다는 보고와 일치하는 결과로 생각된다.

dCollection @ sungshin

Wanf와 Doyle (1998)은 *Escherichia coli* 의 산성에 대한 내성 연구에서 가열 처리나 산성 pH에서는 세균이 산에 대한 적응력을 갖게 하는 효소와 단백질을 합성함으로써 세균의 내성을 증가시킨다고 보고하여 세균의 내성이 증가하는 원인을 규명하였다.

본 결과를 통하여 녹차 메탄올 추출물의 pH 안정성은 pH 2~11 범위에서 각 균들에 대해 큰 차이는 없다고 하겠다. 즉, 강산과 강알칼리 조건에서도 항균물질은 지속적으로 유지됨을 확인할 수 있었다.

dCollection @ sungshin

Collection @ sungshin

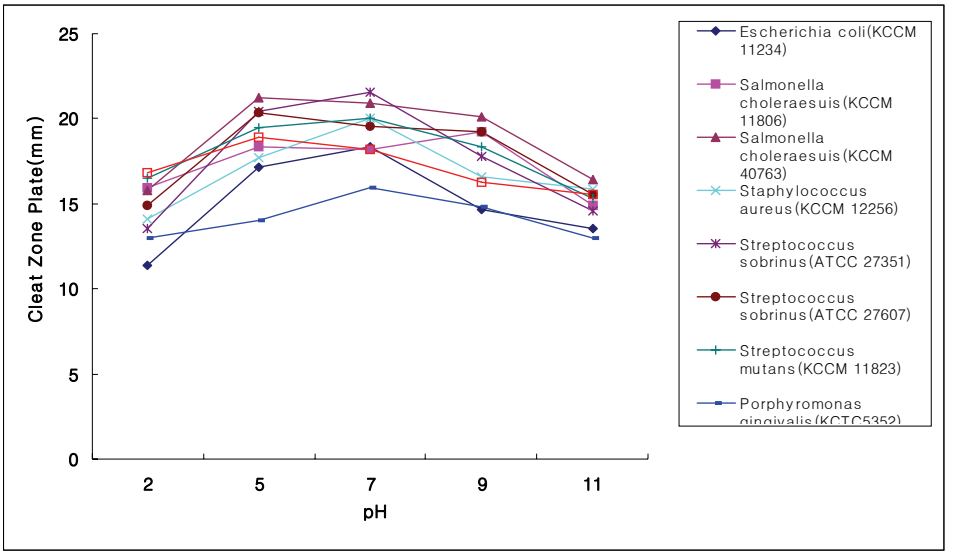
Table 20. Effect of pH treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea

Sample	Strains	Clear zone plate (mm) pH					F-value
		2	5	7	9	11	
Pathogenic Bacteria	*Escherichia coli*(KCCM 11234)	11.41±0.17^{cB}	17.13±0.60^{aB}	18.37±1.44^{a}	14.70±0.76^{b}	13.53±0.01^{b}	25.62**
	Salmonella choleraesuis(KCCM 11806)	15.96±1.45^{A}	18.33±0.63^{B}	18.17±0.21	19.26±1.73	14.91±3.54	1.82
	Salmonella choleraesuis(KCCM 40763)	15.81±1.27^{A}	21.22±0.29^{A}	20.91±3.59	20.13±3.97	16.39±2.50	1.83
	Staphylococcus aureus(KCCM 12256)	14.08±0.39^{cAB}	17.72±0.01^{bB}	20.01±1.61^{a}	16.57±0.27^{b}	15.89±1.02^{bc}	12.59**
	F-value	9.21*	31.26**	0.79	2.56	0.64	
Oral Bacteria	*Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351)	13.55±0.11^{c}	20.42±0.14^{a}	21.53±1.77^{a}	17.79±0.86^{b}	14.58±0.02^{c}	31.48**
	Streptococcus sobrinus(ATCC 27607)	14.93±0.25^{b}	20.33±0.35^{a}	19.57±2.03^{a}	19.20±0.93^{a}	15.55±0.62^{b}	11.17*
	Streptococcus mutans(KCCM 11823)	16.48±1.07	19.47±2.88	20.02±2.37	18.33±4.60	15.30±2.73	0.67
	F-value	0.77	0.19	0.49	0.13	0.19	
Black-pigmented gram negatie	*Porphyromonas gingivalis*(KCTC5352)	13.01±1.98	14.01±1.59	15.97±1.56	14.80±2.00	13.02±0.34	1.21
	Prevotella intermedia(KCTC 3692)	16.85±0.16	18.93±1.62	18.15±0.86	16.25±3.94	15.57±0.64	0.98
	F-value	-2.73	-3.07	-1.73	-0.46	-5.00*	

* $p<.05$, ** $p<.01$

abcd : Means with the same superscripts in a row are significantly different from among the content at $p<.05$, $p<.01$

ABCD : Means with the same superscripts in a column are significantly different from among the content at $p<.05$



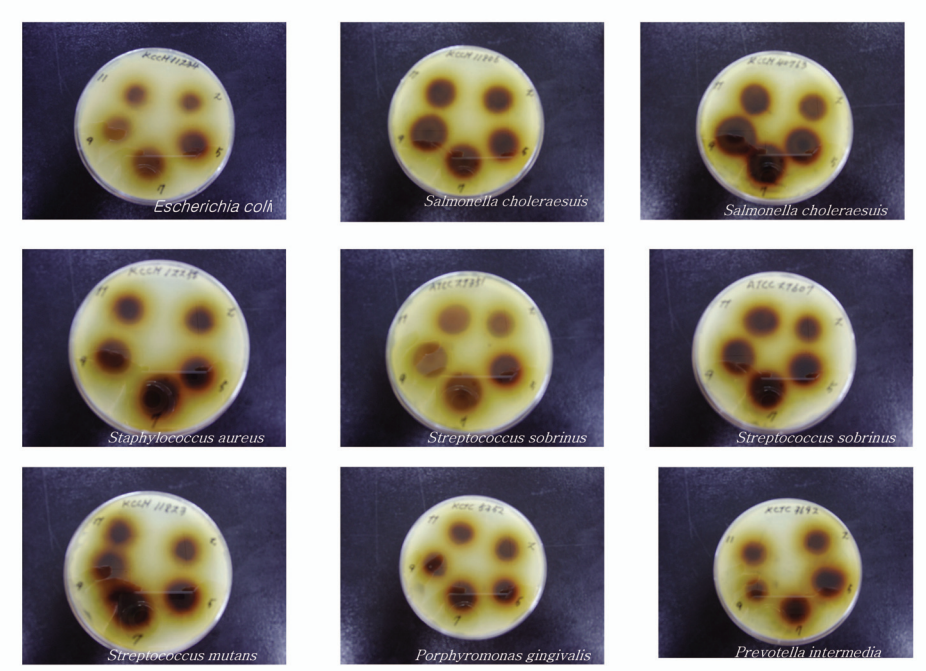


Fig. 17 Effect of pH treatment on antibacterial activity of methanol extracts in green tea

dCollection @ sungshin

Ⅳ. 결 론

앞으로의 한국 녹차 산업 발전의 경제적 효용성을 위한 보다 체계적이고 차별화된 한 방안으로 차의 품질 및 기능성 확보를 위하여 채엽 시기가 우선 고려되어야 한다. 그래서 차의 주요 성분별 채엽 시기의 적기를 산출하여 차 제품마다 기능성에 따른 차잎의 공급을 통한 차 제품을 생산해내는 시스템이 이루어져야 할 것이다.

이를 위해 본 연구에서는 채엽 시기에 따른 주요 성분 분석과 함께 차의 항균성을 탐색해보았다. 그리고 차의 항균성에 알맞은 채엽 적기를 살펴보았다.

1. 채엽 시기별 녹차의 일반 성분 함량은 조단백질 19.8~30.0, 조지방 0.19~0.26, 탄수화물 61.41~68.11, 조회분 5.3~5.8, 수분 2.7~6.1로 나타났다. 채엽 시기에 따른 전체적인 변화를 살펴보면, 시기가 늦어지면서 조단백질과 조지방은 점차 감소하는 경향을 보이고, 회분과 탄수화물은 점차 증가하는 경향을 보였다. 그런 중에 제4시기의 수분의 증가와 조단백질의 감소는 장마로 인한 것으로 생각된다.

각 채엽 시기별 녹차의 일반성분 함량의 비교를 통해서 채엽 시기에 따른 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

2. 채엽 시기별 녹차의 주요성분의 함량은 다음과 같이 나타났다.

먼저 총카테킨 함량은 제1시기 16.73, 제2시기 17.18, 제3시기 17.58, 제4시기 17.83, 제5시기 18.96g%로 나타났다. 총카테킨 함량은 채엽시기가 늦

dCollection @ sungshin

어질수록 증가하는 경향을 보였다. 주요 카테킨의 조성은 채엽 시기에 관계없이 EGCg> ECg> EGC> EC의 순으로 함유되어 있었다.

EGCg의 경우, 제1시기에 10.20에서 제2시기 9.96, 제3시기 10.44, 제4시기 10.69, 제5시기 11.22g%로 채엽 시기가 늦어짐에 따라 증가함을 찾아볼 수는 있으나, 통계적으로 유의적 차를 나타내지 못하였다.

GC의 경우, 채엽 시기가 늦어짐에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 보였다($p<0.0001$).

GCg의 경우, 제1시기에 0.50에서 제2시기 0.36, 제3시기 0.31 제4시기 0.31, 제5시기 0.41g%로 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 나타내며, 유의적 차를 나타내었다($p<0.001$). 이렇듯 차의 채엽 시기에 따른 카테킨 함량의 차이가 분명히 있음을 알 수 있었다.

카테킨 종류별로 살펴보았을 때, 채엽 시기가 늦어짐에 따라 증가하는 것은 GC, EGC, EC, EGCg이며, 감소하는 것은 C, GCg, ECg로 나타났다.

총카테킨 함량은 제5시기(7월 하순)에 18.96으로 가장 많았으며, EGCg, EGC, EC도 제5시기(7월 하순)에 가장 많았다.

3. 채엽 시기에 따른 총폴리페놀 분석 결과는 22.71~26.46까지 함유되어 있음을 볼 수 있다. 제1시기에 22.71, 제2시기에 23.98, 제3시기에 24.24, 제4시기에 25.28, 제5시기에 26.46g%로 시기가 늦어지면서 총폴리페놀 함량은 증가하며, 유의적 차를 나타내었다($p<0.01$).

총폴리페놀의 함량은 제5시기에 26.46g%로 가장 많았으며, 채엽 시기가 늦어질수록 증가하는 경향을 나타내었다.

4. 채엽 시기에 따른 카페인 함량 분석결과는, 제1시기 2.73, 제2시기 2.48,

dCollection @ sungshin

제3시기 2.41, 제4시기 2.16, 제5시기 2.15g%로 나타났다. 카페인 함량은 유의적($p<0.01$)으로 시기가 늦어질수록 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 즉, 카페인 함량은 제1시기에 2.73g%로 가장 많았으며, 채엽 시기가 늦어질수록 감소하는 경향을 볼 수 있었다.

5. 채엽 시기에 따른 데아닌 함량은 제1시기 1.75, 제2시기 1.61, 제3시기 1.56, 제4시기 1.38, 제5시기 1.00g%로 채엽 시기가 늦어지면서 지속적으로 감소하는 경향이 유의적 차를 나타내었다($p<0.001$).

녹차에 함유된 총아미노산 함량은 1.744-2.803g%로, 4월 중순에 가장 많이 함유되어 있었다. 채엽 시기가 빠를수록 데아닌과 총아미노산 함량이 많았다. 즉, 녹차의 채엽 시기가 늦어짐에 따라 아미노산의 함량은 감소하였다

6. 녹차의 채엽 시기에 따른 비타민 C 함량은 제1시기 344.43, 제2시기 407.26, 제3시기 294.94, 제4시기 245.99, 제5시기 165.29 mg%로 나타났다. 비타민 C 함량은 제2시기에 407.26mg%로 가장 많았으며, 제2시기 이후로는 채엽 시기가 늦어지면서 감소하는 경향을 보였다.

7. 채엽시기별 녹차 추출물 용매별 분획물의 수율은 Methanol 추출 분획물이 33.70%, Chloroform 분획물이 12.02%, Ethylacetate 분획물이 1.15%, n-Hexane 분획물이 9.85%, Butanol 분획물이 5.65%, Water 분획물이 1.64%이었다. 특히 Ethylacetate 분획물과 Water 분획물이 아주 낮은 수율을 보였다.

8. 항균성 검색에 사용된 총 9가지 균주에 대해 물과 메탄올 추출물에 대해

dCollection @ sungshin

모두 항균 활성을 보였다.

물 추출물에서는 *Salmonella choleraesuis* (KCCM 11806)가 고른 항균 활성으로 생육 저해환의 크기가 유의적($p<0.01$) 차를 나타내었다.

메탄올 추출물에서는 *Escherichia coli*와 *Salmonella choleraesuis* (KCCM 11806, KCCM 40763), *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia* 가 유의적 차를 보였으며($p<0.05$), *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27351) 또한 각 채엽 시기별로 생육 저해환의 크기가 유의적 차를 나타내었다($p<0.01$).

채엽 시기별로 살펴본 항균 활성은 제3시기(5월 하순)의 물 추출물은 구취균(*Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia)* 에 대해, Methanol 추출물에 있어서는 식중독균(*Escherichia coli* 등)에 대해 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$).

9. Methanol 추출물의 분획물의 항균 활성 억제 효과를 살펴본 결과, Ethylacetate 분획물에서 생육저해환의 크기는 *Escherichia coli* 에서 12.67±0.23에서 *Streptococcus sobrinus* 13.73±0.33mm로 유의적으로 나타났다($p<0.001$).

그 다음으로 n-Hexane 분획물에 대해서도 항균 활성을 나타내었다. *Staphylococcus aureus* 가 8.19에서 *Porphyromonas gingivalis* 가 9.46mm까지 유의적으로 나타났다($p<0.01$ ~0.0001).

Butanol 분획물에서는 *Streptococcus mutans* 가 7.79에서 *Salmonella choleraesuis* 가 8.76mm로 유의적($p<0.01$) 차로 약간의 항균 효과가 나타났다.

Chloroform 분획물과 water 분획물에 있어서는 항균 효과가 나타나지 않

dCollection @ sungshin

았다.

Methanol 추출물의 분획물의 항균 활성 억제 효과는 Ethylacetate 분획물의 생육저해환이 실험 균주 전부에 대해 강한 항균 효과를 나타냄을 확인하였다.

10. Methanol 추출물의 각 분획물별 HPLC 분석 결과, Ethylacetate 분획물에서, EGCg가 가장 많이 검출되었으며, ECG> EGC> EC의 순으로 검출되었다. Ethylacetate 분획물 속에 카테킨이 다량 존재함을 확인하였다.

또한 n- Hexane 분획물과 Butanol 분획물의 HPLC 분석결과에서도 EGCg, ECG, EGC, EC가 함께 검출되었다. 그리고 water 분획물의 HPLC 분석에서는 특별한 성분이 검출되지 않았다.

이상의 Methanol 추출물의 용매별 분획물별 HPLC 분석 결과, 차의 주요 성분 중 항균 효과를 갖는 것이 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC 임을 다시 확인할 수 있었다.

또한 이전 Ethanol 추출 연구에서와 같이 Methanol 추출물에서도 차에 함유된 항균성 물질이 특정 용매에만 용해되지 않고 다른 용매에도 용해되는 것으로 보아 한 가지 성분이라기보다는 여러 성분이 서로 복합적으로 항균 작용을 하는 것으로 사료된다.

11. 열에 대한 안정성은 생육저해환의 크기는 40℃에서 110℃까지는 온도가 높아짐에 따라 그 크기가 약간 더 크게 나타나 항균성이 증가함을 보이나, 130℃로 높아지면서는 약간 감소하는 경향을 보였다.

12. pH에 대한 안정성은 pH 7에서 2로 낮아짐에 따라, 또 pH 9에서 pH

dCollection @ sungshin

11로 높아짐에 따라 그 크기가 감소하는 경향으로 유의적 차를 나타냈으며 ($p<0.01$), 항균성을 보이고 있다. 즉, 9종의 균들은 pH 2, 5, 7, 9, 11까지에 크기의 변화는 보이나 대체로 pH에 안정한 것으로 나타났다.

13. Methanol 추출물의 용매별 분획물을 HPLC 분석을 한 결과, 차의 주요 성분 중 항균 효과를 갖는 것이 카테킨 중 EGCg, ECG, EGC, EC이며, 이들 성분이 가장 많은 시기는 제5시기로 나타났다.

그러나 차를 물에 우려서 음용하는 것임에 물 추출물의 항균 활성이 가장 크게 나타난 시기가 제3시기(5월 하순)라는 결과를 비교분석했을 때, 녹차의 항균 활성을 나타내는 성분인 EGCg, ECG, EGC, EC 함량이 많은 제5시기가 아니라는 것에 주의할 필요가 있다. 즉, 항균 활성이 카테킨의 함량이 많음만으로 이루어지는 것은 아닌 것으로 사료된다.

채엽 시기에 따른 카테킨의 종류별 함량을 통해 살펴보면 EGCg의 경우, 전체 시기를 통해 많은 함량을 보이고 있다. 특히, EC와 EGC, GC의 경우, 제5시기(6월 하순)에 가장 많이 나타난 것을 볼 수 있다. 이들은 EC, ECG, EGCg 등이 항산화능에 영향을 미치는 중요성분으로 알려져 있듯이 Methanol 추출물에 대한 항균 활성에 있어서도 강한 반응을 나타내었다.

또한 EGCg 를 단독으로 섭취하는 것보다 카테킨 혼합물 혹은 녹차로 섭취하는 것이 충치와 구취 예방, 식중독 예방은 기타 다른 기능성에 유효하다고 판단된다.

이상의 결과를 통하여, 차의 항균성 물질이 충치와 구취에 영향을 주는 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Prevotella intermedia*의 항균 활성이 높게 나타난 것으로 보아 차의 음용을 생활화한다면 충치와 구취

dCollection @ sungshin

예방은 물론 식중독 예방에 효과가 있을 것으로 보인다.

그리고 채엽 시기에 따른 차잎의 성분 함량 분석을 통하여 효율적 이용이 고려되어야 할 것으로 생각된다. 다시 말해 앞으로의 녹차 산업 발전의 경제적 효용성을 위해 보다 체계적이고 차별화된 방안으로 채엽 시기는 가장 기본적으로 고려되어야 할 사항이라는 것을 확인할 수 있었다.

기능성 음료이며 건강식품인 녹차의 활용을 높이기 위한 가장 기본적인 방법인 채엽 시기에 대한 정확한 자료를 확보하고, 여기에 알맞은 차잎을 선택하여 차 제품을 생산해내는 시스템이 우선 형성되어야 할 것이다. 이는 과학적인 녹차의 활용 방안을 위한 기초로서 기능성을 높이기 위한 가장 기본사항인 것이다. 그래서 기능성과 차별화된 차 제품의 생산을 통하여 일반인들의 녹차 음용의 기회를 높일 수 있을 것이다.

최근 차산업은 중요한 시점을 맞고 있다. 이를 위해 차문화산업의 발전을 위해 새로운 콘텐츠 개발이 요구되고 있는 현실이다.

글로벌 시대를 맞아 경제 발전과 각종 질환의 감염 위험에 노출되어 있다. 국민 건강의 예방을 위해 천연 항균제로 각종 질환을 예방할 수 있는 기능성을 적극 알림으로써 차 음용의 생활화를 적극 추구하여 차문화 산업의 발전을 추구하는 것도 한 방안이 될 것이다.

dCollection @ sungshin

Reference

김동훈 (1998) 식품화학, 탐구당, 서울, p 84.

김종태 (1996) 차의 과학과 문화, 보림사, 서울, p 103-273.

식품공전 (2006) 식품공업협회, p 251-365

식품성분표 제7차 개정판 (2007) 농촌진흥청 농촌자원개발연구소, 효일

안명수 (2004) 식품화학, 신광출판사, 서울, p. 325-350

양원모 · 천종은 편 (2006) 차의 품평과 연습, 순천대학교, 광주

오구니 이타로, 나카무라 요리유키, 시야마 카즈토시 . 정란희 역 (2004) 만병을 고치는 녹차 혁명, 예담출판사, 서울

오상룡 (2005) 다도학, 상주대학교 출판부, 상주

정동효 (1997) 차의 과학, 대광서림, 서울, p. 51

정동효 (2004) 차의 성분과 효능, 홍익제, 서울, p 21-43

정동효 (2005) 차의 화학성분과 기능, 도서출판 월드사이언스, 서울

권민경 (2001) 동백나무 잎 추출물의 항균 효과에 관한 연구, 성신여자대학교 석사학위논문

김상희 외 (2004) 보성산 녹차의 채엽시기에 따른 화학 성분의 변화, 한국식품과학회지, 36(4): 542-546

김혜영 · 정성미 (2005) Cook-Chill System을 위한 생산품의 냉장저장 중 녹차 추출물의 첨가에 따른 일부 식중독균의 증식저해효과, 한국조리과학회지, 21(1): 47-52

김혜영 ·고성희 (2005) Cook-Chill System을 이용한 닭고기 샐러드의 녹차 추출물 첨가에 따른 품질 평가(Ⅱ), 한국조리과학회지, 21(4): 466-474

dCollection @ sungshin

김소라 (2009) 녹차가루 첨가의 다식 제조 및 저장 특성, 성신여자대학교 석사학위논문

박근형 (2008) 국산 녹차의 생산 및 산업동향, 제9회 국제녹차 심포지엄, p. 137-160

송재민 (2008) 녹차 카테킨: 조류 및 인간 인플루엔자바이러스 제어를 위한 대안적 활용, 제9회 국제 녹차심포지엄, 한국식품과학회, 서울, p. 113-131

신기호 (2004) 한국차의 발효 정도별 성분 변화와 항균 활성에 관한 연구, 순천대학교, 박사학위논문

오덕균, 이미경, 박부길 (1999) 식품 유해균에 대한 차류 추출물의 항균효과, 한국식품영양과학회지, 28(1): 100-106

오미정 (1994) 韓國 自生 茶나무의 遺傳的 類緣關係 및 綠茶의 理化學的 特性에 關한 硏究, 고려대학교, 박사학위논문

오상룡 (1988) 물리화학적 및 관능적 특성에 의한 국내외산 녹차의 품질평가, 한국농화학회지 31(3): 284-291

유양석 (2009) 한국 녹차산업의 고객 중심화 비전과 전략, 한국차학회 춘계학술대회지, p.15-20

이명자 (2003) 加熱處理가 綠茶의 理化學的 및 官能的 特性에 미치는 影響, 충남대학교 박사학위논문

정지영 (2000) 녹차가루 첨가 두부의 저장 및 조리 특성, 성신여자대학교 석사학위논문

천종은 편 (2006) 차 품질평가법, 보성녹차특성화사업단, 광주, p. 183

최원석 (2009) 녹차첨가 다식의 제조 및 품질특성, 성신여자대학교 박사학위논문

dCollection @ sungshin

한영숙 (2005) 동백나무(*Camellia japonica* L.) 잎 추출물이 식품유해 미생물에 미치는 항균 효과, 한국식품과학회지, 37(1): 113-121

황지희 (2008) 국내산 소엽종 찻잎의 발효정도에 따른 이화학적 특성 및 발효차 첨가 마들렌의 가공적성, 성신여자대학교 박사학위논문

Ahn Hong-Seok, Shin Joong- Sik (2005) Antioxidant vitamins intakes and plasma levels of retinol, β-carotene and α-tocopherol in pregnant women. *Korean J. of Obsterics and Gynecology* 48(5): 1193-1201

Allan H. Conney (2005) Tea and Cancer. *The 8th Inernational Symposium on Green Tea*. Seoul.

An BJ *et al* (2007) Anti-microbial effect of irradiated Tea Polyphenol addition into cosmetic composition. *J. Kor. Soc Appl. Biol. Chem.* 50(3): 210-216

Cao, Y., Cao, R. (1999) Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Natur.* Apr. 1; 398(6726): 381

Chen, ZP., Schell, JB., Ho, CT., Chen, KY (1998) Green tea epigallocatechin gallate show a pronounced growth inhibitory effect on cancetous cells but not on their normal counterparts. *cancer Lett.* Jul. 17; 129(2): 173-179

Cho SY *et al* (2005) Antimicrobial activities of Green Tea Extract and fractions on the *E. coli* O157:H7. *J. Fd Hyg. Safety* 20(1): 48-52

Choi OJ *et al* (2005) Antimicrobial activities of Korea Wild Tea Extract according to the degree of fermentation. *J. Kor. Soc*

dCollection @ sungshin

Food Sci Nutr. Vol. 34(2) pp. 148-157

Choi Ok-Ja and Choi Kyung-Hee (2003) The physocochemical properties of Korean Wild Teas (Green tea, Semi-fermented tea, and Black tea) According to Degree of Fermentation. *J. Kor. Soc Food Sci Nutr*. 32(3): 356-362

Choi Sung-Hee, Ryhu Mee- Ra (1992) Analysis of theanine contents in commercial Green Tea. *Korean J. Food Sci. Technol* 24(2): 177-179

Choi Sung-Hee, Lee Byeong-Ho and Choi Hong Dae, Analysis of Catechin contents in commercial green tea by HPLC. *J. Kor. Soc. Food Nutr*. 21(4): 386-389

Christine D. (2005) Green tea polyphenols in oral disease prevention and oral health promotion. *The 8th Inernational Symposium on Green Tea*. Seoul. : 11-22

Chu, D.C., Kobayashi, K., Juneja, L.R., and Yamamto, T. (1997) Theanine its synthesis, isolation and physiological activity, chemistry and applications of green tea, *CRC Press, New York, P.* 129

Chung Young-Hee, Shin Mee-Kyung (2005) A study on the physicochemical properties of Korean Teas according to degree of fermentation. *Korean J. Food & Nutr*. 18(1): 94-101

Chung Y.S., Kanf, K.H., Chang M.W. (2001) Effects of green and taste on the growth and vacuolanting toxin titer of Hellicobacter pylori. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 16:

dCollection @ sungshin

163-169

Danno, K., Horio, T., Takigawa, M., et al (1984) Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermaal cell injury. *J. Invest Dermatol* 83: 166

Han Young Sook (2007) Gamma-aminobutyric Acid Content in Commercial Green Tea. *Korean J. Food Coolery Sci.* 23(3): 409-412

Hara -Kudo, Y., Okubo, T., Tan방, S., Chu, D., Juneja, L. R. Saito, N., Sugita-Konishi, Y. (2001) Bactericidal action of green tea extract and damage to the membrane of *Echerichia coli* 0157 :H7. *Biocontrol Science*. 6: 58-61

Hara Y (1997) Influence of tea catechins on digestive tract. *J. Cell Biochem*. Sullo., 27: 52-58

Hara Y, Ishigami T (1989) Antibacterial activities of tea polyphenols against foodborme pathogenic bacteria. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36: 996-999

Hibasami, H., Komiya, T., Achiwa, Y., Ohnish, K., Kojima, T., Nakanishi, K., Akashi, K., Hara, Y., (1998) Induction of apoptosis in human stomach cancer cells by green yea catechins. *Oncol Rep.*, Mar-Apr; 5(2): 527

Ho, Chi-Tang, Qinyun Chen, B.S., Huang Shi., B.S., KeQin Zhang, B.S., Rosen, Robert T. (1992) Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various chinese teas. *Preventive medicine*. 21: 520-525

dCollection @ sungshin

Hu B, Wang L, Zhou B, Zhang X, Sun Y, Ye H, Zhao L, Hu Q, Wang G, Zeng X (2009) Efficient procedure for isolating methylated catechins from green tea and effective simultaneous analysis of ten catechins, three purin alkaloids, and gallic acid in tea by high-performance liquid chromatography with diode array detection. *J. chromatogr. A.* 1216: 3223-3231

Ikegaya K, Takayanagi H. and Anan T (1990) Quantitative analysis of tea constituents. *Bull Natl Res Tea* 71: 43-74

Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T (1993) Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta* 1147: 132-136

Jeon Jeong-Ryae, Park Geum-Soon (1999) Korean green tea by Ku Jeung Ku Po's Ⅰ. analysis of general compositions and chemical compositions. *Korean J. Soc. Food Sci.* 15(2): 95-101

Jeong Hyun-Ja, Kim Ji-Hwa, Ji Won-Dae (2001), Volatile component of green tea having growth inhibition activity on Oral Bacteria. *J. Korean Soc. Hygienic Sciences* 7(1): 11-15

Kang SK *et al* (2007) Changes of bioactive compounds and antioxidant activities in Korean green tea(*Camellia sinensis*) with different harvesting periods. *J. Kor. Food Preserv.* 14(6): 709-715

Kawakami M, Uchida H, Kobayashi A (1987) Correlation between caffeine and total nitrogen in small tea leaf species and large tea leaf species. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 61: 365-367

dCollection @ sungshin

Kim CS, Chung SK, Oh YK, Kim RY (2003) Antimicrobial activity of green tea against putrefactive microorganism in steamed bread. *Korea Soc Food Sci Nutr* 32: 413-417

Kim Ji-Young, Han Young-Sook (2009) Influence of Roasting Time on Antibacterial and Antioxidative Effect of Coffee Extract. *Korean J. Food Cookery Sci.* 25(4): 496-505

Kim Jung Soo, Park Jung Suk (2002) Effect of green tea extract on quality of fermented Pan Bread. Korean J. food& Nutr

Kim YG (1995) Antibacterial activities of Korean and Foreign green tea extract. *Kor. J. Env. Hlth. Soc*. 21(1): 39-46

Kim Meehye, Kim Myung chul, Park Jong Seok (2001) The antioxidative effects of the Water-Soluble Extracts of plants Used as tea materials., *Korean J. Soc. Food Sci. Technol* 33(1): 12-18

Kim Sang-Hee, Park Jong-Dae, Lee Lan-Sook, Han Dae-Seok (1999) Effect of pH on the Green Tea Extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(4): 1024-1028

Kim Su-Jeong, Shin Jae-Yoon, Park Yoon Moon, Chung Koo-Min, Lee Jong-Hwa, Kweon Dae-Hyuk (2006) *Korean J. Soc. Food Sci. Technol.* 38(2): 241-248

Kuroda, Y., Hara, Y. (1999) Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutat Res.* 436(1): 69-97

Lee Dong-Jin *et al* (2007) Antioxidant and antimicrobial activities of Herb and Spices. *Korean J. Intl.* 19(1): 38-42

dCollection @ sungshin

Lee JY, Min YK, Kim HY (2001) Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* Baillon and antimicrobial effect. *Korean J. Food Sci Technol.* 33: 389-394

Lee Min June, Kwon Dae Joong, Park Ok Jin (2007) The comparison of antioxidant capacities and catechin contents of Korean commericial Green, Oloong, and Black Teas. *Korean J. Food culture* 22(4): 449-453

Lee SL (2008) Anti-microbial activity of Korean fermented soybean paste(Doen-jang) against Oral Microbes. *J. Env. Hith Sci.* 34(3): 207-212

Lee YJ, Ahn MS, Hong KH (1998) A study on the content of general compounds, Amino acid, Vitamins, Catechins, Alkaloids in Green, Oolong and Black Tea. *J. Fd Hyg, Safety* 13(4): 377-382

Lin, Y.L., Juan, I.M., Chen, Y.C., Ling, Y.C., Lin, J.K. (1996) Composition of Polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiprolifetative actions in fibroblast cells, *J. Agric. Food Chem.* 44: 1387-1364

Lekh RAj Juneja (2008) L-theanine-A serenity molecule of green tea. The 9th Inernational Symposium on Green Tea. Seoul. p. 53-75

Liao, S., Umekita, Y., Guo, J., Kokontis, JM., Hipakka, RA. (1995) Growth inhibition and regresion of human prostate and breast

dCollection @ sungshin

tumors in athymic mice by tea epigallocatechin gallate, Cancer Lett. Sep 25; 96(2): 239-243

Lin, J.K., Juan, L.M., Chen, Y.L., Liang, Y. c., Kin, Y.l. (1995) Biovhemical studies on the ani carcinogenesis of tea polyphenol. International symium on the tea sciences. Korea Soc, Fd. sci. 28(4): 424-431

Lisbeth A, Pacheco-Palencia, Christopher E. Duncan, Stephen T. Talcott (2009) Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, Euterpe oleracea and Euterpe precatoria. *Food Chemistry* 115: 1199-1205

Makhtar, H., Agarwal, R., and Katiyar, S.k. (1992) Anticarcinogenic and antiinflammatory effects of green tea in murine skine. Proceddings of the 2nd International Symposium on Tea Science. Seoul p. 45

Masaaki Okamoto (2005) Inhibitory effects of green tea catechins on Virulence factors in peridontoathogens. The 8th Inernational Symposium on Green Tea. Seoul. ; 25-38

Matsumoto, M., Ishigaki, F., Iwashima, H,, Hara, Y. (1993) Reduction of blood glucose levels by tea catechin, *Biosci. Biochem.* 57(4): 525-527

Maramatsu, K., Sugiyama, K., Amano, S., Nakashima, J., Saeki, S. (1991) Effect of green tea on cholesterol metabolism in rats. *Prodeeding of the international Symposium on Tea Science Shizuoka*. p.220

dCollection @ sungshin

Morita K., Matsueda T., Ikda T. (1997) Effect of green tea (matcha) on gastrointestinal tract absorption of polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-p-dioxins in rats. Fukuoka Igaku Zasshi. May;88(5): 162-168

Nagagawa, Muneyuki (1975) Chemical components and taste of green tea. *JARQ* 9(3): 156-160

Oguni, L., Chen, S.J., Lin, P. Z., and Hara, Y. (1992) Prorection against cancer risk by Japanese green tea. *Prev. Med.* 21: 332

Park JH *et al* (2008) Effect of plucking season and days on main component content of green tea. *J. Kor. Tea Soc.* 14(1): 167-174

Park Chan-Ja, Park Chan-Sung (2007), The antibactetial and antioxidative activity of Licorice and Spice Water Extracts. *Korean J. Food Cookery Sci.* 23(6): 793-799

Park Chan-Sung, Cha Moon-Seok, and Kom Mi-Lim (2001) Changes in the antibacterial activity of green tea extracts in various pH of culture broth against *Staphylococcus aureus* and *Saomonella typhimurium. Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 8(2): 206-212

Park CS, Cha Ms (2000) Comparison of antibacterial activity of green tea extracts and preservatives to the pathogenic bacteria. *Korean J Food & Nutr.* 13: 36-44

Park Chan-Sung (1997), Effect of spices on the growth of

dCollection @ sungshin

pathogenics bacteria. *Korean J. Soc. Food Sci.* 12(3): 330-337

Park Jang-Hyun, Choi Hyung-Koog, Park Keun-Hyung (1998), Chemical components of various green teas on market. *J. Kor. Tea Soc.* 4(2): 83-92

Park JH, Kim KS, Kim JH, Choi HK, KIm SW (1997) Studies on the chemical constituents of free amino acid, thenine, catechin contents in domenstic tea shoots. *J Kor Tea Soc* 2: 197-207

Park CS *et al* (2000) Comparison of antibacterial activities of green tea extracts and preservatives to the pathogenic bacteria. *Korean J. Food & Nutr.* 13(1): 36-44

Park Shin In (2006) Application of green tea powder for Sikhe preparation. *Korea J. food & Nutr.*

Park CS (1998) Antibacterial activity of water extract of green tea against Pathogenic Bacteria. *Korean. J Postharvest Sci. Technol.* 5(3): 286-291

Park Young-Hyun, Won Eun-Kung, and Son Dong-Ju (2002) Effect of pH in the stability of green tea catechins. *J. Fd Hyg. Safety* 17(3): 117-123

Peterson J. (2005) Major flavonoids in dry tea. *J. of Food Composition and analysis* 18: 487-501

Sakanaka S, Mujo K, Makoto T, Yamamoto T (1989) Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans,* a carcinogenic bacterium. *Agric Biol Chem.* 53: 2307-2311

dCollection @ sungshin

Suganuma, M., Okabe, s., Kai, Y., Sueoka, N, Sueoka, E., and Fujiki, H. (1999) Cancer Res.,59: 44

Sagesaka Y, Kakuda T, Kawamura K (1949) Phamacological effect of theanine. *Proceeding of the International Symposium on Tea Science(Japan)*. p. 362 (1991, [*Nippon Nogeikagaku Kaishi* 23, 262 (1949)])

Shengrong Shen, Haining Yu (2005) Effects of green tea on prostate cancer investigatde by interactions between GTP and Metal Ions. The 8th International Symposium on green tea. p. 107-156

Shin Mee-Kyung, Chang Mi-Kyung and Seo Eun-Sook (1995) Chemical properties on the quality of marketed roasting green teas. *Korean J. Soc. Food Sci.* 11(4): 356-361

Shin YH *et al* (2009) Antimicrobial activity of an aqueous extract of green tea against food putrefactive microorganisms. *Korean J. Food Preserv.* 14(3): 392-399

Slinkard K and Singleton VL (1977) Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *Am. J Enol Viticult* 28: 49-55

Sugiyama, K., Ishida, A., Yakota, M., Oshu, H., Takeo, T., Maeda, Y., Yamamoto, M., Masui, T., and Nakagomi, K. (1991) ANti-alletgic dffect in tea(Ⅱ). *Proceedings of the International Symposium on Tea Science*. Shizuka, p. 337

Sung Ki-Chun (2006) A study on the pharmacetical characteristics

dCollection @ sungshin

and analysis of green-tea extract. *J. of Korean Oil Chemists' Soc*. 23(2): 115-124

Tirang R. Neyestani, Niloufar Khalaji, A'Azam Gharavi (2007) Selective microbilolgic effects of tea extract on certain antibiotics against *Eschetichia coli In Vitro, The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 13(10): 1119-1124

Wanf, G., Doyle, M.P. (1998) Heat shock response enhances acid tolerance of *Eschetichia coli* 0157:H7. *Lett, Appl. Microbiol.* 26 : 31-34

Weisburger JH, Riverson A, Garr K, Aliaga C (1997) Tea, or tea and milk, inhibit mammary gland and colon carcinogenesis in rats, Canner Lett., Mar 19; 114(1-4): 323

Weisburger JH (1997) Tea and health a historical perspective. *Cancer lett. Mar.* 19:114(1-2): 315-7

Yeo Saeng-Gyu, Ahn Cheol-Woo, Kim In-Soo *et al* (1995) Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr*. 24(2): 293-298

You Jae-sun, Kim Yong-Tack, Lee Yoon-Soo, Kwon Ik-Boo (1991), Comparative effects of the green tea extracts depending on different extraction methods on reduction of Oral Malodor, 대한구강보건학회지 : 377-390

You Young-Sun, Park Ki-Moon, Kim Young-Bae (1993), Antimicrobial activity of some medical Herbs and Spices against *Streptococcus mutans. Kor. J. Appl. microbial.*

dCollection @ sungshin

Biotechnlol. 21(2): 187-191

Yukiko Hara-Kudo, Yoshiko Sugita-Konishi (2005) Antibacterial action on pathogenic bacteria by green tea catechins. The 8th Inernational Symposium on Green Tea. Seoul. p. 41-52

Zongmao, C. (1993) Function of tea in human health. Proceeding of the 2nd International Symposium on Green Tea. Seoul. p. 7

用村 淳, 竹尾忠 (1989) *Streptococcus mutans* に對する茶葉, カテキンの抗菌作用について, 日本食品工業學會誌, 36(6): 463-467

小野裕之 (1992) ウ-ロン 茶抽出物 「サンウロン」の抗う蝕作用ともの利用ついて, 日本食品工業學會誌, 9: 34-39

角田隆巴, 龍原孝宣 , 坂根 巖 (1994) 茶葉成分の齒周病原菌に對する抗菌作用, 日本農化學會誌, 68(2): 241-243

山西貞 (1981) 茶の 風味 生理效果, 日本化學教育, 29: 340

高柳博次, 阿南豊正 (1986) 荒茶製造工程における 茶葉の理化學性の 變化, 日本茶業研究報告, 64, 39

小林彰夫 (1984) 農産食品, 文永堂, 東京, p. 169

大休正司, 岡本順子 (1987) 日本茶の高血壓自然發病及 血壓上乘抑制作用, 日本農藝化學會誌 (61): 11

前田茂, 中川致之 (1977) 茶業研究報告, 45, p. 85

池ヶ谷賢, 高柳博次, 阿南豊正 (1984) 茶業研究報告, 60, p. 79

淸搜怜夫 (1980) 血糖强化作用性分と關係性に對する研究, 日本藥學會誌 (108), 964

原征彦 (1989) Japan Food Science, 28, 2

堀田博 (1989) 茶 カテキン類の 抽出, 精製法. 野菜, 茶業試驗場研究報告. 3: 65

dCollection @ sungshin

ABSTRACT

Analysis of main ingredients and antibacterial characteristics for harvesting time of Korean green tea leaves

Hyun-Sook Lee
Department of Food and nutrition
Graduated School of
Sungshin Women's University

This research intends to analyze amount of major ingredients in green tea enhancing biological availability for harvesting time, and to find out antibacterial characteristics in green tea. In addition, this research is carried out to acquire basic data to be utilized more systematically in order to develop various tea products using suitable harvesting time and find how to utilize it. Sample for this research is acquired by harvesting tea leaves for each season at a tea field located in Gurei, Jeonnam and then making them mixed green tea. For major ingredients of green tea, their amount of catechin, total polyphenol, caffeine, total amino acid and Vitamin C are measured using HPLC.

In order to verify antibacterial characteristics of green tea for each harvesting time, water extractions of green tea and methanol are produced. And antibacterial activation is verified using clear zone for 9 microorganisms (*Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* subsp.

dCollection @ sungshin

choleraesuis, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27351), *Streptococcus sobrinus*(ATCC 27607), *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia*).

In addition, extractions from methanol are separated by each solvent and its antibacterial activation of each separation is examined and then analyzed using HPLC again. And stability of heat and pH for antibacterial activation substance which was proved to be a clear zone is measured. And finally the following results are acquired.

1. The amount of general ingredient in green tea for each harvesting time shows crude protein of 19.8~30.0g%, crude fat of 0.19~0.26g%, carbohydrate of 61.41~68.11g%, crude lime of 5.3~5.8% and water of 2.7~6.1g%. And it is proved that there is difference depending on harvesting time by comparing the amount of general ingredients for each harvesting time.

2. The amount of major ingredients in green tea is shown as following for each harvesting time. First of all, for total amount of catechin shows 16.73g% for the first harvesting time, 17.18g% for the second time, 17.58g% for the third time, 17.83g% for the fourth time and 18.96g% for the fifth time. The amount of total catechin showed the highest point with its 18.96g% at the fifth time (late July) and the amount of EGCg, EGC and EC also reached at its highest point (late

dCollection @ sungshin

July). The total amount of catechin shows that the later the harvesting time is getting, the higher its amount is getting.

3. The total amount of polyphenol for each harvesting time has been proved to show 22.71~26.46g%. As the harvesting time is getting late, total amount of polyphenol has increased showing a meaningful difference ($p<0.01$).

4. The amount of caffeine for each harvesting time showed 2.73g% for the first harvesting time, 2.48g% for the second time, 2.41g% for the third time, 2.16g% for the fourth time and 2.15g% for the fifth time. The amount of caffeine showed that its amount decreased as harvesting time is getting late with meaningfulness of ($p<0.01$).

5. The amount of theanine for each harvesting time showed 1.75g% for the first harvesting time, 1.61g% for the second time, 1.56g% for the third time, 1.38g% for the fourth time and 1.00g% for the fifth time, which means that the later its harvesting time is getting, the little its amount is continuously getting with meaningfulness of ($p<0.001$). And the earlier the harvesting time is the higher its theanine and total amino acid amount is getting.

6. The amount of Vitamin C in green tea for each harvesting time shows 344.43 mg% for the first harvesting time, 407.26 mg% for the

dCollection @ sungshin

second time, 294.94 mg% for the third time, 245.99 mg% for the fourth time and 165.29 mg% for the fifth time. It reached at the highest point of 407.26 mg% for the second harvesting time, and after the second harvesting time, it showed the decrease as the harvesting time is getting late with meaningfulness of ($p<0.01$).

7. A total of 9 strains used to search antibacterial characteristics for each harvesting time all showed antibacterial characteristics against water and methanol extractions. Antibacterial activation for each harvesting time showed high meaningful point against water and methanol extractions for its third harvesting time ($p<0.05$, $p<0.01$).

8. For effects of inhibiting antibacterial activation for methanol extractions, the size of clear zone for ethylacetate separation showed 12.67±0.23mm for *Escherichia coli* and 13.73±0.33 for *treptococcus sobrinus* with its meaningful level of ($p<0.001$) And then separation of n-Hexane also showed antibacterial activation, its size was 8.19 for *Staphylococcus aureus* and 9.46 for *Porphyromonas gingivalis* with its meaningful level of ($p<0.01$ ~0.0001). Separation of butanol showed a slight antibacterial effect with its value of 7.79mm for *Streptococcus mutans and* 8.76 for *Salmonella choleraesuis* with a meaningful level of ($p<0.01$). Effect for inhibiting antibacterial activation of methanol extraction is proved that clear zone of Ethylacetate separation shows a strong antibacterial effect.

dCollection @ sungshin

9. As the result of HPLC analysis for each separation from methanol extractions, Ethylacetate separation showed a order of EGCg> ECG> EGC> EC. Through this analysis, antibacterial substances from ingredients of green tea are proved to be EGCg, ECG, EGC, EC again among Catechin.

10. Stability for heat and pH is proved to be stable for all experimental strains. Although antibacterial characteristic showed an increase as the temperature is rising from 40℃ to 110℃, it was a little decreased as the temperature has risen to 130℃. For the stability for pH, antibacterial characteristics has decreased as pH is lowered from 7 to 2 and gets higher from 9 to 11 while it shows a meaningful level of ($p<0.01$).

11. The highest portion of EGCg, ECG, EGC and EC which have the highest antibacterial effects among catechin for each harvesting time has appeared at the fifth time. As people take green tea as water-mixed and boiled liquid, and given that the highest antibacterial activation is the third time (late May), it is necessary note that time when the amount of EGCg, ECG, EGC and EC for antibacterial activation is not the fifth time. In other words, it is believed that antibacterial activation of catechin is not determined by its amount.

From all mentioned above, it is proved that there is difference in

dCollection @ sungshin

amount of major ingredients in green tea for each harvesting time. Based on this analysis, it is expected that tea industry is expected to be more advanced as long as manufacturers identify best time for harvesting tea meeting functionality of tea products and produce tea by acquiring effective system.

In addition, this research is expected to be used as good material to let people know various functions of tea preventing various diseases and expedite tea drinking in people's daily life enhancing people's health.

dCollection @ sungshin