

녹차의 생리활성 효과를 향상시키는
원적외선 복사 기법 개발

연구기관 한국식품연구원

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “농차의 생리활성 효과를 향상시키는 원적외선 복사 기법 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 15 일

주관연구기관명 : 한국식품연구원

총괄연구책임자 : 김 철 진

세부연구책임자 : 조 용 진

세부연구책임자 : 김 종 태

위탁연구책임자 : 이 승 철

연 구 원 : 안 병 학

연 구 원 : 지 호 균

연 구 원 : 최 애 진

연 구 원 : 박 지 혜

연 구 원 : 이 정 민

연 구 원 : 정 석 문

요 약 문

I. 제 목

녹차의 생리활성 효과를 향상시키는 원적외선 복사 기법 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

녹차의 생리활성 효과를 증진시키는 원적외선 복사 시스템을 설계/제작하여 녹차의 생리활성 물질의 추출 녹차의 생리활성 효과를 증진시키는 원적외선 복사 시스템을 설계/제작하여 녹차의 생리활성 물질의 추출율을 향상시키고, 처리한 녹차를 이용한 가공제품의 소재를 개발함을 목표로 함.

III. 연구개발 내용 및 범위

- 고효율 적외선 복사체 처리 시스템의 설계 및 제작.
 - 가열부 및 고효율 적외선 복사체
- 시운전 및 문제점 보완을 통한 장치의 최적 공정 확립
- 원적외선 복사처리에 의한 녹차의 생리활성 조사
 - 녹차의 생리 활성 물질 측정법 확립
 - 원적외선 처리된 녹차의 생리 활성 성분 조사
 - 다양한 유기용매에 의한 녹차 추출물의 제조 및 성분 조사
 - 원적외선이 녹차 추출물의 기능성에 미치는 영향
 - 원적외선 처리된 녹차 추출물의 이용분야 개발

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가. 녹차 제조 공정 단계별 원적외선 조사 처리 효과 규명

예비 실험으로 시판 녹차 제품에 원적외선 조사 (유효 파장 2-14 μ m)효과를 살펴본 결과 피사체의 온도와 조사 시간에 따라 침출율에 큰 차이가 있음을 밝혔다. 즉, 녹차 잎의 가열온도 120 $^{\circ}$ C에서 10분 및 20분간 조사 하였을 경우 무처리 구에 비해 10분 조사 처리구는 총 flavanol, catechin류의 추출율이 증가하는 반면에 20분간 조사한 처리구는 감소하

였고, 추출액의 DPPH 라리칼 소거능도 같은 경향을 나타내었다.

예비실험 결과 조사 온도와 시간의 최적화를 위하여 신선 녹차잎을 수확하여 230-280℃에서 5-10분간 덥은 후, 손으로 비벼 유념과정을 거치고, 수분함량이 3-5 % 되도록 하는 일련의 기존 녹차 제조공정으로 가공·제조한 녹차에 원적외선을 80 ~ 150℃의 조사 온도에서 10분간 조사 처리하여 증류수로 추출하여 총 페놀함량, 총후라바놀 함량의 변화 및 아질산 소거능을 분석한 결과 90℃에서 10분간 조사처리 한 경우 총 페놀 및 총 후라바놀이 대조구에 비하여 약 50%이상 증가하였고, 그이상의 온도에서는 약간 감소하는 경향을 나타내었다. 아질산 소거능은 110℃에서 원적외선을 조사하였을 때 가장 높은 값을 나타내었다. 즉, 녹차 완제품에 90~110℃온도에서 10분간 원적외선 조사는 녹차 추출물의 카테킨 함량 과 아질산 소거능을 향상시키며 색도에는 큰 영향을 주지 않는 것을 확인 하였다. 이러한 결과는 원적외선 조사가 녹차의 건강 유익성을 향상시키는 가공방법으로 응용 될 수 있음을 의미한다.

덥음 녹차의 일련 가공단계별 원적외선 조사 처리 효과를 살펴보기 위하여 기존의 덥음 녹차 제조공정, 즉 200 - 300 ℃에서 3-4분 덥고, 5분간 손으로 유념한 후, 건조시켜 수분함량이 3- 5%되도록 하는 일련의 제조공정 각 또는 복합 단계에 원적외선 처리 공정으로 대체하여 원적외선 처리 녹차를 제조하여 효과를 측정하였다. 즉, 기존 건조 완제품에 90℃에서 10분 간 처리한 GTP 1, 덥음 과정을 같은 온도와 시간의 조건으로 조사 처리한 후 기존 유념 및 건조과정을 거쳐 제조한 GTP2, 덥음과정을 원적외선 조사 처리하고, 최종 가공된 건조제품에 원적외선 조사 처리한 GTP3, 건조과정에서 만 원적외선 조사 처리한 GTP4, 덥음과 건조과정에 복합 원적외선 조사 처리한 GTP5 및 GTP5의 가공품에 90℃에서 10분간 원적외선 처리한 GTP6등 기존 제조공정 단계별로 원적외선 조사처리를 달리한 6종의 원적외선 처리구와 기존 공정으로 제조된 대조구 추출물의 특성변화를 살펴본 결과, 대조구에 비하여 총 페놀 및 총 후라바놀 함량이 증가하였으나, 상대적으로 덥음 과정에서의 원적외선 조사 처리 경우가 건조과정에서 처리한 경우보다 추출 량의 증가가 현저하였다. 그리고 완제품에 원적외선 조사도 추출율을 향상시키는 결과를 나타내었다. 즉, 덥음과정 및 기존방법으로 유념 건조된 건조 제품에 90℃에서 10분간 원적외선 조사 처리한 GTP3의 경우 카테킨과 에피 카테킨의 추출율을 크게 향상시켰고, 추출물의 아질산 소거능을 향상시키는 효과를 나타내었다. 결론적으로 녹차의 제조공정에서 덥음공정을 워닉외선 조사로 대체하고, 건조완료 후 90℃에서 10분간 추가로 원적외선 조사처리를 병행하면 녹차의 카테킨 함량과 아질산 소거능을 향상시키며 색도에는 영향을 주지 않는 것을 확인 하였다.

나. 현장용 원적외선 복사 처리 장치 개발 및 현장 운영 실험

실험용 전처리장치의 주요부품인 원적외선 방사체는 녹차의 주요 생리활성 물질인 에피카테킨의 B ring의 hydroxyl group의 신축운동을 유발하는 $4.5\mu\text{m}$ 흡수과장 및 변각진동을 유발하는 $9\mu\text{m}$ 흡수과장 및 물의 OH에 의한 3 및 $6\mu\text{m}$ 흡수과장을 최대 방사과장으로 하는 방사체를 선정하였다.

High-nickel 내열강 표면에 코팅한 ceramic 재질에 의하여, 가열된 Magnesia에서 방사된 원적외선을 흡수한 후, 균형있게 방사하는 것을 특징으로하는 세라믹형 방사체로써, 가열온도에 따라 최대 방사과장이 변하여 450°C 가열온도에서의 최대 방사과장은 $4.14\mu\text{m}$, 550°C 에서 $3.57\mu\text{m}$, 650°C 에서 $3.14\mu\text{m}$ 이며, 600°C 의 가열온도에서 평균방사율이 0.85 이며, 특히 $7\sim 9\mu\text{m}$ 과장 영역에서는 0.96 방사율을 갖는 것을 특징으로한다.

방사체에서의 거리에 따라 주위 가열온도는 40mm 거리에서 350°C , 60mm 에서 260°C , 100mm 에서는 180°C 를 이루는 것을 특징으로 한다. 세라믹 방사체의 규격은 가로 200mm 세로 200mm 정사각형으로, 전기용량은 600W 이다. 6.1 W/cm^2 의 Radiation Emission을 나타낸다.

Ceramic plate 원적외선 방사체 (규격 $250 \times 250\text{ mm}$) 4장을 일렬로 하는 처리기를 직경 600mm 길이 1800mm 의 rotary형 덩음장치 내에 장착시키는 원리로 설계하여 한번에 $20\sim 50\text{ KG}(300\text{ L})$ 의 생엽을 처리할 수 있는 처리 장치를 제작하였다.

각 방사체는 발열체 표면 온도를 조절하는 조절기를 부착하였고, 약 1.5M 에 일렬로 배열하여 드럼형 제다기의 중앙에 장착할 수 있도록, 방사각 및 높이를 현장에 맞게 조절할 수 있는 기능을 갖도록하였다. 본 연구에서 새로이 제작되어 녹차 가공에 이용한 원적외선 방사체 히터는 기존의 녹차 덩음기에 삽입되어 이용할 수 있도록 설계되었으며, 온도가 조절 가능하게 되어 있다.

신선한 고차잎을 수확하여 전통적인 덩음 차 제조 과정- 덩음, 유념, 건조 -을 거쳐 가공하였다. 이 과정에서 가열 공정에 원적외선 히터를 이용하여 원적외선을 조사하였다. 전통적인 방법의 제조 과정을 거친 대조구와 공정 단계 별로 원적외선을 응용한 3가지 녹차를 다음과 같이 제조 하였다.

Control: 전통적인 방법에 따라 250°C 에서 25분간 덩고, 180°C 에서 15분간 건조하였으며 유념과정을 거쳤다. 이러한 과정을 2회 반복한 후 100°C 에서 40분간 건조하여 수분 함량이 $3\sim 5\%$ 되도록 하였다.

FIR Irradiated Green Tea 1 (FG 1): 대조구 가공의 덩음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

FIR Irradiated Green Tea 2 (FG 2): 대조구 가공의 건조 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

FIR Irradiated Green Tea 3 (FG 3): 대조구 가공의 덪음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하고, 최종 가공된 녹차 잎에 다시 300℃에서 15분간 원적외선을 조사하였다.

현장에서 제조된 녹차의 특성을 살펴본 결과 전향에서 살펴본 것과 같이 덪음과정과 건조후 처리한 FG3가 가장 효과적임을 알 수 있었다. 즉, 본 연구결과 원적외선 조사가 녹차잎에 함유된 폴리페놀 화합물의 유리화를 촉진하며, 특히 녹차잎의 가공 공정에서 덪음 공정과 완제품에 대한 원적외선 조사가 매우 효과적임을 확인한 바 있다. 이러한 사실을 바탕으로 현재 녹차잎 가공에 이용되는 드럼형 덪음 장치에 응용될 수 있는 막대형 원적외선 조사 장치를 제작하여 기존의 장치에 응용한 결과 이전과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 이것은 기존의 가공 장치를 변형하지 않고 간단한 원적외선 장치를 추가 제작함으로써 본 연구결과를 실용화할 수 있음을 의미하며, 본 연구 결과의 산업화에 중요한 밑받침이 된다. 결론적으로 본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치는 기존의 녹차 가공 장치에 도입되어 녹차의 품질 향상을 가능하게 하였다. 이로써 기존의 녹차 제조 장치에 큰 부담 없이 원적외선 조사 장치를 응용하여 새로운 고품질 녹차를 제조할 수 있었다.

다. 원적외선 처리가 녹차 추출물 소재의 기능성 향상 효과

원적외선을 조사하면 녹차의 항산화활성이 우수하여 닭고기의 산화를 억제하는 효과가 높음을 확인하였다. 호기적인 조건에서 저장기간이 증가할수록 전체적으로 지방의 산화가 급속히 증가하여 조리된 닭고기의 단백질을 변성시켰으나, 3일째를 보게 되면, 대조 녹차의 에탄올 추출물을 첨가한 닭고기가 대조구보다 TBARS 값을 56.1%까지 낮추었으며, 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물을 첨가한 닭고기는 대조구보다 TBARS 값을 47.9%까지 낮추면서 지방의 산화를 억제하였다. 닭고기의 저장에 있어서 휘발성 물질의 생산을 방지하는 것은 아주 중요한 문제이다. 대조 녹차 및 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물은 효과적으로 알데하이드기 휘발성 물질(hexanal과 heptanal)의 생산을 억제하였다. 무처리구인 대조구 닭고기는 저장기간이 증가함에 따라 총 휘발성물질의 양은 급격히 증가되었으나, 하지만 그에 반해 녹차의 에탄올 추출물이 첨가된 닭고기의 경우 대조구보다 총 휘발성물질의 생성량이 억제되었고 저장 3일째에는 대조구의 45.0% 수준으로 총 휘발성물질 생산량을 감소시켰다. 원적외선 조사 녹차 추출물이 첨가된 닭고기의 경우 대조 녹차보다 총 휘발성물질의 생성량을 억제시켰고 저장 3일째에는 대조구의 40.9%수준으로 총 휘발성물질 생산량을 감소시켰다. 이상의 결과에서 원적외선 조사된 녹차는 대조 녹차에 비해 닭고기에 첨가되었을 때 더 우수하게 지방의 산화를 억제하여 휘발성 물질의 생산을 감소시켰다.

본 과제에서 연구하고 있는 대조 녹차와 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과, 대조구 녹차 추출물은 71.26%의 효소 저해능을 보이지만, 원적외선을 조사한 녹차의 추출물은 79.73%의 저해능을 보임으로써 더 우수한 효소 저해능을 나타내었다. 이로써 녹차 추출물을 화장품의 미백효과를 위하여 첨가될 때 원적외선 조사가 효율적임을 확인할 수 있었다.

각 녹차 추출물이 대장암 HT-29세포주의 형태학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 inverted microscope로 세포형태를 관찰한 결과, 대조구(A)는 암세포가 조밀하게 정상적으로 성장하는데 반해 각각 추출물을 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 세포는 결속력이 감소되어 세포 주위가 흐트러지고 세포가 응축되어 사멸된 것을 관찰할 수 있었다. 원적외선 처리된 녹차의 추출물(C)은 일반 녹차 추출물의 경우(B)와 크게 세포의 응축과 세포수의 감소가 일어남으로 해서 암세포 성장 억제효과에 대한 활성이 가장 높음을 확인할 수 있었다.

즉, 형태학적인 변화에 따라 각 용매에 대한 추출물의 항암효과를 조사하기 위해 MTT reduction assay 방법을 이용하여 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 암세포 성장 억제효과를 확인한 결과, 녹차 추출물을 10, 50, 100, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 각각 처리하였을 때 일반 녹차 추출물의 경우 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 66.1%의 약한 활성을 보이는 반면, 원적외선 처리된 녹차 추출물의 경우에는 46.3%의 강한 항암활성을 보였다. 특히 형태학적 변화의 결과와 비교하여 원적외선 처리된 녹차의 추출물은 상대적으로 우수한 항암 활성을 가지고 있다는 것을 알 수 있었다.

SUMMARY

Green tea (*Camellia sinensis*), which is a widely consumed drink, has received much attention due to the beneficial biological effects attributable to its excellent antioxidant activity. The catechins, the main polyphenol antioxidants of green tea, are composed of a family of four major substances, epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin (EGC), epigallocatechingallate (EGCG) and four minor catechins, catechin (C), catechin gallate (CG), galocatechin (GC) and galocatechin gallate (GCG) as epimers of the major catechins. ECG and EGCG are the most abundant catechins, having similar gallate structures and efficient radical scavenging abilities. Therefore, ECG and EGCG were accepted as markers of the quality of green tea extract. These catechin compounds have been proven to be a variety of physiological functions, such as those affecting duodenum, colon, skin, lung, breast, esophageal, pancreatic and prostate cancer. As a rich source of tea catechins, green tea or green tea extract has nowadays been applied in a wide range of products, such as toiletries, cosmetics, foods, and beverages.

In the past years, industries and governmental research institutes have tried to find out practical ways to produce highly pure catechin compounds. Far-infrared (FIR) radiation are known to liberate and activate low molecular weight natural antioxidant. FIR rays are defined as electromagnetic waves having a wavelength of longer than 4 m but shorter than microwaves (> 0.1 cm). FIR rays are biologically active and transfer heat to the center of materials evenly, without degrading the constituent molecules of surface. Recently, it was reported that FIR irradiation on green tea leaf product significantly affected the chemical quality of green tea.

In this study, we applied FIR-heater during processing of green tea leaves, and determined chemical characteristics and quality of green tea, especially, on catechins and antioxidant activity of green tea extracts.

A green tea processing apparatus with FIR radiators, which was modified with a conventional green tea processor, was fabricated to investigate effects of FIR radiation on green tea quality. The temperatures of gas burner and FIR radiator in this device were separately controlled. Fresh tea leaves (*Camellia sinensis*) were harvested in June 2005 at Bosung, Korea. The leaves were roasted to inactivate enzymes by pan firing (230–280C for 5–10 min), and then the leaves were rolled by hand. Finally, the leaves were dried to a moisture content of 3–5%. The green tea leaves irradiated by FIR heater during processing were divided into three groups according to their manufacture process. In the type A process, FIR treatment was added during roasting, and twice FIR treatment were respectively

applied to roasting step and after the 1st cooling in type B process. In the type C process, meanwhile, a combination drying of conduction and FIR radiation was introduced during 1st drying.

Green tea extracts were obtained by soaking the leaves into water, and total phenolic contents (TPC), total flavanol contents (TFC), ascorbic acid contents (AAC), catechins, caffeine, nitrite scavenging ability (NSA) were determined. As a result, FIR heating significantly increased TPC, TFC, and AAC. For example, FIR heating at FG-3 (FIR irradiation combined with burning heating during roasting step and additionally applied after drying step) increased TPC of green tea from 116.30 to 171.77 mg/g, and TFC from 17.54 to 24.76 mg/g, compared to nonirradiated control. AAC also increased from 3.07 to 4.20 mg/g. HPLC analyses showed that the amounts of epicatechin gallate (ECG) and epigallocatechin gallate (EGCG) were significantly increased in FG-3 from 2.41 to 4.59 mg/ml and 20.61 to 28.54 mg/ml, respectively, compared with non-irradiated control. to than the other samples.

The quality of green tea leaves is reflected in the five major characteristics of bitterness, sweetness, astringency, umami, and aroma. Sweetness, umami, and aroma of green tea were enhanced by FIR irradiation, while bitterness and astringency were decreased in FG-2 and FG-3 compared with those of control. Among the green tea samples, FG-3 acquired superior points. Phenolic compounds were key elements and determined taste of green tea. The TPC of this study was in the order of FG-3 > FG-2 > FG-1 > control, and these results were exactly coincides with the order of overall taste of green tea.

These results showed that FIR heating during green tea processing affected chemical quality of green tea, and the application of FIR heater may be a good method to increase physicochemical characteristics of green tea.

The extracts from the irradiated green tea was able to apply as an ingredients of food antioxidant, cosmetics and anticancer substance.

The ethanol extracts from the irradiated green tea was showed better antioxidant activity than those from conventional green tea in chicken patty during storage at 4°C by monitoring the thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) and volatile compounds profile.

CONTENTS

(영 문 목 차)

Chapter I Introduction	1
Chapter II Trends in Technology	3
Chapter III Materilas, Methods and Results	5
1. Effect of FIR radiation on the antioxidant activity and catechin content of commercial green tea	5
2. Effect of FIR radiation on the quality of roasted green tea	11
3. Influence of FIR radiation application in the proceesing step of green tea.....	21
4. Pilot Scale Trials of FIR Radiation Apparatus with Roaster	32
5. Comparison of the various functional characteristics of Extracts from conventional and FIR radiated green tea	46
Chapter IV Achivement	59
Chapter V Recomendation	60
Chapter VI References	61

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요.....	1
제 2 장	국내외 기술개발 현황.....	3
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과.....	5
제 1 절	원적외선 처리가 시판 녹차의 항산화능과 카테킨 함량에 미치는 영향.....	5
1.	연구개발 내용 및 방법	5
2.	연구개발 결과 및 고찰	6
가.	총 프라바놀 함량 측정	6
나.	라디칼 소거능	7
다.	카테킨 함량 분석	7
제 2 절	원적외선 처리가 덤음 녹차의 성분과 품질에 미치는 영향	11
1.	연구개발 내용 및 방법	11
가.	녹차 잎 가공 및 원적외선 조사	11
나.	녹차시료의 제조	11
다.	녹차의 품질 특성 분석 방법	11
2.	연구개발 결과	12
가.	총 페놀 및 총 프라바놀함량	12
나.	카테킨 및 카페인 함량	13
다.	색도 분석	17
라.	아질산 소거능	18
제 3 절	덤음 녹차의 각 제조공정에서 원적외선 응용 효과	21
1.	연구개발 내용 및 방법	21
가.	녹차잎의 가공 및 원적외선 조사	21
나.	녹차 시료의 제조	22
다.	녹차 품질 특성 분석 방법	22
2.	연구개발 결과	25
가.	TPC, TFC, AAC	25
나.	카테킨 및 카페인 함량 변화	25
다.	아질산 소거능	27
라.	색도 분석	27

제 4절 제작한 원적외선 기기의 녹차 가공에 응용	32
1. 연구개발 내용 및 방법	32
가. 원적외선 방사체	32
나. 녹차 잎에 원적외선 조사 처리 및 가공.....	33
다. 녹차 시료 제조	33
라. 녹차 품질 특성 분석 방법	35
2. 연구개발 결과	39
가. DPPH 라디칼 소거능 등	39
나. 카테킨 및 카페인 함량	40
다. 아질산 소거능	41
라. 관능검사	41
제 5절 원적외선 처리 녹차잎 추출물 응용 효과	46
1. 연구개발 내용 및 방법	46
가. 녹차 추출물의 제조	46
나. 식품 항산화제 효능 측정방법	46
다. Tyrosinase 저해 활성 측정	47
라. 인공세포계 에서의 항암효과 측정	48
마. 통계처리	49
2. 연구 개발 결과	49
가. 닭고기 저장중 항산화 효과	49
나. Tyrosinase 저해 활성	55
다. 모델계에서 항암효과 측정	58
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	59
제 5 장 연구개발결과의 활용계획.....	60
제 7 장 참고문헌	61

제 1 장 연구개발과제의 개요

가. 연구개발의 필요성

녹차의 제조공정은 증열기에서 세포의 활동을 정지시키기 위하여 익힌 후 급냉하여 조유기에서 차잎 속부터 수분을 건조시킴과 동시에 차잎 표피 부분을 파괴시킨다. 유념기에서는 조유과정에서 표피 파괴가 덜된 차 잎에 표피를 파괴함과 동시에 차 잎속의 수분을 차 잎 밖으로 배출 시키면서 차잎의 형상을 잡아준다. 중유기에서 배출되는 차잎의 수분함량은 11% 내외로 이를 재건기에서 수분함량 3 - 4 %로 건조하는 공정으로 이루어진다.

차잎에 함유되어 있는 산화효소(polyphenoloxidase, peroxidase등)을 98℃에서 25 초 정도의 증기처리로 불활성화 시키고, 1차건조에서는 차잎의 수분함량을 80%에서 60% 낮추는 공정으로, 차잎의 성숙도에 따른 조직의 견고성 및 수분함량을 균일하게 하기 위한 건조공정으로, 건조속도(증발속도)와 공급하는 열과의 균형이 필수이며 품온이 40℃이상으로 상승하는 것을 피하여야 한다. 1차건조 공정후의 유념(비비기) 공정의 목적은 건조의 불균일을 방지하기 위한 것으로, 차잎이 덩어리지거나 뭉쳐진 것을 펴주는 공정이며, 이 때 차잎의 세포가 파괴되어 세포내 원형질 성분이 세포막 밖으로 빠져나와 섬유질 등에 부착건조가 일어나게 유도하는 작용도 중요하다.. 2차 건조는 유념(비비기)이 끝난 수분함량 60%인 원료 차잎을 수분함량이 약 33%에 이르기까지 건조하는 공정으로 다음 정형공정을 위하여 고른 수분함량(33%)을 갖도록 하는 것이 중요하다. 3차 건조는 정형조작이 주목적으로, 차입에 일정한 압력을 가하여 세포내 원형질이 분산되어 있는 지를 확인하는 단계이며 수분함량은 11% 내외까지 건조된다. 다음 저장성을 확보하기 위하여 최종 수분함량 3 - 4 % 전후까지 건조하는 것으로 가열 향의 생성을 수반하기도 하나 일반적으로 열풍의 온도가 70℃를 넘지 않도록 한다. 이상에서 살펴본 녹차의 제조공정은 차잎의 산화효소의 열불활성화와 세포내 원형질의 차 성분을 수분과 함께 세포막 밖으로 배출시키면서 건조하여 차를 다릴 때 차 성분이 쉽게 골고루 우려 나오게 하는 것이 주요 기법이라 할 수 있다.

즉, 녹차의 제조공정은 처음 볶음 및 증자에 의하여 산화효소등을 실활 시키고, 원료 차잎(수분함량 80%)을 건조하여 수분함량 3 - 5 % 내외로 건조하는 공정이라고 할 수 있다. 이 때 차 성분이라 할 수 있는 세포내 원형질 성분을 수분과 함께 차잎의 세포막 밖으로 배출시켜 섬유소등의 표면에 부착하여 균일하게 건조할 수 있어야 차의 성분이 다릴 때 쉽게 우려날 수 있어, 일반적으로 건조를 몇 단계로 나누어 수분함량에 따른 증발량과 균형을 이루는 열 공급량이 조절을 통한 균일한 건조가 차잎 건조공정에서 무엇보다도 중요하다 할 수 있다.

한편, 적외선은 인간의 눈으로는 인식할 수 없는 전자파로서, 가시광선보다 파장은 길고, 진동수가 높은 전자파이며, 근적외선(가시광선에 가까운 부분으로 파장이 0.83 ~ 2.5 μ m), 중적외선(2.5 ~ 5 μ m) 및 원적외선(5 ~ 1000 μ m)으로 구분된다.

물 군집(Cluster) 및 많은 유기물은 원적외선과 중적외선 영역 안에서 각각 흡수특성을 가지고 있다. 그러므로, 차잎의 원적외선 방사체에 의한 처리는 녹차 잎의 주요 생리활성

성분의 흡수과장과 일치하는 고효율 적외선 복사체가 내는 중적외선 및 원적외선에 의하여 공명효과에 의하여 주요 성분의 세포밖으로의 배출을 유도하여 이들 물질의 추출이 용이할 뿐만아니라, 균형 잡힌 건조속도로 조절이 용이하여 기능 활성을 향상시키는 효과를 기대할 수 있으므로, 녹차의 부가가치를 향상시키기 위하여 필히 개발되어야 할 기술이라고 생각된다.

국내 녹차 생산량은 건엽으로 연간 약 1,500 톤이 생산되고 있으며, 금액으로는 500 억원에 이른다. 건엽의 약 80%가 Tea bag 형의 제품으로 출시되고 있으며, 가공제품 형태 음료등의 제품의 생산은 미미한 현황이다. 이에 목적인 기술이 성공적으로 개발된다면 녹차 가공품의 필수 원료인 녹차 추출물의 기능성 성분이 향상되어 가공제품을 통한 녹차의 시장성 및 상품성 크게 제고될 것이다.

녹차 및 녹차 가공품은 우리 나라에서도 근래 다윈이 확보되어 크게 신장될 품목이지만, 일본등에 밀려 그 동안 기술개발 노력 부족과 중국, 기술향상으로 시장성장에 한계가 있는 것으로 인식되어 왔음. 이를 타개하기 위하여서는 우수한 차잎을 원료로하여 값이 저렴하고 편이성이 강조된 가공제품을 개발하여 보급할 수 있는 기술 개발이 시급하다 하겠다.

즉, 녹차의 건강 기능효능을 십분 발휘하기 위해서는 약리효능 성분의 추출이 단시간내에 이를 수 있는 전처리 개발과 전처리에 의하여 추출효율이 증가할 뿐 아니라 전처리 녹차를 원료로하여 제조된 녹차 가공소재의 약리효능을 과학적이고 체계적으로 입증하는 일이 필요하다고 생각된다.

나. 연구 목적 및 내용

녹차의 생리활성 효과를 증진시키는 원적외선 복사 시스템을 설계/제작하여 녹차의 생리활성 물질의 추출율등을 향상시키고, 처리한 녹차를 이용한 가공제품의 소재를 개발함을 목표로 함.

위 목표를 위하여 다음과 같은 내용의 연구를 수행하였다.

- 고효율 적외선 복사체 처리 시스템의 설계 및 제작.
 - 가열부 및 고효율 적외선 복사체

- 시운전 및 문제점 보완을 통한 장치의 최적 공정 확립

- 원적외선 복사처리에 의한 녹차의 생리활성 조사
 - 녹차의 생리 활성 물질 측정법 확립
 - 원적외선 처리된 녹차의 생리 활성 성분 조사
 - 다양한 유기용매에 의한 녹차 추출물의 제조 및 성분 조사
 - 원적외선이 녹차 추출물의 기능성에 미치는 영향
 - 원적외선 처리된 녹차 추출물의 이용분야 개발

제 2장 국내 외 기술개발 현황

· 녹차는 Camellia과의 Teaceac종에 속하며, 커피, 코코아 및 홍차와 함께 카페인을 함유한 비알코올성 기호음료로서 소비가 점차 증대되고 있으며, 현재 논가체 대한 여러 가지 기능이 과학적으로 규명됨에 따라 기능성 식품으로서 그 가치가 재평가되고 있다. 녹차의 polyphenol류는 catechin으로 알려진 flavonols, flavandiols, flavonoid, phenolic acid를 포함한 flavanol류dlsep 과산화 지질의 생성을 억제하여 노화를 지연시키며, 혈청 중의 지질 농도를 저하시켜 중성 지질의 생성을 억제함으로써 비만을 방지하고 모세혈관의 저항력을 증진시킨다. 또한 녹차는 생체 내에서 암발생을 저하시키고 산화방지 효과가 있으며, 특히 녹차에 함유된 epigallocatechin gallate가 주 효능물질임이 밝혀졌고 항산화 활성이 강하여 식용유지 및 식품의 보존에도 사용되고 있다.

· 녹차의 경우와 마찬가지로 식물에 존재하는 천연 항산화 물질은 대부분 폴리페놀 계통의 화합물로서, 이들 식물 유래 천연 항산화 물질은 생산 및 추출이 용이하여 향후 식품, 의약품, 화장품 등에 널리 이용될 것으로 기대된다. 본 과제 신청자는 지난 몇 년에 걸쳐 천연물 유래 항산화 물질에 관심을 갖고 연구를 해 왔다. 각종 천연물에 존재하는 항산화 물질의 특성 및 가공 방법을 조사하여 논문을 발표하였으며(3-8), 각종 기능성 소재를 첨가한 식품의 개발도 수행하였다(9-18). 지금까지의 연구결과로서 식물 유래 폴리페놀성 천연 항산화 물질은 처리 방법에 따라 추출 효율이 달라지며, 원적외선을 처리하였을 때 이러한 물질들이 다량으로 증가되어 추출되는 것을 발견하였다.

· 농산 가공 부산물인 왕겨를 대상으로 원적외선을 처리하여 메탄올 추출물을 제조한 후, 항산화 능력의 측정 및 추출된 천연 항산화 물질을 분석한 결과를 나타내었다. 여기에서 알 수 있듯이 원적외선을 30분 처리하였을 때, 총 페놀 함량은 처리하지 않은 경우와 비교하여 0.12mM에서 0.19mM로, DPPH 라디컬 소거능은 47.7%에서 79.6%로, Fig. 1(C) 지질 과산화 억제능은 41.1%에서 48.0%로 각각 증가하였다. 대조구로서, 원적외선 대신 100°C 건조기에서 열을 가하였을 때는 거의 변화가 일어나지 않았다. 또한, Fig. 2에서처럼 GC/MS를 이용하여 그 성분을 분석한 결과, 원적외선을 처리하였을 때 더 많은 페놀 화합물(*p*-coumaric acid, 3-vinyl-1-oxy benzene, *p*-hydroxy benzaldehyde, vanillin, *p*-hydroxy benzoic acid, and 4,7-dihydroxy vanillic acid)이 발견되었다.

· 이러한 연구 결과는 식물체에 공유결합되어 있는 폴리페놀성 기능성 물질이 원적외선 처리에 의해 유리되며, 이로 인해 식물 고유의 생리활성 기능이 향상될 수 있음을 의미한다. 따라서, 본 연구에서는 폴리페놀성 물질이 주된 기능성 물질인 녹차의 건조 공정에 일반적인 건조기 대신 원적외선이 방출될 수 있는 소재로 건조기를 제조하여 녹차의 영양성 및 품질을 향상시키고자 한다.

· 아울러 녹차의 주요 생리활성 물질인 항산화 물질은 산화를 억제하는 물질로서, 식품분야에서는 산화에 의해 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 식품의 변색을 방지하거나 지연할 수 있는 기능을 가진 화합물을 총칭한다. 한편, 항산화 물질은 각종 성인병의 원인이 되는 과도한 활성 산소를 체내에서 제거할 수 있으므로 식품, 의약품, 화장품 산업 등에서 주목받는 소재이다. 따라서, 원적외선을 처리하여 생리 활성 능력이 강화된 녹차로부터 각종 유기용매를 이용하여 추출물을 제조하여 식품 및 화장품, 의약품에의 응용성도 연구될 것이다.

녹차는 우리나라에서 기호성이 큰 음료로서, 근래들어 생리활성 기능이 규명되면서 점차 시장이 확대되고 있다. 아울러, 유효 성분을 추출하여 각종 식품에 첨가하거나 화장품 및 의약품 성분으로 이용하고 있다. 이러한 관점에서 볼 때, 녹차의 기능성을 향상시킬 수 있는 가공 방법이 개발되면 녹차의 이용성 증대, 국민 건강에의 기여 및 녹차 재배 농가의 이익에 직결될 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 원적외선 처리가 시판 녹차의 항산화능과 카테킨 함량에 미치는 영향

1. 연구개발 내용 및 방법

가. 녹차 및 시약

실험에 이용한 시판 녹차는 관목형으로 중국 농업 과학원의 용정(龍井)이라는 품종으로 제조한 용정차를 구입한 후 사용하였다. (-)-Gallocatechin (GC), (+)-catechin (C), (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-gallocatechin gallate (GCG), (-)-epicatechin gallate (ECG), (-)-catechin gallate (CG), methanol (analysis grade), orthophosphoric acid는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 그 외의 시약들도 모두 분석용 이상을 구입하여 이용하였다.

나. 원적외선 처리 및 녹차 추출물 조제

녹차 2.0 g을 유리 페트리 접시(∅ 8.0 cm)에 놓고 원적외선 건조기(A-Sung Test Machine, Korea)를 이용하여 120℃에서 10분과 20분 동안 각각 처리하였다. 처리된 녹차 1.0 g을 80℃의 증류수 100 mL로 5분간 침출하여 Whatman No. 1 여과지에 여과하여 시료로 사용하였다.

다. 품질 측정 방법

flavanol 함량 : Price 등의 방법(16)을 변형하여 사용하였다. 즉, 8.0% methanol에 녹인 2.0% vanillin 시약 1.0 mL와 녹차 추출물 0.2 mL을 혼합하여 어두운 곳에서 20분 방치한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. (+)-Catechin을 표준물질로 하여 검량곡선을 작성하여 총 flavanol 함량을 계산하였다.

라디칼 소거능 측정: 녹차의 항산화력을 DPPH 라디칼 소거능으로 Blois(17)에 준하여 실시하였다. DPPH를 에탄올에 녹여 0.041 mM로 만들고 이 용액 1 mL을 녹차 20 μ L와 혼합하였다. 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능을 다음의 식으로 계산하였다.

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100]$$

Catechin 분석: Catechin 류의 분석에는 HPLC를 이용하였다(18). HPLC는 Shimadzu사 (Shimadzu, Kyoto, Japan)의 것을 이용하였는데, CTO 10AVP column oven, LC-6AD pump, SIL-10ADVP auto sample injector 그리고 SPD-10AVP UV/VIS detector로 구성되었으며, 210 nm에서 흡광도를 측정하였다. 칼럼은 Shim-pack CLC guard column(10×4 mm)이 결합된 Shimadzu Shim-pack VP ODS column 5 μm(250×4.6 mm)을 사용하였으며, 칼럼 온도는 40℃으로 고정하였다. 이동상의 용매 A는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in H₂O)이며, B는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in methanol)를 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min 이었고, 용매 구배는 0-5분 B용매 40%, 5-12분 B용매 40-50%, 12-27분 B용매 50%로 유지, 27-30분 B용매 50-20%, 그리고 30-35분 B용매 20-0%로 하였다.

통계처리: 데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS (Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests 로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다(19).

2. 연구개발 결과

가. 총 플라바놀 함량 측정

(+)-Catechin을 표준 물질로 하여 vanillin 시약을 사용한 총 flavanol 함량의 측정은 축합형 탄닌의 기본 구조를 하고 있는 flavan 3-ol (catechin)과 flavan 3,4-ols, catechin의 oligo 형태와 polymer 형태의 procyanidin, 함량을 측정할 수 있는 방법으로 알려져 있다(16). 원적외선 처리에 의한 녹차 추출물의 총 flavanol 함량 변화를 Fig. 1-1에 나타내었다. 녹차 추출물의 총 flavanol 함량은 원적외선을 10분 처리한 경우 160 mg/g로서 무처리구의 145 mg/g보다 15 mg/g 증가를 나타내었다. 반면, 원적외선 20분 처리구는 90 mg/g으로 대조구에 비해 55 mg/g 감소하였다.

Lee 등은 원적외선을 왕겨에 30분간 조사하면 페놀 함량이 0.12 mM에서 0.20 mM로 증가하였으며, 원적외선 처리를 통해 중합체의 polyphenol을 유리시킬 수 있다고 보고하였으며, 100℃의 일반 발열체는 영향을 미치지 않았다고 보고하였다(15). 그러나, Nebesny와 Budryn은 커피에 마이크로 웨이브 (750W)와 발열체 (230℃)를 처리하였을 때 무처리구 (7.15 g/100 g)에 비해 마이크로 웨이브는 2.19 g/100 g으로, 발열체는 2.07 g/100 g으로 각각 페놀 함량이 감소하였다고 보고하였다(20). 이는 대상 식물체에 따라 유용 물질을 유리시키는 방법의 차이가 있음을 의미한다.

나. 라디칼 소거능

원적외선 처리에 따른 녹차 추출물의 전자 공여능을 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. DPPH는 안정한 라디칼로서 환원되면 짙은 자색이 탈색됨으로써 항산화 물질의 수소공여능을 측정하는데 널리 이용되고 있다(17). 원적외선을 10분간 처리한 녹차 추출물의 경우 62.57%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, 무처리구의 61.58%에 비해 약간의 증가를 나타내었다. 그러나, 원적외선을 20분간 처리한 경우에는 59.98%로서 무처리구에 비해 조금 감소하였다. 녹차추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 총 flavanol 함량의 변화(Fig. 1-2)와 비슷한 경향을 나타내었는데, 이는 녹차 내의 flavanol 함량과 녹차의 라디칼 소거능과 밀접한 관계가 있음을 시사한다.

다. 카테킨 함량 분석

원적외선 처리에 따른 녹차 추출물의 catechin류의 함량 변화를 Fig. 1-3에 나타내었다. 원적외선을 처리하지 않은 녹차 추출물에서는 epicatechin류[EGC(76.66 mg/g), EGCG (23.89 mg/g), EC (9.98 mg/g), ECG (10.63 mg/g)]가 다른 처리구들보다 높은 함량을 나타내었고, 반면 원적외선 10분 처리시의 경우 GC (14.49 mg/g), C (3.11 mg/g), GCG (10.49 mg/g), CG (2.97 mg/g)과 같은 catechin류의 함량은 다른 처리구들보다 증가하였다. 그러나, 원적외선 20분 처리 시에는 epicatechin류, catechin류 모두 감소하였다. 즉, 원적외선을 처리함에 따라 먼저 epicatechin류가 감소하며 catechin류의 함량이 증가하다가 시간이 지나면서 catechin류의 함량도 감소하는 경향을 보였다.

Catechin류는 구조적으로 안정한 구조를 가지고 있는 C-2,3 trans이고, epicatechin류는 구조적으로 불안정한 C-2,3 cis 구조를 가지고 있다. Wang 등은 일반적인 녹차 추출물의 EGCG는 0.5474 mg/mL이지만, 이 추출물을 121°C에서 1분간 가열 처리하면 0.2570 mg/mL로 감소하고 이를 50°C에서 12일간 저장하면 0.0717 mg/mL로 감소한다고 보고하였다(18). 그러나, EGCG의 epimer인 GCG의 함량은 비열 처리인 경우 0.0097 mg/mL에서 가열처리 후 0.0725 mg/mL로 증가하였다. 따라서, 본 연구에서도 원적외선을 처리하였을 때의 온도가 120°C이므로 epicatechin류가 이성질체인 catechin류로 전환되며, 원적외선 처리 시간이 길어지면 catechin류의 분해가 유발되어지는 것으로 생각된다.

녹차의 활성화에는 epicatechin류가 매우 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었지만(6,21), 본 연구에서는 원적외선 처리에 의해 감소하는 것으로 조사되었다. 그러나 전체적인 flavanol 함량과 항산화능은 원적외선을 10분간 처리하였을 때 무처리구에 비해 증가하였다. 따라서, 향후 녹차의 각 가공 공정 및 녹차 완제품에 대한 다양한 원적외선의 처리로 녹차의 품질을 향상시키는 연구가 지속되어야 할 것으로 사료된다.

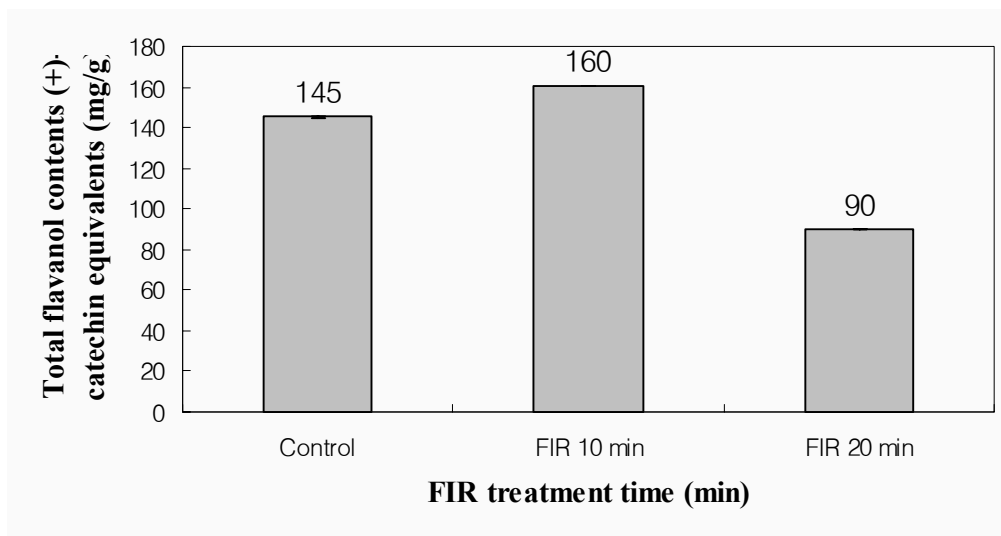


Fig. 1-1. Effect of far infrared (FIR) treatment on the total flavanols contents of green tea water extracts. Total flavanols were expressed as (+)-catechin equivalents in dried green tea. Error bars represent standard deviation of mean of three values. All values were compared by Newman-Keul's multiple range tests at $P < 0.01$.

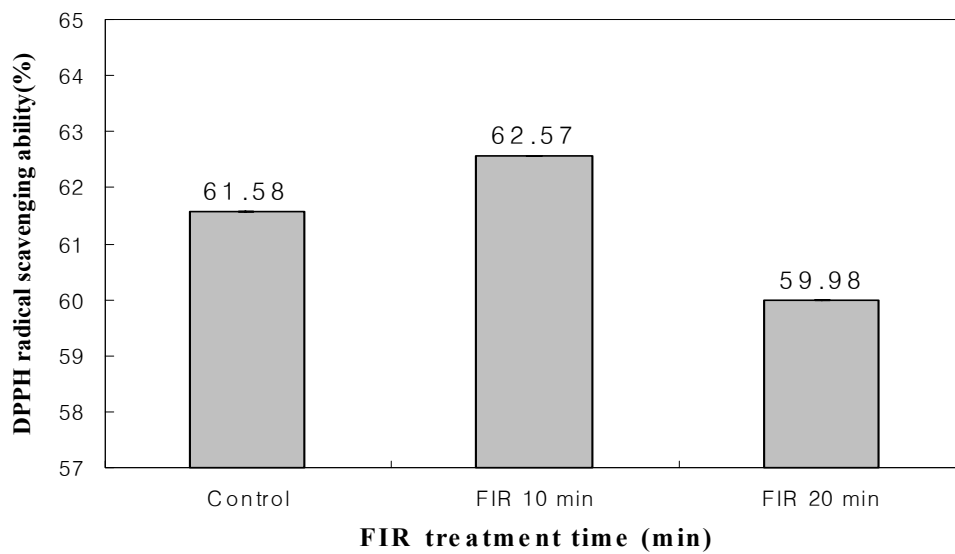


Fig. 1-2. Effect of far infrared (FIR) treatment on the DPPH radical scavenging ability (RSA) of green tea water extracts. Error bars represent standard deviation of mean of three values. All values were compared by Newman-Keul's multiple range tests at $P < 0.01$.

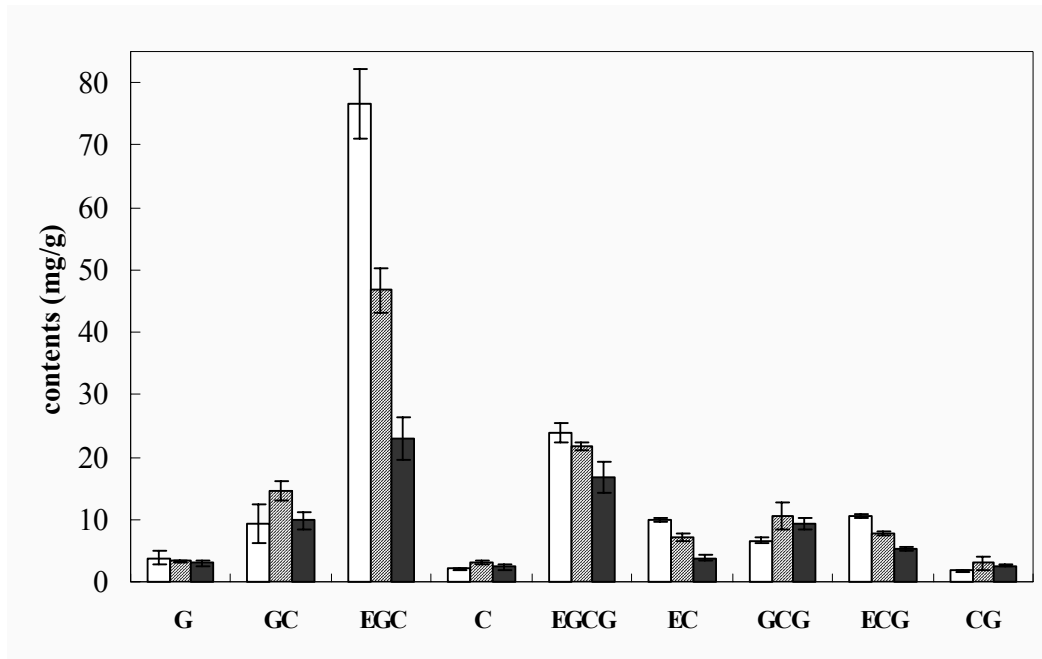


Figure 1-3. Effect of far infrared (FIR) treatment on the catechin composition of green tea water extracts. Each quadrangle indicates the green tea water extract from FIR treated for □, 0 min; ▨, 10 min; and ■, 20 min. Abbreviations mean; G, gallic acid; GC, gallocatechin; EGC, epigallocatechin; C, catechin; EGCG, epigallocatechin-3-gallate; EC, epicatechin; GCG, gallocatechingallate; ECG, epicatechingallate; and CG, catechingallate. Error bars represent standard deviation of mean of three values. All values were compared by Newman-Keul's multiple range tests at $P < 0.05$.

제 2 절 원적외선 처리가 덩음 녹차의 품질에 미치는 영향

1. 연구개발 내용 및 방법

가. 녹차잎의 가공 및 원적외선 조사

신선한 녹차잎(*Camellia sinensis*)을 보성에서 수확하여 이용하였다. 먼저 수확한 잎을 230 - 280℃에서 5-10분 동안 덩은 후, 손으로 유념과정을 거쳤다. 마지막으로 수분 함량이 3 - 5%가 되도록 건조하였다. 가공한 녹차 잎을 온도를 조절하며 원적외선을 조사하였다. 즉, 각 2.0 g의 가공된 녹차잎을 Pyrex petri dish (8.0 cm diameter)에 펼치고 2-14 μm의 파장을 방출하는 원적외선 히터 (35 ×10 cm, output 300 W, Hakko Electric Machine Works Co., Ltd, Nagano, Japan)가 장착된 원적외선 건조기 (A-Sung Machine, Korea)에서 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150℃에서 10분간 원적외선을 조사하였다. 시료는 조사되는 동안 360° 회전되도록 하여 골고루 조사되도록 하였고, 녹차와 원적외선 히터 사이의 거리는 14±1 cm가 되도록 하였다. 조사 후에는 녹차잎을 상온에서 식혔고 곧바로 녹차를 제조하였다.

나. 녹차 시료 제조

녹차잎 1.0 g을 끓는 100 mL의 증류수로 10분 동안 상온에서 추출하였다. 추출물(녹차)은 Whatman No. 1로 여과하여 다음 실험에 이용하였다.

다. 녹차의 품질 특성 분석 방법

총페놀 함량 (Total Phenolic Contents, TPC) : 총 페놀 함량은 Gutfinger(34)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 녹차 물 추출물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃용액 1 mL를 가한 후 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 1 mL를 가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 5분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상정액 1 mL를 취하여 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Tokyo, Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg/g 단위로 나타내었다.

총 플라바놀 함량 (Total Flavanol Contents, TFC): 총 플라바놀 함량은 카테킨을 표준물질로 이용하여 vanillin 방법(35)으로 측정하였다. 즉, 녹차 물 추출물 1 mL를 취하여 2.0% vanillin (8.0% methanolic HCl)용액 5.0 mL를 가하여 20분간 상온에서 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. (+)-카테킨을 표준물질로 하여 검량곡선을 작성하여 총 플라바놀 함량을 계산하였다.

. 색도측정 : 녹차의 색도는 색차계 (Chromameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japan)에 CR-200을 장착하여 측정하였다(37). 측정 전에 백색 타일로 표준화한 후에 Hunter color *L*(lightness), *a*(redness), *b*(yellowness)값을 3회 반복 측정하였다.

. 카테킨 분석 : 카테킨(catechin)류의 분석에는 HPLC(Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며(38), 이는 CTO 10AVP column oven, LC-6AD pump, SIL-10ADVP auto sample injector 그리고 SPD-10AVP UV/VIS detector로 구성되었으며, 210 nm에서 흡광도를 측정하였다. 칼럼은 Shim-pack CLC guard column (10×4 mm)이 결합된 Shimadzu Shim-VP ODS column 5 μ m (250×4.6 mm)을 사용하였으며, 칼럼 온도는 40 $^{\circ}$ C로 고정하였다. 이동상의 용매는 A는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in H₂O)이며, B는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in methanol)를 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min이었고, 용매 구배는 0~5분 B용매 40%, 5~12분 B용매 40~50%, 12~27분 B용매 50%로 유지, 27~30분 B용매 50~20%, 그리고 30~35분 B용매 20~0%로 하였다. 녹차 시료는 10 μ L이었고, 표준 카테킨의 retention time과 비교하여 각 카테킨을 동정하였다.

아질산염 소거능 측정 : 녹차 시료의 아질산염 소거능은 Griess reagent를 이용한 방법(39)을 변형하여 측정하였다. 먼저 녹차 1 mL에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 첨가하고 0.2 M 구연산 완충액으로 반응 용액의 pH를 3.0, 4.2, 6.0으로 각각 조정하여 반응 용액의 부피를 10 mL로 한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 용액을 2 mL를 첨가한 다음 Griess 시약 (1% sulfanilic acid and 1% naphthylamine in a methanol solution containing 30% acetic acid) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 방치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다.

$$\text{아질산염 소거능 (\%)} = (1 - (A - C)/B) \times 100,$$

A는 시료의 흡광도, C는 녹차의 흡광도, B는 1 mM NaNO₂의 흡광도이다.

. 통계처리 : 데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Student - Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성(P<0.05)을 검정하였다(40).

2. 연구개발 결과

가. 총 페놀 함량(TPC) 및 총 플라바놀 함량(TFC)

녹차는 flavanol, flavandiol, flavonoid, phenolic acid 등을 포함한 여러 종류의 폴리페놀을 함유하고 있다. 폴리페놀은 녹차 성분 중에서 가장 생물학적 활성이 높은 성분이며, 플라바놀은 녹차의 주된 폴리페놀 화합물이다(41). 근래 플라바놀은 항산화, 함암,

항종양 등의 약리적 효능으로 인해 주목받고 있다(42-44). **Table 2-1**에 나타난 바와 같이 90℃에서 10분간 원적외선을 조사하면 대조구 (244.7 mg/g)에 비해 50% 이상의 TPC가 증가하였으며 (368.5 mg/g), 그 이상의 온도에서는 감소하는 추세였다. TFC의 경우에도 원적외선 조사는 비슷한 영향을 주었다. 가장 높은 TFC 함량은 90℃에서의 조사이었으며 (178.7 mg/g) 대조구의 경우는 122.0 mg/g 이었고, 역시 90℃ 이상의 온도에서는 감소하였다.

왕겨를 100℃에서(29), 그리고 땅콩 껍질을 150℃에서 원적외선을 조사한 경우에도 (30) 그 추출물에서 페놀 화합물과 항산화력이 증가하였다고 보고된 바 있다. Niwa와 Miyachi (45)는 원적외선 조사가 천연 약용 식물의 항산화력을 증대시킬 수 있다고 주장하였다. 그러나, 고온에서의 본 연구의 결과는 커피 콩을 볶을 때 페놀 화합물이 분해 또는 전환된다고 주장한 바(46)와 일치하여 감소한 것으로 보인다. 그러나, 90℃에서의 10분간의 원적외선 조사는 녹차의 페놀 함량과 플라바놀을 증가시켰다.

나. 카테킨과 카페인 함량

원적외선 조사가 녹차의 8종의 카테킨과 카페인, 그리고 gallic acid의 함량에 미치는 영향을 HPLC로 분석하여 **Table 2-2**에 나타내었다. 녹차의 플라바놀은 B 고리에 붙은 수산기의 수에 따라 catechol-flavanol과 gallo-flavanol 두 가지로 분류할 수 있다 (**Figure 2-1**). Gallocatechins의 gallyl-과 galloyl- 말단은 3개의 수산기를 가지고 있으므로 쉽게 라디칼과 결합할 수 있어 항산화물질로서의 기능을 잘 발휘할 수 있다. 이런 이유로 EGC와 EGCG는 녹차의 매우 중요한 플라바놀로 인식된다 (22). 원적외선 조사는 녹차의 EGC와 EGCG 함량에 매우 영향을 미쳤다. 예를 들어, 90℃에서 10분간 원적외선을 조사하면 대조구에 비해 FGC 함량은 77.55 mg/g에서 89.49 mg/g으로 증가하였다. 또한 110℃에서 10분간 원적외선을 조사하면 EGCG 함량이 13.54 mg/g에서 21.06 mg/g으로 증가하였다.

Table 2-1. Effect of far-infrared Irradition temperature on total phenol contents, total flavanol contents, and ascorbic acid contents of green tea. Green tea leaves were irradiated by far-infrared at given temperatures for 10 min, and green tea was made by soaking the leaves in boiling water (1.0 g/100 mL). FIR, far-infrared; TPC, total phenol contents; and TFC, total flavanol contents. All values are on a dry green leaf basis (mg/g).

	FIR temperature (°C)									
	Control	80	90	100	110	120	130	140	150	SEM ^j
TPC	244.7 ^c	274.2 ^b	368.5 ^a	270.9 ^b	236.3 ^c	185.0 ^e	217.7 ^d	174.7 ^f	122.4 ^g	0.1
TFC	121.4 ^d	140.4 ^b	178.7 ^a	133.1 ^c	113.2 ^e	82.5 ^g	91.1 ^f	45.7 ^h	29.0 ⁱ	1.1

^{a-i} Different letters (a - i) within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

^jStandard error of the means.

Table 2-2. Effect of far-infrared radiation temperature on catechins and caffeine in green tea. Green tea leaves were irradiated by far-infrared at given temperatures for 10 min, and green tea was made by soaking in boiling water (1.0 g/100 mL). FIR, far-infrared; EC, epicatechin; ECG, epicatechingallate; EGC, epigallocatechin; EGCG, epigallocatechin gallate; C, catechin; CG, catechingallate GC, galocatechin; and GCG, galocatechingallate. All values are on a dry green leaf basis (mg/g).

	FIR temperature (°C)									
	Control	80	90	100	110	120	130	140	150	SEM ^g
EC	6.05 ^{bc}	6.67 ^b	7.95 ^a	6.51 ^b	5.89 ^{bc}	5.57 ^{bc}	1.86 ^d	0.36 ^{de}	0.14 ^e	0.50
ECG	6.92 ^{bcd}	10.34 ^b	9.71 ^{bc}	9.71 ^{bc}	15.98 ^a	5.67 ^{cd}	3.31 ^{de}	0.52 ^e	0.15 ^e	1.08
EGC	77.55 ^b	86.32 ^a	89.49 ^a	77.5 ^b	72.09 ^{bc}	70.28 ^c	19.60 ^d	3.28 ^e	0.95 ^f	1.37
EGCG	13.54 ^c	16.19 ^b	14.91 ^c	14.84 ^c	21.06 ^a	17.90 ^b	14.58 ^c	14.3 ^c	6.79 ^d	1.20
C	1.22 ^c	1.36 ^c	1.68 ^{bc}	1.59 ^{bc}	2.34 ^a	1.81 ^b	1.18 ^d	0.23 ^e	0.09 ^f	0.96
CG	0.05 ^f	0.64 ^c	0.34 ^d	0.34 ^d	1.50 ^a	0.28 ^e	1.10 ^b	0.21 ^e	0.05 ^f	0.07
GC	4.88 ^{de}	8.05 ^{cd}	9.88 ^c	10.42 ^c	22.43 ^a	16.72 ^b	10.22 ^c	1.70 ^{ef}	0.31 ^f	1.26
GCG	0.35 ^e	3.04 ^{cde}	5.31 ^c	5.50 ^c	20.34 ^a	4.16 ^{cd}	10.46 ^b	1.04 ^{de}	0.29 ^e	0.88
caffeine	98.24 ^b	116.54 ^{ab}	119.11 ^{ab}	120.92 ^{ab}	149.52 ^a	83.54 ^b	39.76 ^c	4.85 ^d	1.49 ^d	9.45

^{a-f} Different letters (a - f) within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

^g Standard error of the means.

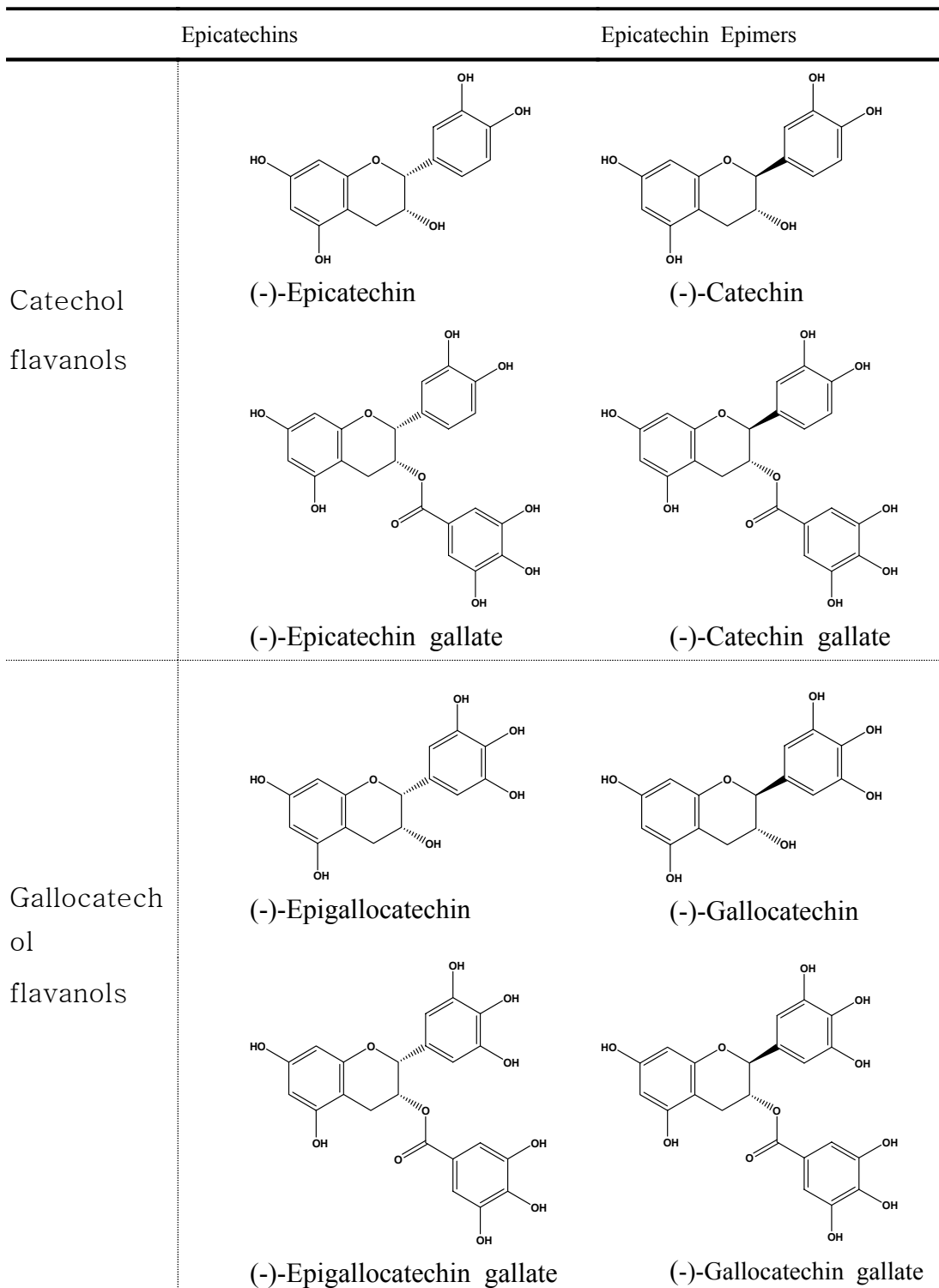


Fig. 2-1. Structure of catechins of green tea.

모노머 형태의 플라바놀은 산화적 중합 과정을 거쳐 bisflavanol, theaflavins, thearubigin, 그리고 그 외의 올리고머로 전환된다. Gulati 등은 녹차의 제조 과정 중 마이크로웨이브가 총 페놀 함량과 카테킨 함량을 증가시키며, 이로 미루어 마이크로파의 에너지는 녹차잎의 matrix에 대한 폴리페놀과 카테킨의 결합을 억제할 수 있다고 주장하였다 (47). 원적외선도 마이크로파와 비슷하게 작용하는지는 확실하지 않지만 녹차의 카테킨 함량을 향상시킬 수 있는 방법으로 이용될 수 있다.

Epicatechin epimer (C, CG, GC, GCG)는 원래 녹차잎에 존재하지 않으며 epicatechin (EC, ECG, EGC, EGCG)의 열처리에 의한 에피머화에 의해 유래한다(48). 캔이나 병에 든 녹차 음료수를 120°C에서 가열 멸균할 때 상당량 (약 50%의 카테킨이 2번 위치에서 에피머화되어 C, GC, CG, GCG가 생성된다 (49, 50). 한편, 본 연구에서는 카테킨과 에피카테킨 함량 모두 원적외선 조사에 의해 증가함을 확인할 수 있었다. 예를 들어 90°Cdpt 10분간 원적외선 조사하면 대조구에 비해 epicatechin 전체 함량은 104.06 mg/g에서 122.06 mg/g으로 증가하였고, epicatechin epimer도 같은 조건에서 6.50 mg/g에서 17.21 mg/g으로 증가하였다. 이는 녹차잎에 대한 원적외선 조사는 카테킨의 에피머화 뿐만 아니라 카테킨 함량 자체도 증가시킴을 의미한다.

카페인은 차, 커피, 코코아 등의 대중 음료에 함유되어 있는 식물성 알칼로이드로서 흥분 효과가 잘 알려져 있다. Table 2-2에 나타난 바와 같이 녹차잎에 대한 원적외선 조사 온도는 녹차의 카페인 함량에도 중대하게 영향을 미친다. 90-110°C에서의 원적외선 조사는 카페인 함량을 20% 이상 증가시키지만, 120°C 이상의 온도에서는 급격히 감소시켰다. 120°C 이상의 고온에서 원적외선에 의해 카페인이 유리화되지 않는지 또는 고온에 의해 분해되는 지는 확실하지 않다.

다. 색도 분석

원적외선 조사된 녹차의 Hunter 색도값을 Table 2-3에 나타내었다. Hunter color *L* value는 원적외선 조사와 온도에 의해 약간 변화하였으며, 80°C에서 원적외선 조사하였을 때 가장 높은 값을 보였고 그 이후의 온도에서는 온도가 상승할수록 감소하였다. 적색도 (*a* value)도 원적외선 조사에 의해 변했는데 110°C에서 조사하였을 때 가장 낮은 값을 보였다. 황색도 (*b* value)는 140°C에서 조사하였을 때 대조구에 비해 2.34에서 7.18으로 가장 크게 증가하였다. 전체적인 색도 변화 (ΔE)는 90°C와 100°C에서 원적외선을 조사하였을 때 가장 높았으나 이는 모두 0.5 이하로서 맨 눈으로는 확인하기 힘들었다. 그러나 녹차잎의 70% 에탄올 추출물에 5-20 kGyd의 감마선을 조사하면 녹차의 *L* value는 크게 증가하고 *a*-, *b*- value는 감소하였지만(51), 생리적 기능은 변화가 없다고 보고하였다(52, 53). 이러한 사실은 조사되는 파장에 따라 녹차의 특성이 다양하게 변하는 것을 의미한다.

라. 아질산 소거능 (Nitrite Scavenging Ability, NSA).

인체의 위의 산성 상태에서 아질산은 돌연변이를 유발하며 세포에 손상을 준다고 보고되었다 (54). 식이 중에 과다한 양의 아질산은 위암과 대장암을 유발하는 잠재적 원인이 된다. 녹차의 EGCG는 아질산화를 효율적으로 저해하는 것으로 보고되어 있다 (55). 본 연구의 원적외선 조사된 녹차의 NSA를 측정하여 **Table 2-4**에 나타내었다. 110℃ 까지 원적외선 조사 온도가 올라갈수록 녹차의 NSA도 증가하였다. 그러나 그 이후의 온도에서는 조사된 모든 pH에서 NSA는 감소하였다. Nakagawa와 Yokozawa (35)는 탄닌의 galloyl 기가 nitric-oxide 소거능을 향상시키지만 카페인을 무관하다고 보고하였다. Galloyl 기를 함유한 카테킨- EGCG, GCG, ECG, CG -은 110℃에서 원적외선 조사하였을 때 가장 높았으며 (**Table 2-2**), 이는 **Table 2-4**의 NSA 결과와 일치하였다.

이상으로 적절한 조건에서의 녹차잎에 대한 원적외선 조사는 녹차의 카테킨 함량과 아질산 소거능을 향상시키며 색도에는 큰 영향을 주지 않는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 원적외선 조사가 녹차의 건강 유익성을 향상시키는 가공 방법으로 이용될 수 있음을 의미한다.

Table 2-3. Color L-value, a-value and b-value of green tea extracts on FIR treated temperature. Green tea leaves were irradiated by FIR at given temperatures for 10 min, and green tea was made by soaking in boiling water (1.0 g/100 mL).

Temperature (°C)	L value	a value	b value	ΔE
Control	99.28 ^d	-0.72 ^d	2.34 ^h	0.00 ⁱ
80	99.60 ^a	-0.50 ^c	1.59 ⁱ	0.84 ^f
90	99.39 ^c	-0.73 ^d	2.41 ^g	0.13 ^h
100	99.16 ^e	-0.76 ^d	2.64 ^f	0.32 ^g
110	99.44 ^b	-1.13 ^f	3.51 ^e	1.25 ^e
120	98.49 ^f	-0.69 ^c	5.49 ^d	3.25 ^d
130	98.00 ^g	-1.00 ^e	6.78 ^b	4.63 ^b
140	97.35 ⁱ	-0.18 ^b	7.18 ^a	5.24 ^a
150	97.53 ^h	-0.03 ^a	6.35 ^c	4.43 ^c
SEM ^j	0.00	0.02	0.01	0.01

^{a-i} Different letters (a - i) within a column are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

^j Standard error of the means.

L: degree of lightness, a: degree of redness, b: degree of yellowness,

ΔE: overall color difference, $\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$.

Table 2-4. Effects of far-infrared treated temperature on nitrite scavenging activity (%) of green tea extracts, under different pH conditions. FIR, far-infrared.

	FIR temperature (°C)									SEM ^j
	Control	80	90	100	110	120	130	140	150	
pH 3.0	79.2 ^e	99.8 ^d	102.4 ^b	101.4 ^c	106.2 ^a	95.1 ^f	90.0 ^g	61.6 ^h	37.3 ⁱ	0.1
pH 4.2	15.5 ^f	21.3 ^d	25.9 ^b	24.1 ^c	32.6 ^a	17.4 ^e	20.2 ^d	19.8 ^d	13.0 ^g	0.6
pH 6.0	1.9 ^e	6.0 ^d	7.1 ^d	8.9 ^d	14.8 ^a	5.8 ^d	13.1 ^b	15.4 ^a	11.1 ^c	0.4

^{a-i} Different letters (a - i) within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

^j Standard error of the means.

제 3 절 볶음 녹차제조공정에서 원적외선 응용 효과

1. 연구개발 내용 및 방법

가. 녹차잎의 가공 및 원적외선 조사

신선한 고차잎을 수확하여 전통적인 볶음 차 제조 과정- 볶음, 유념, 건조-을 거쳐 가공하였다. 이 과정에서 가열 공정에 원적외선 히터를 이용하여 원적외선을 조사하였다. 전통적인 방법의 제조 과정을 거친 대조구와 원적외선을 응용한 6가지의 녹차의 제조 과정의 모식도를 Fig. 3-1에 나타내었다.

Control: 전통적인 방법에 따라 200-300℃에서 3-4분간 볶고, 5분 가량 손으로 유념한 후, 수분 함량이 3-5% 되도록 건조하였다.

Green Tea Processing 1 (GTP 1): 대조구로 가공된 녹차잎에 90℃에서 10분간 원적외선을 조사하였다.

Green Tea Processing 2 (GTP 2): 대조구 가공의 볶음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

Green Tea Processing 3 (GTP 3): 대조구 가공의 볶음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하고, 최종 가공된 녹차잎에 다시 90℃에서 10분간 원적외선을 조사하였다.

Green Tea Processing 4 (GTP 4): 대조구 가공의 건조 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

Green Tea Processing 5 (GTP 5): 대조구 가공의 볶음 과정과 건조 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

Green Tea Processing 6 (GTP 6): 대조구 가공의 볶음 과정과 건조 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하고, 최종 가공된 녹차잎에 다시 90℃에서 10분간 원적외선을 조사하였다.

원적외선 조사 방법 : 녹차잎은 온도가 조절되는 원적외선 히터로 원적외선을 조사하였다. 각 시료 녹차잎 2.0 g을 Pyrex Petri dish (8.0 cm diameter)에 평평히 펼치고 2-14 μm 의 파장을 방출하는 원적외선 히터 (35 \times 10 cm, output 300 W, Hakko Electric Machine Works Co., Ltd, Nagano, Japan)가 장착된 원적외선 건조기 (A-Sung Machine, Korea)에서 조사하였다. 시료는 조사되는 동안 360° 회전되도록 하여 골고루 조사되도록 하였고, 녹차와 원적외선 히터 사이의 거리는 14 \pm 1 cm가 되도록 하였다. 조사 후에는 녹차잎을 상온에서 식혔고 곧바로 녹차를 제조하였다.

나. 녹차 시료 제조

가공된 녹차잎 1.0 g을 끓는 100 mL의 증류수로 10분 동안 상온에서 추출하였다. 추출물(녹차)은 Whatman No. 1로 여과하여 다음 실험에 이용하였다.

다. 녹차의 품질 특성 분석 방법

총페놀 함량 (Total Phenolic Contents, TPC) : 총 페놀 함량은 Gutfinger(49)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 녹차 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na_2CO_3 용액 1 mL를 가한 후 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 1 mL를 가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 5분간 13,400 \times g에서 원심분리한 후, 상징액 1 mL를 취하여 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Tokyo, Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg/g 단위로 나타내었다.

총 플라바놀 함량 (Total Flavanol Contents, TFC) : 총 플라바놀 함량은 카테킨을 표준물질로 이용하여 vanillin 방법(51)으로 측정하였다. 즉, 녹차물 추출물 1 mL를 취하여 2.0% vanillin (8.0% methanolic HCl)용액 5.0 mL를 가하여 20분간 상온에서 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. (+)-카테킨을 표준물질로 하여 검량곡선을 작성하여 총 플라바놀 함량을 계산하였다.

. 아스코르브산 함량 (Ascorbic Acid Contents, AAC) 아스코르브산 함량은 Sikic 등(53)의 방법으로 정량하였다. 녹차 1 mL을 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 상층액 (0.5 mL)을 2 mL의 trichloroacetic acid (5%)와 혼합한 후 15,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액 (1 mL)을 0.1 mL의 85% orthophosphoric acid, 0.1 mL의 8% α,α-dipyridyl, 0.1 mL의 3% aqueous ferric chloride를 혼합하여 1시간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아스코르브산 함량은 L-ascorbic acid 당량으로 나타내었다.

색도측정 : 녹차의 색도는 색차계 (Chromameter-2 Reflectance, Minolta, Osaka, Japan)에 CR-200을 장착하여 측정하였다(54). 측정 전에 백색 타일로 표준화한 후에 Hunter color *L*(lightness), *a*(redness), *b*(yellowness)값을 3회 반복 측정하였다.

카테킨과 카페인 분석 :카테킨(catechin)류의 분석에는 HPLC(Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며(19), 이는 CTO 10AVP column oven, LC-6AD pump, SIL-10ADVP auto sample injector 그리고 SPD-10AVP UV/VIS detector로 구성되었고, 210 nm에서 흡광도를 측정하였다. 칼럼은 Shim-pack CLC guard column (10×4 mm)이 결합된 Shimadzu Shim-VP ODS column 5μm (250×4.6 mm)을 사용하였으며, 칼럼 온도는 40℃로 고정하였다. 이동상의 용매는 A는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in H₂O)이며, B는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in methanol)를 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min이었고, 용매 구배는 0~5분 B용매 40%, 5~12분 B용매 40~50%, 12~27분 B용매 50%로 유지, 27~30분 B용매 50~20%, 그리고 30~35분 B용매 20~0%로 하였다. 녹차 시료는 10 μL이었고, 표준 카테킨의 retention time과 비교하여 각 카테킨을 동정하였다.

. 통계처리 :데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Student - Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성(P<0.05)을 검정하였다(21).

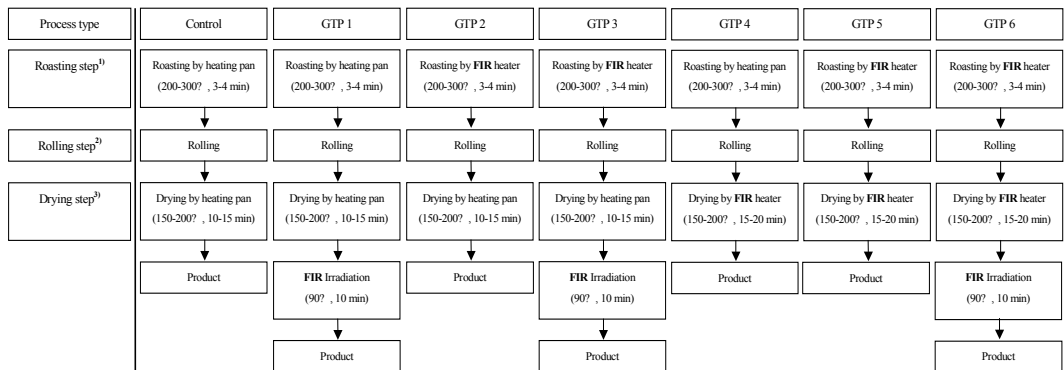


Fig. 3-1. 녹차 제조 공정

2. 연구개발 결과

가. TPC, TFC, AAC

녹차의 가공 공정에 미치는 원적외선의 영향을 조사하기 위해 총 페놀 함량(TPC), 총 플라바놀 함량 (TFC), 아스코르브산 함량 (AAC)를 측정하여 **Table 3-1**에 나타내었다. 각 가공 공정에서의 원적외선 조사는 녹차의 TPC에 큰 영향을 주었다. 예를 들어, GTP3 (뒤음 공정을 원적외선 조사로 대체하고 가공 후에 90℃에서 10분간 추가 조사한 경우)에 TPC는 전통적인 방법의 대조구에 비하여 460.8 mg/g에서 811.1 mg/g으로 76.0%가 증가하였다. 대부분의 경우 원적외선 조사가 행해진 경우 TPC가 증가하였지만 GTP4의 경우에는 감소하였다. 상대적으로 낮은 TPC를 보인 경우 (GTP4, GTP5, and GTP6)의 공통점은 모두 건조 과정에서 원적외선을 조사한 경우이었다.

녹차의 가장 일반적인 폴리페놀은 플라바놀이며 카테킨이라고도 불린다. 녹차는 아스코르브산도 함유하고 있다. TFC와 AAC의 경우도 TPC와 같은 경향을 보였다 (**Table 3-1**). 가장 높은 함량의 TFC와 AAC는 대조구의 175.7 mg/g, 13.4 mg/g에 비하여 GTP3에서 각각 208.7 mg/g, 14.7 mg/g이었다. 그러나, GTP4의 경우는 대조구에 비해 낮은 값을 보였다.

왕겨(68), 땅콩껍질(69), 탈지 참깨박(70)에 대한 원적외선 조사는 그 추출물의 페놀 함량과 항산화력을 향상시켰다. Lee 등(84)은 또한 가공한 녹차잎을 90℃에서 10분간 원적외선 조사하면 녹차의 TPC와 TFC가 증가함을 보고하였다. 본 연구의 이러한 결과는 뒤음 공정에서의 원적외선 조사와 가공된 녹차잎에 대한 원적외선 조사의 조합된 처리가 녹차의 TPC, TFC, AAC 함량에 매우 효율적임을 의미한다. 그러나, 건조 공정에서의 원적외선 조사는 의미가 없었다.

나. 카테킨 및 카페인 함량 변화

녹차는 카테킨이라고 하는 매우 훌륭한 폴리페놀 항산화물질의 보고이다. 녹차 카테킨은 높은 항산화력을 나타내며 이로 인해 각종 산화적 질병으로부터 인체를 보호한다(31, 32). 본 연구의 가공 녹차 시료를 HPLC로 분석하여 카테킨 함량을 구하였고 이를 **Table 3-2**에 나타내었다. 대조구에서 EGC와 EGCG는 녹차의 주된 카테킨임을 알 수 있다. Gallicocatechin의

gallyl- 말단과 galloyl- 말단은 3개의 수산기를 함유하며 이들은 높은 수소 공여능을 지녀 우수한 항산화력을 나타낸다. 이러한 이유로 EGC와 EGCG는 녹차의 가장 중요한 플라바놀로 인식되어진다 (58). 녹차 가공의 각 공정에서의 원적외선 조사는 녹차의 EGC와 EGCG 함량에 크게 영향을 미쳤다. 특히 GTP3에서의 EGC와 EGCG는 가장 높은 값을 보였는데, 원적외선 조사되지 않은 대조구에 비하여 EGC는 57.68 mg/g로부터 89.88 mg/g로 증가하였고, EGCG는 9.60 mg/g에서 16.33 mg/g로 증가하였다. 그 이외의 epicatechins (EC, ECG)도 GTP3에서 가장 높은 값으로 측정되었다.

플라바놀은 모노머 형태로 존재하다가 산화되면 중합되어 bisflavanol, theaflavins, thearubigin, 또는 그 외의 올리고머로 전환된다. Gulati 등(80)은 녹차의 제조 과정 중에 마이크로파를 처리하면 녹차의 총 페놀 함량과 카테킨 함량을 증가되며, 이로 보아 마이크로파 에너지는 녹차잎의 matrix에 대한 폴리페놀과 카테킨의 결합을 억제할 수 있다고 주장하였다. 원적외선도 마이크로파와 비슷하게 작용하는지는 확실하지 않지만 녹차의 카테킨 함량을 향상시킬 수 있는 방법으로 이용될 수 있다.

Epicatechin epimer (C, CG, GC, GCG)는 원래 녹차잎에 존재하지 않으며 epicatechin (EC, ECG, EGC, EGCG)의 열처리에 의한 에피머화에 의해 유래한다(34). 캔이나 병에 든 녹차 음료수를 120℃에서 가열 멸균할 때 상당량 (약 50%의 카테킨이 2번 위치에서 에피머화되어 C, GC, CG, GCG가 생성된다 (82, 83). 한편, 본 연구에서 녹차 제조 공정에서의 원적외선 조사는 카테킨과 에피카테킨 함량 모두 증가시킬 수 있었다. 예를 들어 GTP3에서의 녹차는 대조구에 비해 epicatechin 전체 함량은 76.18 mg/g에서 119.98 mg/g으로 증가하였고, epicatechin epimer도 같은 조건에서 6.32 mg/g에서 11.14 mg/g으로 증가하였다. 이는 녹차잎에 대한 원적외선 조사는 카테킨의 에피머화 뿐만 아니라 카테킨 함량 자체도 증가시킴을 의미한다. 그러나, 왜 GTP3 (뒤음 공정을 원적외선 조사로 대체하고 가공 후에 90℃에서 10분간 추가 조사한 경우)에서 가장 높은 카테킨 함량이 나타났는지에 대한 이유는 현재로서는 확실히 알 수 없다.

카페인도 원적외선 조사에 의해 영향을 받으며, 역시 GTP3에서 대조구의 70.72 mg/g에 비해 99.21 mg/g로 가장 높게 측정되었다.

다. 아질산 소거능 (NSA)

본 연구의 각 제조 공정에서 원적외선 조사된 녹차의 NSA를 측정하여 **Table 3-3**에 나타내었다. 110℃까지 원적외선 조사 온도가 올라갈수록 녹차의 NSA도 증가하였다. 조사된 여러 pH 조건에서 NSA는 원적외선 조사에 의해 증가하였으며, 낮은 pH일수록 더 높았다. NSA는 pH 3.0에서 가장 높았는데 대조구는 92.8%이었으며 GTP1과 GTP3에서 각각 98.8%와 98.6%이었다. pH 4.2에서는 대조구가 15.2%이었으며, GTP1과 GTP3에서 각각 20.7%와 21.0%이었다. pH 6.0에서는 대조구가 1.6%이었고, GTP1과 GTP3에서 각각 3.6%와 4.2%이었다. Nakagawa와 Yokozawa (82)는 탄닌의 galloyl기가 nitric-oxide 소거능을 향상시키지만 카페인은 무관하다고 보고하였다. Galloyl기를 함유한 카테킨- EGCG, GCG, ECG, CG -은 GTP3에서 가장 높았으며 (**Table 3-1**), 이는 **Table 3-3**의 NSA 결과와 밀접한 관계가 있음을 보였다.

라. 색도 분석

원적외선 조사된 녹차의 Hunter 색도값을 **Table 3-4**에 나타내었다. Hunter color *L* value는 제조 공정에서의 원적외선 조사에 의해 큰 변화를 보이지 않았는데 102.45에서 102.69 범위의 값을 나타내었다. 적색도 (*a* value)와 황색도 (*b* value)도 각각 -1.46에서 -1.01의 범위, 2.60에서 3.82의 범위를 나타내었다. 전체적인 색도 변화 (ΔE)는 GTP3에서 1.28로 가장 높았으나 이는 맨 눈으로는 분간하기 힘든 값이다.

결론적으로 녹차의 제조 공정에서 덩음 공정을 원적외선 조사로 대체하고 가공 후에 90℃에서 10분간 추가로 원적외선을 조사한 경우(GTP3)에 녹차의 카테킨 함량과 아질산 소거능을 향상시키며 색도에는 큰 영향을 주지 않는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 녹차의 공정에 따라 원적외선 조사가 미치는 영향이 다름을 의미하며 고품질 녹차의 제조에 원적외선이 응용될 수 있음을 시사한다.

Table 3-1. Effect of FIR irradiation in manufacturing process on TPC, TFC and AAC of green tea^a

	Control	GTP1	GTP2	GTP3	GTP4	GTP5	GTP6	SEM ^b
TPC	460.8 ^e	506.8 ^c	538.7 ^b	811.1 ^a	416.5 ^f	475.6 ^d	485.8 ^d	0.04
TFC	175.7 ^c	184.4 ^b	165.5 ^d	208.7 ^a	130.7 ^f	150.9 ^e	165.8 ^d	1.43
AAC	13.4 ^b	13.7 ^b	13.2 ^{bc}	14.7 ^a	12.4 ^a	11.9 ^d	11.8 ^d	0.25

^aGreen tea leaves were irradiated by FIR heater during processing as shown in Fig. 1, and green tea was made by soaking the leaves in boiling water (1.0 g/100 mL). TPC, total phenol contents; TFC, total flavanol contents; AAC, ascorbic acid contents SEM, standard error of the means. All values are on a dry green leaf basis (mg/g). Different letters (a-f) within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

Table 3-2. Effect of FIR irradiation in manufacturing process on catechins and caffeine in green tea^a

	Control	GTP1	GTP2	GTP3	GTP4	GTP5	GTP6	SEM
EC	4.68 ^c	4.86 ^c	5.65 ^b	6.52 ^a	3.78 ^d	5.01 ^c	5.07 ^c	0.11
ECG	4.22 ^c	4.83 ^c	6.92 ^a	7.15 ^a	4.49 ^c	4.46 ^c	6.30 ^b	0.16
EGC	57.68 ^d	72.01 ^b	75.14 ^b	89.88 ^a	54.14 ^d	66.21 ^c	64.58 ^c	1.18
EGCG	9.60 ^d	11.82 ^c	14.64 ^{ab}	16.33 ^a	10.47 ^{cd}	13.43 ^b	15.03 ^{ab}	0.53
C	0.96 ^d	1.00 ^c	0.77 ^c	1.27 ^a	0.69 ^f	0.89 ^d	1.18 ^b	0.02
CG	0.05 ^d	0.04 ^d	0.03 ^d	0.24 ^b	0.04 ^d	0.15 ^c	0.28 ^a	0.01
GC	4.87 ^c	5.88 ^b	4.81 ^c	7.93 ^a	3.34 ^d	4.96 ^c	7.57 ^a	0.21
GCG	0.44 ^e	0.87 ^d	0.85 ^d	1.70 ^b	0.48 ^c	1.04 ^c	1.86 ^a	0.03
caffeine	70.72 ^c	75.19 ^c	95.87 ^a	99.21 ^a	63.62 ^d	65.13 ^d	88.87 ^b	1.57
GA	1.39 ^{ac}	1.51 ^c	2.01 ^a	1.67 ^b	1.18 ^d	1.42 ^c	2.11 ^a	0.05

^aGreen tea leaves were irradiated by FIR heater during processing as shown in Fig. 1, and green tea was made by soaking the leaves in boiling water (1.0 g/100 mL). EC, epicatechin; ECG, epicatechingallate; EGC, epigallocatechin; EGCG, epigallocatechin gallate; C, catechin; CG, catechingallate; GC, galocatechin; GCG, galocatechingallate; GA, gallic acid; SEM, standard error of the means. All values are on a dry green leaf basis (mg/g). Different letters within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

Table 3-3. Effect of FIR irradiation in manufacturing process on nitrite scavenging activity (%) of green tea under different pH conditions^a

	Control	GTP1	GTP2	GTP3	GTP4	GTP5	GTP6	SEM
pH 3.0	92.8 ^c	98.8 ^a	97.4 ^b	98.6 ^a	85.7 ^f	92.1 ^d	89.8 ^c	0.1
pH 4.2	15.2 ^c	20.7 ^a	19.3 ^a	21.0 ^a	13.9 ^c	14.1 ^c	17.4 ^b	0.5
pH 6.0	1.6 ^c	3.6 ^b	3.6 ^b	4.2 ^a	0.7 ^d	3.2 ^b	3.6 ^b	0.1

^aGreen tea leaves were irradiated by FIR heater during processing as shown in Fig. 1, and green tea was made by soaking the leaves in boiling water (1.0 g/100 mL). Different letters (a - f) within a row are significantly different ($P < 0.05$), n = 3. SEM, standard error of the means.

Table 3-4. Effect of FIR irradiation in manufacturing process on color *L*-value, *a*-value and *b*-value of green tea^a

	<i>L</i> value	<i>a</i> value	<i>b</i> value	ΔE
Control	102.63 ^b	-1.08 ^b	2.60 ^e	0.00 ^g
GTP1	102.63 ^b	-1.01 ^a	2.60 ^e	0.07 ^f
GTP2	102.55 ^c	-1.27 ^c	3.12 ^c	0.56 ^c
GTP3	102.45 ^e	-1.46 ^d	3.82 ^a	1.28 ^a
GTP4	102.69 ^a	-1.03 ^a	2.46 ^f	0.16 ^e
GTP5	102.64 ^b	-1.27 ^c	3.04 ^d	0.48 ^d
GTP6	102.47 ^d	-1.28 ^c	3.53 ^b	0.96 ^b
SEM ^b	0.00	0.01	0.01	0.01

^aGreen tea leaves were irradiated by FIR at given temperatures for 10 min, and green tea was made by soaking in boiling water (1.0 g/100 mL). Different letters (a - i) within a column are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$. *L*, degree of lightness *a*, degree of redness *b*, degree of yellowness ΔE : overall color difference, $\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$. SEM, standard error of the means.

제 4 절 제작한 원적외선 기기의 녹차 가공에 응용

1. 연구개발 내용 및 방법

가. 원적외선 방사체

실험용 전처리장치의 주요부품인 원적외선 방사체는 녹차의 주요생리활성 물질인 에피카테킨의 B rind의 hydroxyl group의 신축운동을 유발하는 4.5 μm 흡수 파장 및 변각진동을 유발하는 9 μm 흡수파장 및 물의 OH에 의한 3 및 6 μm 흡수 파장을 최대 방사파장으로 하는 방사체를 선정하였다.

High-nickel 내열강 표면에 코팅한 ceramic 재질에 의하여, 가열단 Magnesia 에서 방사된 원적외선을 흡수한 후, 균형있게 방사하는 것을 특징으로 하는 세라믹형 방사체로써, 가열온도에 따라 최대 방사파장이 변하여 450 $^{\circ}\text{C}$ 가열온도에서의 최대 방사파장은 4.14 μm , 550 $^{\circ}\text{C}$ 에서 3.57 μm , 650 $^{\circ}\text{C}$ 에서 3.14 μm 이며, 600 $^{\circ}\text{C}$ 의 가열온도에서 평균방사율이 0.85이며, 특히 7~9 μm 파장 영역에서는 0.96 방사율을 갖는 것을 특징으로 한다.

방사체에서의 거리에 따라 주위 가열온도는 40mm 거리에서 350 $^{\circ}\text{C}$, 60mm 에서 260 $^{\circ}\text{C}$, 100 mm에서는 180 $^{\circ}\text{C}$ 를 이루는 것을 특징으로 한다. 세라믹 방사체의 규격은 가로 200mm 세로 200mm 정사각형으로, 전기용량은 600W 이다. 6.1 W/cm 2 의 Radiation Emission을 나타낸다.

Ceramic plate 원적외선 방사체 (규격 250 x 250 mm) 4장을 일렬로 하는 처리기를 직경 600mm 길이 1800mm의 rotary형 뒤움장치 내에 장착시키는 원리로 설계하여 한번에 20~50 KG(300 L)의 생엽을 처리할 수 있는 처리 장치를 제작하였다. 그림에서와 같이 각 방사체는 발열체 표면 온도를 조절하는 조절기를 부착하였고, 약 1.5M에 일렬로 배열하여 드럼형 제다기의 중앙에 장착할 수 있도록, 방사각 및 높이를 현장에 맞게 조절할 수 있는 기능을 갖도록하였다. 본 연구에서 새로이 제작되어 녹차 가공에 이용한 원적외선 히터의 모식도를 Fig. 4-1, 2에 나타내었다. 이 히터는 기존의 녹차 뒤움기에 삽입되어 이용할 수 있도록 설계되었으며, 온도가 조절가능하게 되어 있다.

나. 녹차잎의 원적외선 조사 및 가공

신선한 고차잎을 수확하여 전통적인 덫음 차 제조 과정- 덫음, 유념, 건조 - 을 거쳐 가공하였다. 이 과정에서 가열 공정에 원적외선 히터를 이용하여 원적외선을 조사하였다. 전통적인 방법의 제조 과정을 거친 대조구와 원적외선을 응용한 3가지의 녹차의 제조 과정의 모식도를 Fig. 4-2에 나타내었다.

Control: 전통적인 방법에 따라 250℃에서 25분간 덫고, 180℃에서 15분간 건조하였으며 유념과정을 거쳤다. 이러한 과정을 2회 반복한 후 100℃에서 40분간 건조하여 수분 함량이 3-5% 되도록 하였다.

FIR Irradiated Green Tea 1 (FG 1): 대조구 가공의 덫음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

FIR Irradiated Green Tea 2 (FG 2): 대조구 가공의 건조 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하였다.

FIR Irradiated Green Tea 3 (FG 3): 대조구 가공의 덫음 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하고, 최종 가공된 녹차잎에 다시 300℃에서 15분간 원적외선을 조사하였다.

다. 녹차 시료 제조

가공된 녹차잎 1.0 g을 75℃의 100 mL의 증류수로 10분 동안 상온에서 추출하였다. 추출물(녹차)은 Whatman No. 1로 여과하여 다음 실험에 이용하였다.

라. 녹차의 품질 특성 분석 방법

DPPH 라디칼 소거능 : 녹차의 항산화력을 라디칼 소거능으로 측정하였다. DPPH를 에탄올에 녹여 0.041 mM로 만들고 이 용액 1 mL을 녹차 20 µL와 혼합하였다. 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능을 다음의 식으로 계산하였다.

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100]$$

총페놀 함량 (Total Phenolic Contents, TPC): 총 페놀 함량은 Gutfinger(102)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 녹차 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na₂CO₃용액 1 mL를 가한 후 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 1 mL를 가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 5분간 13,400×g에서 원심분리한

후, 상정액 1 mL를 취하여 spectrophotometer (Shimadzu UV-1601, Tokyo, Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg/g 단위로 나타내었다.

총 플라바놀 함량 (Total Flavanol Contents, TFC): 총 플라바놀 함량은 카테킨을 표준물질로 이용하여 vanillin 방법(103)으로 측정하였다. 즉, 녹차 물 추출물 1 mL를 취하여 2.0% vanillin (8.0% methanolic HCl)용액 5.0 mL를 가하여 20분간 상온에서 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. (+)-카테킨을 표준물질로 하여 검량곡선을 작성하여 총 플라바놀 함량을 계산하였다.

아스코르브산 함량 (Ascorbic Acid Contents, AAC): 아스코르브산 함량은 Sikić 등(104)의 방법으로 정량하였다. 녹차 1 mL을 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 상층액 (0.5 mL)을 2 mL의 trichloroacetic acid (5%)와 혼합한 후 10,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액 (1 mL)을 0.1 mL의 85% orthophosphoric acid, 0.1 mL의 8% 2,2'-dipyridyl, 0.1 mL의 3% aqueous ferric chloride를 혼합하여 1시간 반응시킨 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아스코르브산 함량은 L-ascorbic acid 당량으로 나타내었다.

카테킨과 카페인 분석: 카테킨(catechin)류의 분석에는 HPLC(Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며(105), 이는 CTO 10AVP column oven, LC-6AD pump, SIL-10ADVP auto sample injector 그리고 SPD-10AVP UV/VIS detector로 구성되었으며, 210 nm에서 흡광도를 측정하였다. 칼럼은 Shim-pack CLC guard column (10×4 mm)이 결합된 Shimadzu Shim-VP ODS column 5 μ m (250×4.6 mm)을 사용하였으며, 칼럼 온도는 40°C로 고정하였다. 이동상의 용매는 A는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in H₂O)이며, B는 0.1% orthophosphoric acid(v/v, in methanol)를 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min이었고, 용매 구배는 0~5분 B용매 40%, 5~12분 B용매 40~50%, 12~27분 B용매 50%로 유지, 27~30분 B용매 50~20%, 그리고 30~35분 B용매 20~0%로 하였다. 녹차 시료는 10 μ L이었고, 표준 카테킨의 retention time과 비교하여 각 카테킨을 동정하였다.

아질산염 소거능 측정: 녹차 시료의 아질산염 소거능은 Griess reagent를 이용한 방법(106)을 변형하여 측정하였다. 먼저 녹차 1 mL에 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL를 첨가하고 0.2 M 구연산 완충액으로 반응 용액의 pH를 3.0, 4.2, 6.0으로 각각 조정하여 반응 용액의 부피를 10 mL로 한 후, 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산 용액을 2 mL를 첨가한 다음 Griess 시약 (1% sulfanilic acid and 1% naphthylamine in a methanol solution containing 30% acetic acid) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 방치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다.

$$\text{아질산염 소거능 (\%)} = (1 - (A - C)/B) \times 100,$$

A는 시료의 흡광도, C는 녹차의 흡광도, B는 1 mM NaNO₂의 흡광도이다.

관능검사 : 가공한 녹차잎 1 g을 100 mL의 끓는 물로 3분간 추출한 후 여과하여 관능검사를 실시하였다. 3회의 예비시험으로 15명의 지원자 중 10명을 선발하여 각 검사 항목을 0 (약함)-9 (강함)으로 평가하였다. 3회 반복한 결과는 통계처리하여 정리하였다.

통계처리 : 데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Student-Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성(P<0.05)을 검정하였다(107).

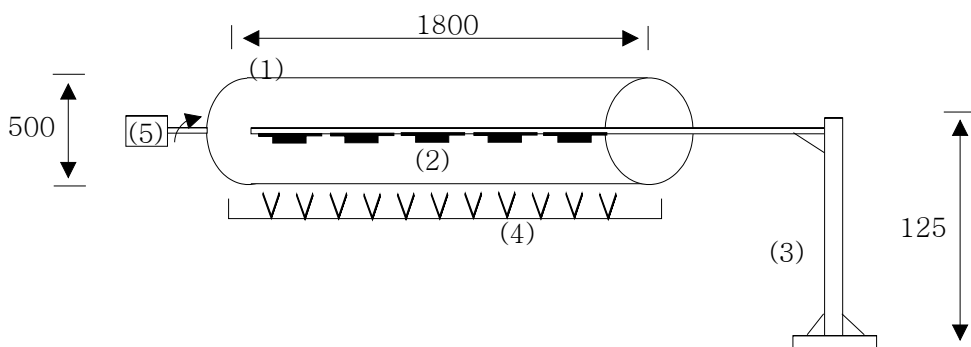


Figure 4-1. Schematic diagram of a green tea processing apparatus with far-infrared radiators. (1) a rotary chamber, (2) far-infrared radiators, (3) a height-adjustable frame, (4) a gas burner, and (5) a driving motor. Unit used in this Figure is mm.



그림 4-2 Pilot 규모의 녹차 원적외선 처리기 부품 및 제다기 장착 사진

세라믹 방사체, 온도 조절기 및 지시계,
원적외선 복사 처리기 조립도, 드럼형 튀움/건조 장치내 장착한 처리기

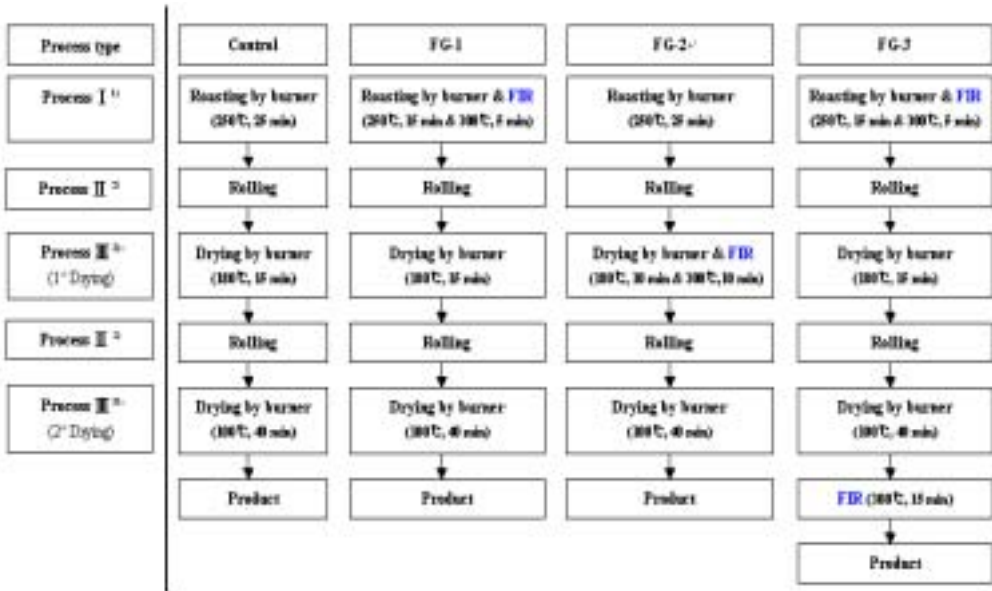


Figure 4-2. Diagram of manufacturing process of green tea leaves with FIR irradiation. ¹⁾ Enzyme inactivation.

^{2, 3)} Process II and III were repeated for 2 times.

2. 연구개발 결과

가. DPPH 라디칼 소거능 (DPPH radical scavenging activity, DPPH RSA), 총 페놀 함량 (Total Phenolic Contents, TPC), 총 플라바놀 함량 (Total Flavanol Contents, TFC), 아스코르브산 함량 (Ascorbic Acid Contents, AAC)

녹차는 항산화력을 가지고 있다 (85, 87, 88, 90). 항산화 기작의 하나는 자유 라디칼에 수소 원자를 제공하여 연쇄반응을 중단하는 것이다(107, 109). 안정한 DPPH 라디칼의 소거능을 통하여 항산화력을 측정할 수 있다. 본 연구에서 제작한 원적외선 기기를 녹차의 제조 공정에 응용하여 가공한 녹차잎으로부터 녹차를 우려내어 DPPH RSA를 분석하여 **Table 4-1**에 나타내었다. 이로부터 알 수 있듯이 본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치는 긍정적인 효과를 보였다. 특히 FG 3 (대조구 가공의 덩어리 과정을 같은 온도와 시간으로 원적외선을 처리하고, 최종 가공된 녹차잎에 다시 300℃에서 15분간 원적외선을 조사한 경우)의 DPPH RSA가 가장 높았다.

녹차의 폴리페놀은 건량의 30% 정도에 해당하며 녹차의 생리적 효능을 발휘하는 주요 화합물이다. 각종 동물, 인체 실험을 통하여 C, EC, ECG, EGC, EGCG 등은 항암작용(112, 113), 항동맥경화(114) 능력을 발휘하며 향후 유용한 phytochemical로 인식되고 있다. 본 연구의 원적외선 조사 장치는 녹차잎 가공 공정에 응용되어 녹차의 TPC와 TFC를 증가시켰다 (**Table 4-1**). 원적외선이 조사된 모든 녹차 시료에서 TPC와 TFC가 증가되었는데, 가장 높은 TPC는 대조구의 116.30 mg/g에 비해 FG 3에서 171.77 mg/g으로 47.7%가 증가하였다. TFC의 경우에도 대조구의 17.54 mg/g에 비해 FG 3에서 24.76 mg/g으로 41.1%가 증가하였다. 아울러, AAC도 대조구의 3.07 mg/g에서 FG 3에서 4.20 mg/g으로 증가하였다.

본 연구진들은 그간의 체계적인 연구를 통하여 원적외선 조사가

녹차잎에 함유된 폴리페놀 화합물의 유리화를 촉진하며, 특히 녹차잎의 가공 공정에서 덩음 공정과 완제품에 대한 원적외선 조사가 매우 효과적임을 확인한 바 있다. 이러한 사실을 바탕으로 현재 녹차잎 가공에 이용되는 드럼형 덩음 장치에 응용될 수 있는 막대형 원적외선 조사 장치를 제작하여 기존의 장치에 응용한 결과 이전과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 이것은 기존의 가공 장치를 변형하지 않고 간단한 원적외선 장치를 추가 제작함으로써 본 연구결과를 실용화할 수 있음을 의미하며, 본 연구 결과의 산업화에 중요한 밑받침이 된다.

나. 카테킨 및 카페인 함량

본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치를 응용한 녹차잎 유래 녹차 시료를 HPLC로 분석하여 카테킨, 카페인 함량을 구하여 **Table 4-2**에 나타내었다. 이전의 결과와 마찬가지로 FG 3에서의 EGCG는 가장 높은 값을 보였는데, 원적외선 조사되지 않은 대조구에 비하여 EGCG는 20.61 mg/g로부터 28.54 mg/g로 증가하였다.

Epicatechin epimer (C, CG, GC, GCG)는 원래 녹차잎에 존재하지 않으며 epicatechin (EC, ECG, EGC, EGCG)의 열처리에 의한 에피머화에 의해 유래한다(127). 캔이나 병에 든 녹차 음료수를 120℃에서 가열 멸균할 때 상당량 (약 50%의 카테킨이 2번 위치에서 에피머화되어 C, GC, CG, GCG가 생성된다 (89, 126). 한편, 본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치를 녹차 제조 공정에 응용하면 카테킨과 에피카테킨 함량 모두 증가하였다. FG 3에서의 녹차는 대조구에 비해 epicatechin 전체 함량은 52.51 mg/g에서 60.26 mg/g으로 증가하였고, epicatechin epimer도 같은 조건에서 1.45 mg/g에서 2.50 mg/g으로 증가하였다. 이는 녹차잎에 대한 원적외선 조사는 카테킨의 에피머화뿐만 아니라 카테킨 함량 자체도 증가시킴을 의미한다.

다. 아질산 소거능 (NSA)

본 연구에서 제작된 원적외선 조사 장치를 도입한 녹차 공정에서 제조된 녹차의 NSA를 측정하여 **Table 4-3**에 나타내었다. 원적외선 조사는 pH 3.0과 pH 4.2에서의 NSA는 증가시켰으나, pH 6.0에서는 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 녹차의 NSA가 낮은 pH에서 잘 발휘되며 높은 pH에서는 잘 나타나지 않기 때문으로 생각된다.

모든 시료의 pH 3.0에서의 NSA는 90%이상으로 매우 높았는데, 대조구는 92.95이었으며 FG 3에서는 96.12%이었다. pH 4.2에서는 대조구가 37.89%이었으며, FG 3에서 48.47%이었다. pH 6.0에서는 대조구가 -2.25%이었고, FG 3에서 0.19%이었다. 결론적으로 본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치는 녹차의 가공 공정에 도입되어 NSA를 향상시킬 수 있었다.

라. 관능검사

본 연구에서 제조한 녹차의 관능검사 결과를 **Table 4-4**에 나타내었다. 녹차의 단맛, 우마미, 향은 원적외선 조사 장치에 의해 향상되었으며, 쓴맛과 떫은맛은 감소하였다. 녹차 중에서는 FG 3의 것이 전체적으로 가장 우수한 점수를 획득하였다.

결론적으로 **Fig. 4-1**와 같이 본 연구에서 제작한 원적외선 조사 장치는 기존의 녹차 가공 장치에 도입되어 녹차의 품질 향상을 가능하게 하였다. 이로써 기존의 녹차 제조 장치에 큰 부담없이 원적외선 조사 장치를 응용하여 새로운 고품질 녹차를 제조할 수 있었다.

Table 4-1. Effect of FIR Heating on DPPH Radical Scavenging Activity, Total Phenol Contents, Total Flavanol Contents, and Ascorbic Acid Contents of Green Tea Leaves

	Processing methods			
	Control	FG-1	FG-2	FG-3
DPPH RSA (%)	65.55 ^c	70.07 ^b	67.07 ^c	75.73 ^a
TPC (mg/g)	116.30 ^d	128.89 ^c	135.56 ^b	171.77 ^a
TFC (mg/g)	17.54 ^d	22.25 ^b	20.87 ^c	24.76 ^a
AAC (mg/g)	3.07 ^b	3.25 ^b	3.25 ^b	4.20 ^a

Green tea leaves were irradiated by FIR heater, and green tea extract was made by soaking the leaves in water bath (1.0 g leaves/100 ml of water, 75°C). DPPH RSA, DPPH radical scavenging activity, TPC, total phenolic contents; TFC, total flavanol contents; AAC, ascorbic acid contents. SEM, standard error of the means. All values are on a dry green leaf basis (mg/g). Different letters (a-d) within a row indicate significant difference ($P < 0.05$), $n=3$.

Table 4-2. Effect of FIR Heating on Catechins and Caffeine in Green Tea

Processing methods				
	Control	FG-1	FG-2	FG-3
EC	8.34 ^a	7.59 ^a	5.48 ^b	8.86 ^a
ECG	2.41 ^b	2.41 ^b	1.96 ^c	4.59 ^a
EGC	21.15 ^a	20.84 ^a	14.87 ^a	18.27 ^a
EGCG	20.61 ^b	19.86 ^b	12.46 ^c	28.54 ^a
C	0.26 ^b	-	0.22 ^c	0.59 ^a
CG	-	-	-	-
GC	0.73 ^c	0.86 ^b	0.57 ^d	1.15 ^a
GCG	0.46 ^b	-	-	0.76 ^a
Caffeine	18.09 ^a	15.12 ^c	11.09 ^d	17.74 ^b

Green tea leaves were irradiated by FIR heater as shown in Fig. 2, and green tea extract was made by soaking into water in water bath (1.0 g leaves/100 ml of water, 75°C). GA, gallic acid; EGC, epigallocatechin; C, catechin; EGCG, epigallocatechin gallate; EC, epicatechin; GCG, gallocatechingallate; ECG, epicatechingallate; CG, catechingallate. All values are on a dry green leaf basis (mg/g). Different letters (a - d) within a row indicate significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

Table 4-3. Effect of FIR Heating on Nitrite Scavenging Activity of Green Tea under Different pH Conditions

(unit: %)

	Processing methods			
	Control	FG-1	FG-2	FG-3
pH 3.0	92.95 ^c	94.30 ^b	94.82 ^b	96.12 ^a
pH 4.2	37.89 ^d	39.90 ^c	41.65 ^b	48.47 ^a
pH 6.0	-2.25 ^a	-3.06 ^a	-0.96 ^a	0.19 ^a

Different letters (a - d) within a row indicate significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

Table 4-4. Sensory evaluation of several kinds of green teas

	Processing methods			
	Control	FG-1	FG-2	FG-3
Bitterness	6.0 ^a	6.0^a	3.6^b	4.0^b
Sweetness	4.0 ^b	3.6 ^b	4.8 ^b	6.6 ^a
Astringency	4.8 ^b	6.4 ^a	3.6 ^b	3.8 ^b
Umami	3.8 ^b	4.0 ^b	4.4 ^b	6.2 ^a
Aroma	4.2 ^a	5.0 ^a	4.6 ^a	6.0 ^a
Overall	3.8 ^b	4.4 ^b	4.6 ^b	6.6 ^a

Different letters (a - b) within a row are significantly different ($P < 0.05$), $n = 3$.

제 5 절 원적외선 처리 녹차잎 추출물 응용효과

1. 연구개발 내용

가. 녹차 추출물의 제조

시판 녹차잎 2.0 g을 Pyrex petri dish (8.0 cm diameter)에 펼치고 2-14 μm 의 파장을 방출하는 원적외선 히터 (35 × 10 cm, output 300 W, Hakko Electric Machine Works Co., Ltd, Nagano, Japan)가 장착된 원적외선 건조기 (A-Sung Machine, Korea)에서 110°C에서 10분간 원적외선을 조사하였다. 시료는 조사되는 동안 360° 회전되도록 하여 골고루 조사되도록 하였고, 녹차와 원적외선 히터 사이의 거리는 14±1 cm가 되도록 하였다. 조사 후에는 녹차잎을 상온에서 식혔고 곧바로 30배(w/v)의 에탄올을 가하여 shaking incubator(상온, 100 rpm)에서 24시간 추출하였다. 녹차 추출물은 Whatman No.1 여과지를 사용하여 여과하고, rotary evaporator를 이용하여 35°C에서 농축한 후, 적당한 농도로 에탄올에 녹여 사용하였다.

나. 식품 항산화제 효능 측정 방법

닭고기 패티의 제조: 16 종류의 닭 가슴살을 채취하여 4 kg을 모은 후, 이를 각각 1 kg 씩 나누어서 무침가구(대조구), 로즈마리 추출물 첨가구(1%(v/w)), 대조구 녹차 추출물 첨가구(1%(v/w)), 원적외선 처리 녹차 추출물 첨가구(1%(v/w))로 구분하여 패티를 제조하였다. 먼저 각각 1 kg의 닭 가슴살을 그라인더를 이용해 잘게 부순 후 그 위에 첨가할 물질들을 각 농도별로 첨가한다. 첨가물을 넣은 후 다시 한 번 그라인더를 이용하여 각각의 첨가물들이 고기 사이에 잘 섞이도록 한다. 잘 섞은 후 각각의 샘플을 40 g의 크기가 되게 패티를 제조한다. 그 후에 고기 패티를 90°C 항온수조를 이용하여 가열하고 호기적인 4°C 냉장고에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

TBARS 분석: 지질의 산화정도는 TBARS 법을 이용하여 분석하였다. 준비된 닭고기 5 g을 15 mL의 증류수가 들어있는 50 mL 시험관에 넣은 후 분쇄기를 이용하여 분쇄한다. 분쇄물 1 mL을 새로운 시험관 (13×100 mm)에

옳게 담은 후 butylated hydroxytoluene (7.2%, 50 μ L)와 thiobarbituric acid/trichloroacetic acid [20 mM TBA and 15% (w/v) TCA] 용액 2 mL을 첨가하여 잘 섞어주고 90 $^{\circ}$ C 항온수조에서 15분간 가열한 후 즉시 냉각수에 10분간 넣어 식힌다. 식은 샘플을 5 $^{\circ}$ C, 3,000 \times g에서 15분간 원심분리를 한 후 상정액의 흡광도를 531nm에서 측정하였다. 대조구는 1 mL의 증류수에 2 mL의 TBA/TCA 용액을 첨가한 것을 사용하였다. TBARS의 수치는 malonaldehyde (MDA)의 mg양으로 나타내었다.

GC/MS 분석: Dynamic headspace 분석법을 이용하여 측정하였으며 사용된 기계는 Solatek 72 multimatrix vial autosampler, purge, trap concentrator 3100 (Tekmar-Dohrmann, Cincinnati, OH), GC-mass spectrometer (GC-MS, Hewlett-Packard Co., Wilmington, DE)이었다. 샘플 1 g을 40 mL의 vial에 넣은 후 vial을 헬륨가스로 3초 동안 충전하여 밀봉하였다. 밀봉된 vial은 GC-MS로 분석하기 전까지 4 $^{\circ}$ C에 보관하여 샘플이 산화되는 것을 최소화하여 막는다. 사용된 column은 Tenax/charcoal/silica column 이며 GC-MS 초기 오븐의 온도 조건은 0 $^{\circ}$ C에서 1.5분간 유지 했다가 15 $^{\circ}$ C까지는 2.5 $^{\circ}$ C/min의 속도로 증가시키고 170 $^{\circ}$ C까지는 10 $^{\circ}$ C/min의 속도로 증가시킨 후 2.25분 동안 유지시켜서 측정한다. 총 peak area는 total ion counts \times 10⁴이며 닭고기 샘플로부터 나오는 일반적인 휘발성 물질들을 측정하였다.

다. 화장품 시스템에서의 녹차 추출물의 영향

다. Tyrosinase 저해 활성 측정

녹차 추출물의 미백 효과를 측정하기 위하여 화장품 업계에서 널리 이용하고 있는 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다. 대조 녹차 및 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물(0.1mL, 1 mg/mL)을 버섯 tyrosinase (20 μ L, 1500 Unit/mL), L-tyrosine (40 μ L, 1.5 mM)이 함유된 sodium phosphate buffer (0.14 mL, 0.05 M, pH 6.8)와 혼합하여 37 $^{\circ}$ C에서 15분간 반응시켰다. 그 후 반응액을 490 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 따라 Tyrosinase 저해 활성을 구하였다.

% Tyrosinase inhibition activity

$$= [1 - ((\text{sample OD} - \text{sample blank OD})/\text{control OD})] \times 100$$

다. 인공세포계에서 원적외선 처리된 녹차 추출물의 효과

실험 재료 : 암세포의 성장억제 효과 실험에 사용된 시약과 세포주 배양에 사용된 시약 중 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하였고, Rosewell Park Memorial Institute(RPMI) 1640 medium, fetal bovine serum(FBS) 및 penicillin-streptomycin 등은 Gibco-BRL(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, 그 외 연구에 사용된 모든 시약은 주로 특급 및 일급 시약을 사용하였다.

암세포주의 배양: 본 실험에 사용된 암세포주는 대장암 유래 세포인 HT-29(human colon carcinoma), 와 유방암 세포 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion)로 한국세포주은행(KCLB, Seoul)으로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. 세포배양을 위한 배지는 모두 RPMI 1640 medium을 사용하였으며 10% fetal bovine serum(FBS)과 100 unit/ml의 penicillin, 100 mg/ml의 streptomycin을 각각 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

암세포 성장억제 효과의 측정: 녹차 추출물의 암세포 성장 억제효과를 측정하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 각각의 암세포주를 96-well plate에 1×10^5 cells/ml의 농도로 100 µl씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후, DMSO에 용해된 비단폴 추출물을 각각 5, 10 mg/ml의 농도로 처리하였다. 24시간 후, 각 well에 MTT(5 mg/ml) 용액을 10 µl씩 첨가하여 약 1시간 동안 다시 배양한 다음 형성된 formazan을 100 µl의 DMSO에 용해시키고 ELISA reader(Bio-Rad, microplate, Model 680, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포 성장억제 효과는 대조구 세포수를 100%로 하였을 때, 상대적인 암세포 성장 억제율을 산

출하여 결정하였다.

암세포주의 형태학적 관찰: 녹차 추출물에 대한 각각의 암세포주의 형태학적인 관찰을 위해 6-well plate에 1×10^5 cells/well로 각각 2 ml씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후, DMSO로 용해된 녹차 추출물을 각각 5, 10 mg/ml의 농도로 처리하였다. 녹차 추출물을 처리한 24시간 후, inverted microscope (Nicon, Japan)로 각 well의 세포형태를 100배 배율로 관찰하였다.

라. 통계처리

모든 측정은 3회 반복하여 행해졌으며, 그 결과는 SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준편차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다.

2. 연구개발 결과

가. 닭고기 저장중 항산화 효과

녹차의 에탄올 추출물은 Table 5-1 에서 보듯이 닭고기에 첨가되어 훌륭한 항산화 활성을 나타내었다. 원적외선 조사된 녹차의 에탄올 추출물은 대조구 녹차 추출물보다 우수한 항산화 활성을 보여주었다. 호기적인 조건에서 저장기간이 증가할수록 전체적으로 지방의 산화가 급속히 증가하여 조리된 닭고기의 단백질을 변성시키는 것을 확인할 수 있다. 그러나 저장 3일째를 보게 되면, 대조 녹차의 에탄올 추출물을 첨가한 닭고기가 대조구보다 TBARS 값을 56.1%까지 낮추었으며, 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물을 첨가한 닭고기는 대조구보다 TBARS 값을 47.9%까지 낮추면서 지방의 산화를 억제하였다. 로즈마리 추출물의 경우는 정제된 것이므로 녹차 추출물보다는 우수한 활성을 보였다. 이상으로부터 원적외선을 조사하면 녹차의 항산화활성이 우수하여 닭고기의 산화를 억제하는 효과가 높음을 확인하였다.

닭고기의 저장에 있어서 휘발성 물질의 생산을 방지하는 것은 아주 중

요한 문제이다. 휘발성 물질 중에서도 특히 hexanal과 heptanal은 알데하이드기를 포함하며 지방의 산화에 의해 생성되는 주류를 이루는 물질들이다. Hexanal과 heptanal의 경우를 살펴보면 저장기간이 증가함에 따라 같이 많은 양이 증가되어 생성되며 총 휘발성물질의 생산량의 50% 정도를 차지하고 있다. 대조 녹차 및 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물은 효과적으로 휘발성 물질의 생산을 억제하였다(Table 5-2 ~ Table 5-4). 이상의 결과에서 총 휘발성물질의 양에 따라 닭고기가 어느 정도 지방의 산화가 이루어지고 있음을 측정할 수 있다. 무처리구인 대조구 닭고기를 살펴보면 전체적으로 저장기간이 증가함에 따라 총 휘발성물질의 양은 급격히 증가되어짐을 볼 수 있으며 지방의 산화가 활발하게 이루어지고 있다는 것을 보여주고 있다. 하지만 그에 반해 녹차의 에탄올 추출물이 첨가된 닭고기의 경우 대조구보다 총 휘발성물질의 생성량이 억제되었고 저장 3일째에는 대조구의 45.0% 수준으로 총 휘발성물질 생산량을 감소시켰다. 원적외선 조사 녹차 추출물이 첨가된 닭고기의 경우 대조 녹차보다 총 휘발성물질의 생성량을 억제시켰고 저장 3일째에는 대조구의 40.9%수준으로 총 휘발성물질 생산량을 감소시켰다. 이상의 결과에서 원적외선 조사된 녹차는 대조 녹차에 비해 닭고기에 첨가되었을 때 더 우수하게 지방의 산화를 억제하여 휘발성 물질의 생산을 감소시켰다.

Table 5-1. TBARS values of cooked chicken breast meat with the addition of rosemary extract, commercial green tea extract (GE), and far-infrared irradiated green tea extract (FGE) during refrigerated storage.

(mg of MDA/kg of meat)

Storage (day)	Treatment			
	Control	Rosemary	GE	FGE
0	0.095az	0.055cz	0.073z	0.061bz
1	0.530ay	0.098cy	0.274by	0.226by
3	0.934ax	0.151cx	0.524bx	0.447bx

Table 5-2. Volatiles profile of cooked chicken breast meat with addition of rosemary extract, commercial green tea extract (GE), and far-infrared irradiated green tea extract (FGE) at 0day.

Compounds	Total ion counts $\times 10^4$			
	Control	Rosemary	GE	FGE
Hydrocarbons				
heptane	258a	45b	132a	108a
hexane	86	110	114	112
octane	153ab	216a	80b	73
pentane	816a	323b	436b	256a
toluene	0b	272a	0b	0a
Carbonyls				
2-propanone	7554b	7279b	7458a	7309ab
butanal	0	0	0	0
heptanal	72a	0b	0b	0a
hexanal	10423a	650c	3179b	2787
pentanal	822a	37c	291b	231
propanal	1345a	0c	116b	85a
Others				
decane	93b	0c	33a	30a
disulfide, dimethyl	273b	822a	246b	240a
Total	21852a	9781c	12085b	11231

Table 5-3. Volatiles profile of cooked chicken breast meat with addition of rosemary extract, commercial green tea extract (GE), and far-infrared irradiated green tea extract (FGE) at 1day.

Compounds	Total ion counts $\times 10^4$			
	Control	Rosemary	GE	FGE
Hydrocarbons				
heptane	474a	69c	179b	145a
hexane	173	185	194	183
octane	233	143	182	164
oxirane	106a	0c	35b	97a
pentane	1835a	311c	766b	626
toluene	79b	271a	25b	21
Carbonyls				
2-propanone	6727	7017	7234	6953
butanal	60	12	33a	27
heptanal	288a	90b	157a	132a
hexanal	28371a	6701c	10268b	8937
pentanal	2424a	456c	561b	524
propanal	5106a	545c	784b	723
Others				
decane	324	257	278	271
disulfide, dimethyl	132	177	174	168
Total	46,332	16,234	20,870	18,971

Table 5-4. Volatiles profile of cooked chicken breast meat with addition of rosemary extract, commercial green tea extract (GE), and far-infrared irradiated green tea extract (FGE) at 3days.

Compounds	Total ion counts $\times 10^4$			
	Control	Rosemary	GE	FGE
Hydrocarbons				
heptane	1103a	88c	523	445ab
hexane	303a	99b	179b	142b
octane	782a	175c	355b	319b
oxirane	689a	0c	213b	168ab
pentane	3753a	366c	1459b	1046b
toluene	102	234a	74b	57a
Carbonyls				
2-heptanone	143a	0b	51a	47ab
2-propanone	5413b	5827b	6238a	6126ab
butanal	480	156	332	288
heptanal	809a	199b	423a	357b
hexanal	67623a	19500c	35356b	31053b
pentanal	8710a	1473c	3375b	2980
propanal	11688a	1527c	2835b	2234
Others				
decane	542	356	447	411
disulfide, dimethyl	733	708	725	726
Total	102,873	30,708	52,585	46,399

나. Tyrosinase 저해 활성

멜라닌 화합물은 동식물에 널리 존재하는 천연 거대 색소 분자로서 tyrosinase에 의해 tyrosine으로부터 dopaquinone을 거쳐 합성된다. 따라서 tyrosinase에 의한 산화적 갈변 반응을 억제하면 색소 생성이 억제되고, 이를 이용하여 미백 화장품이 개발되고 있다. 본 과제에서 연구하고 있는 대조 녹차와 원적외선 조사 녹차의 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 **Table 5-5**에 나타내었다. 대조구 녹차 추출물은 71.26%의 효소 저해능을 보이지만, 원적외선을 조사한 녹차의 추출물은 79.73%의 저해능을 보임으로써 더 우수한 효소 저해능을 나타내었다. 이로써 녹차 추출물을 화장품의 미백효과를 위하여 첨가될 때 원적외선 조사가 효율적임을 확인할 수 있었다.

Table 5-5. Effect of far-infrared irradiation on tyrosinase inhibition activity (%) of green tea extracts

Tyrosinase inhibition activity (%)	
Non-irradiated Green tea extract	71.26x
Far-infrared irradiated Green tea extract	79.73y

Different letters (x-y) within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

다. 항암효과 측정

암세포 성장억제 효과를 검증하기 위하여, 인간의 대장암 유래의 세포주 HT-29에 대한 녹차 추출물의 암세포 성장 억제 효과를 측정한 결과는 Fig. 5-1와 같다. 각 녹차 추출물이 대장암 HT-29세포주의 형태학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 inverted microscope로 세포형태를 관찰한 결과, 대조구(A)는 암세포가 조밀하게 정상적으로 성장하는데 반해 각각 추출물을 500 µg/mL의 농도로 처리한 세포는 결속력이 감소되어 세포 주위가 흐트러지고 세포가 응축되어 사멸된 것을 관찰할 수 있었다. 원적외선 처리된 녹차의 추출물(C)은 일반 녹차 추출물의 경우(B)와 크게 세포의 응축과 세포수의 감소가 일어남으로 해서 암세포 성장 억제효과에 대한 활성이 가장 높음을 확인할 수 있었다.

이러한 형태학적인 변화에 따라 각 용매에 대한 추출물의 항암효과를 조사하기 위해 MTT reduction assay 방법(102)을 이용하여 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 암세포 성장 억제효과를 확인하였다(Fig. 5-2). 녹차 추출물을 10, 50, 100, 500 µg/mL의 농도로 각각 처리하였을 때 일반 녹차 추출물의 경우 500 µg/mL의 농도에서 66.1%의 약한 활성을 보이는 반면, 원적외선 처리된 녹차 추출물의 경우에는 46.3%의 강한 항암활성을 보였다. 특히 형태학적 변화의 결과와 비교하여 원적외선 처리된 녹차의 추출물은 상대적으로 우수한 항암 활성을 가지고 있다는 것을 알 수 있었다.

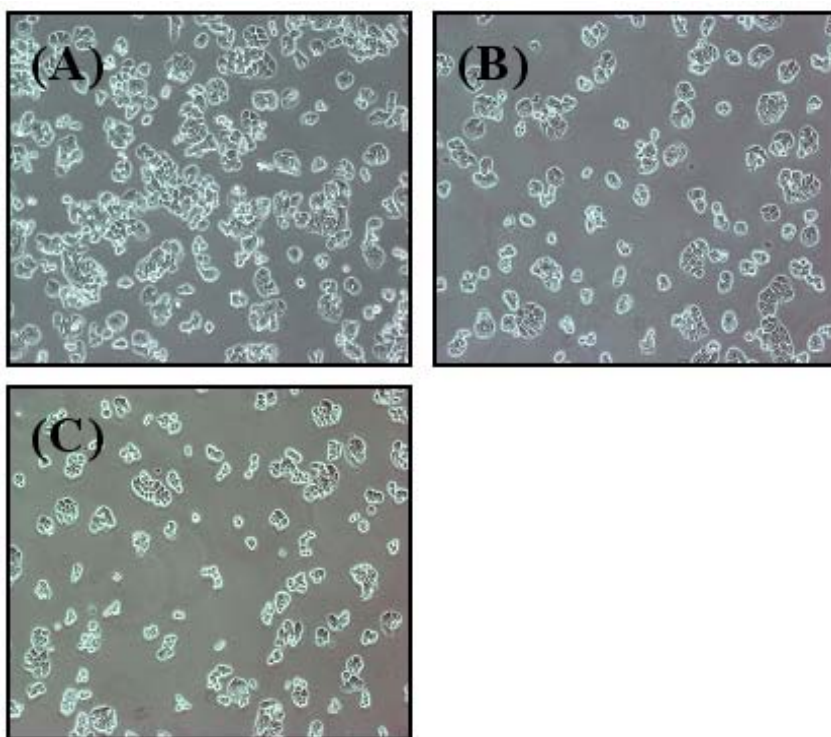


Fig. 5-1. 인간 대장암 HT-29 세포주에서 녹차 추출물에 의한 형태학적 변화.

(A) 대조구, (B) 일반 녹차 추출물, (C) 원적외선 조사 녹차 추출물

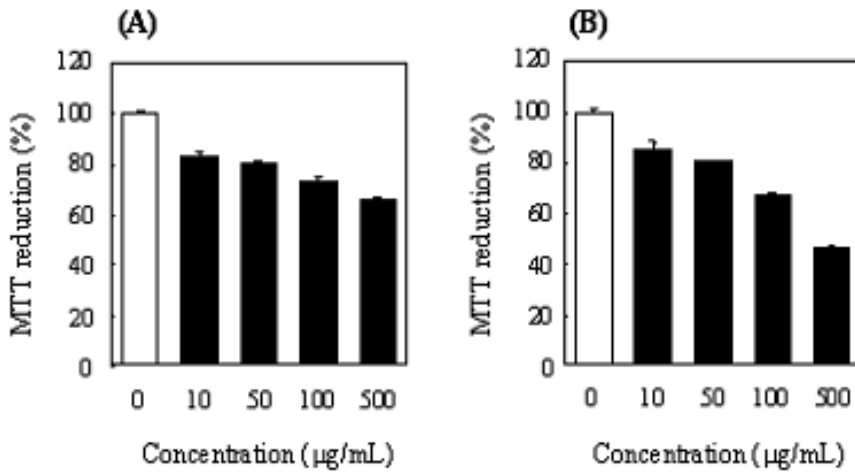


Fig. 5-2. 인간 대장암 HT-29 세포주에서 녹차 추출물에 의한 세포 성장 억제 효과.

(A) 일반 녹차 추출물, (B) 원적외선 조사된 녹차 추출물

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

Pilot 규모 원적외선 복사처리장치는 녹차의 주요생리 성분인 에피카테킨류의 hydroxyl group의 분자운동에 의한 흡수파장대인 2.5~15.0 μm 에서 방사율이 0.85 이상인 세라믹형 방사체를 선정하여, Ceramic plate 원적외선 방사체 (규격 125 x 250 mm) 5장을 일렬로 하는 처리기를 직경 600mm 길이 1800mm의 rotary형 덩음장치 내에 장착시키는 원리로 설계하여 한번에 20~50 KG(300 L)의 생엽을 처리할 수 있는 처리 장치를 제작하였다.

보성 녹차 시험원의 녹차 가공공장 현장에서 시운전을 통하여, 이 장치의 처리 공정 변수는 세라믹 방사체의 가열온도 조절을 위한 투입 전력, 방사체와 시료와의 거리 조절에 의한 피사체 시료의 가열온도 및 복사 시간으로 확인 되었다. 기존 덩음/건조 장치 내에 시작 원적외선 처리기를 장착하여 각 단계별 공정의 최적공정변수를 도출하였다. 즉, 덩음단계에서 덩음기의 외부 가열을 250 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하고, 원적외선 발열체의 온도를 300 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하여 대조구에의 25분 처리시간을 15분으로 단축할 수 있었다. 원적외선 처리장치를 건조공정에 적용할 경우 발열체의 온도를 350 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였으며, 건조시간은 대조구의 15분에서 10분으로, 2차건조시간은 대조구의 40분에서 15 분으로 단축할 수 있어, 소요 에너지를 줄일 수 있음을 확인하였다.

원적외선 복사처리장치의 성능시험을 위하여, 공정단계별 단독 또는 복합 원적외선 복사처리가 녹차의 생리활성성분의 추출율을 크게 향상시킬 수 있음을 확인하였다. 에탄올 함량을 달리한 추출물의 총 페놀함량, 총 플라바놀 함량, HPLC를 통한 카페인, 갈레이트, 카테킨, 에피카테킨, 에피카테킨갈레이트, 에피갈로카테킨, 에피갈로카테킨갈레이트, 갈로카테킨, 카테킨갈레이트, 갈로카테킨갈레이트 함량을 측정하였으며, 아스코르브산의 함량, 색도, 아질산염 소거능, 그리고 관능검사를 실시한 결과 마지막으로 전체적 평가에서 원적외선 처리한 녹차가 무처리구의 녹차에 비해 모든 가공공정상에서 증가하는 것을 나타내었다. 즉, 녹차의 덩음제조시 최초 덩음공정, 또는 최종 건조공정에 원적외선 복사처리장치를 사용하여, 덩음시 복사처리 및 건조하므로써, 녹차의 유용 생리활성 물질의 추출율을 크게 증가시킬 수 있음을 확인 할 수 있었다.

원적외선 처리한 녹차에서 추출한 알코올 추출물은 닭고기 가슴살의 저장중 지질산화의 억제 효과가 기존 녹차 추출물에 비하여 높았고, tyrosinase 활성 저해능비교 실험결과 유의성 있는 차이를 나타내었다. 그리고, 대장암 HT-29세포주의 성장 억제 효능도 월등함을 나타내었다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

2편의 논문발표하고, 특허를 출원중에 있으며, 참여업체에 기술이전 하기 위한 설명회를 개최할 예정.

추출물의 저장안정화를 통한 제제화를 위한 추가 연구를 계획중임.

제 6 장 참고문헌

1. Choi OJ. 2003. Physicochemical properties of Korean wild teas (green tea, semi-fermented tea, and black tea) according to degree of fermentation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 356-362.
2. Sato T, Miyata G. 2000. The nutraceutical benefit, part I: Green tea. *Nutr* 16: 315-317.
3. Graham HN. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 21: 334-350.
4. Yamanishi T, Hara Y, Luo S, Wickremasinghe RL. 1995. Special issue on tea. *Food Rev Int* 11: 371-546.
5. Ahmad N, Mukhtar H. 1999. Green tea polyphenols and cancer: biologic mechanisms and practical implications. *Nutr Rev* 57: 78-83.
6. Henning SM, Fajardo-Lira C, Lee HW, Youssefian AA, Go VL, Heber D. 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. *Nutr Cancer* 45: 226-235.
7. Gulati A, Rawat R, Singh B, Ravindranath SD. 2003. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *J Agric Food Chem* 51: 4764-4768.
8. Wang LF, Kim DM, Lee CY. 2000. Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *J Agric Food Chem* 48: 4227-4232.
9. Herrmann K. 1989. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28: 315-347.
10. Gil-Izquierdo A, Gil MI, Tomas-Barberan FA, Ferreres F. 2003. Influence of industrial processing on orange juice flavanone solubility and transformation to chalcones under gastrointestinal conditions. *J Agric Food Chem* 51: 3024-3028.
11. Duh PD, Yen GC, Yen WJ, Chang LW. 2001. Antioxidant effects of

- water extracts from barley (*Hordeum vulgare* L.) prepared under different roasting temperatures. *J Agric Food Chem* 49: 1455-1463.
12. Nicoli MC, Anese M, Manzocco L, Leric CR. 1997. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensm Wiss Technol* 30: 292-297.
 13. Inoue S, Kabaya M. 1989. Biological activities caused by far-infrared radiation. *Int J Biometeorol* 33: 145-150.
 14. Niwa Y, Miyachi Y. 1986. Antioxidant action of natural health products and chinese herbs. *Inflammation* 10: 79-91.
 15. Lee SC, Kim JH, Jeong SM, Kim DR. 2003. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J Agric Food Chem* 51: 4400-4403.
 16. Price ML, Scoyoc SV, Butler LG. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J Agric Food Chem* 26: 1214-1218.
 17. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 18. Wang H, Provan GJ, Helliwell K. 2003. HPLC determination of catechins in tea leaves and tea extracts using relative response factors. *Food Chem* 81: 307-312.
 19. SAS Institute. 1995. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 20. Nebesny E, Budryn G. 2003. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds *Eur Food Res Technol* 217: 157-163.
 21. Toschi TG, Bordoni A, Hrelia S, Bendini A, Lercker G, Biagi PL. 2000. The protective role of different green tea extracts after oxidative damage is related to their catechin composition. *J Agric Food Chem* 48: 3973-3978.

22. Crespy, V.; Williamson, G. A review of the health effects of green tea catechins in *in vivo* animal models. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 3431S - 3440S.
23. Thorngate III, J. H.; Noble, A. C. Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3R(-)-epicatechin and 3S(+)-catechin. *J. Sci. Food Agric.* **1995**, *67*, 531 - 535.
24. Nakagawa, M. Contribution of green tea constituents to the intensity of taste element of brew. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **1975**, *22*, 59 - 64.
25. Astill, C.; Birch, A. R.; Dacombe, C.; Humphrey, P. G.; Martin, P. T. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 5340 - 5347.
26. Khokhar, S.; Magnusdottir, S. G. M. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 565 - 570.
27. Wang, L. F.; Kim, D. M.; Lee, C. Y. Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4227 - 4232.
28. Karamali, K.; Teunis van, R. Tannins: Classification and definition. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 641 - 649.
29. Lee, S. C.; Kim, J. H.; Jeong, S. M.; Kim, D. R.; Ha, J. U.; Nam, K. C.; Ahn, D. U. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4400 - 4403.
30. Lee, S.C.; Jeong, S.M.; Kim, S.Y.; Park, H.R.; Nam, K. C.; Ahn, D. U. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls. *Food Chem.* **2006**, *94*, 489-493.
31. Lee, S.C.; Jeong, S.M.; Kim, S.Y.; Nam, K. C.; Ahn, D. U. Effect of far-infrared irradiation on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *53*, 1495 - 1498.
32. Inoue, S.; Kabaya, M. Biological activities caused by far-infrared radiation. *Int. J. Biometeorol.* **1989**, *33*, 145 - 150.
33. Niwa, Y.; Kanoh, T.; Kasama, T.; Neigishi, M. Activation of antioxidant activity in natural medicinal products by heating, brewing and lipophilization. A new drug delivery system. *Drugs Exptl. Clin. Res.* **1988**, *14*, 361 - 372.
34. Gutfinger, T. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1981**, *58*, 966 - 968.
35. Price, M. L.; Scoyoc, S. V.; Butler, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26*, 1214 - 1218.

36. Sikic, B. I.; Mimnaugh, E. G.; Litterst, C. L.; Gram, T. E. The effects of ascorbic acid deficiency and repletion on pulmonary, renal and hepatic drug metabolism in the guinea pig. *Arch. Biochem. Biophys.* **1977**, *179*, 663 - 671.
37. Mastrocola, D.; Lerici, C. R. Colorimetric measurements of enzymatic and non-enzymatic browning in apple purees. *Italian J. Food Sci.* **1991**, *3*, 219 - 229.
38. Goto, H.; Ikeda, I.; Kobayashi, M.; Hamada, T.; Tsuda, K.; Imaizumi, K.; Nozawa, A.; Sugimoto, A.; Kakuda, T. Heat-epimerized tea catechins rich in gallic catechin gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7303 - 7307.
39. Kato, H.; Lee, I. E.; Chuyen, N. V.; Kim, S. B.; Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, *51*, 1333 - 1338.
40. SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide* SAS Institute Inc.: Cary, NC. 1995.
41. Yamanishi, T.; Hara, Y.; Luo, S.; Wickremasinghe, R. L. Special issue on tea. *Food Rev. Int.* **1995**, *11*, 371 - 546.
42. Sakanaka, S.; Kim, M.; Taniguchi, M.; Yamamoto, T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*, 2307 - 2311.
43. Chung, F.; Xu, Y.; Ho, C.; Desai, D.; Han, C. Protection against tobacco-specific, nitrosamine-induced lung tumorigenesis by green tea and its components. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II* Huang, M., Ho, C., Lee, C. Y., Eds.; ACS Symposium Series 507 American Chemical Society: Washington, DC, **1992** pp 300 - 307.
44. Chung, K.; Wei, C.; Johnson, M. C. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Food Sci. Technol.* **1998**, *9*, 168 - 175.
45. Niwa, Y.; Miyachi, Y. Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. *Inflammation* **1986**, *10*, 79 - 91.
46. Nicoli, M. C.; Anese, M.; Manzocco, L.; Lerici, C. R. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensm.-Wiss. Technol.* **1997**, *30*, 292 - 297.
47. Gulati, A. Rawat, R.; Singh, B.; Ravindranath, S. D. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4764 - 4768.
48. Xu, J. Z.; Leung, L. K.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. Epimerisation of tea polyphenols in tea drinks. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1617 - 1621.

49. Seta, R.; Nakamura, H.; Nanjo, F.; Hara, Y. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Basic. Biotech. Biochem.* **1997**, *61*, 1434 - 1439.
50. Chen, Z. Y.; Kuhn, Q. Y.; Tsang, D.; Huang, Y. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 477 - 482.
51. Jo, C.; Son, J. H.; Lee, H. J.; Bun, M. W. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extract. *Radiat. Phys. Chem.* **2003**, *66*, 179 - 184.
52. An, B. J.; Kwak, J. H.; Son, J. H.; Park, J. M.; Lee, J. Y.; Jo, C.; Byun, M. W. Biological and anti-microbial activity of irradiated green teapolyphenols. *Food Chem.* **2004**, *88*, 549-555.
53. Byun, M. W.; Jo, C.; Lee, J. W.; Jo, S. K.; Kim, K. S. Application of radiation technology to develop green tea leaf as a natural resource for the cosmetic industry. *Radiat. Phys. Chem.* **2004**, *71*, 485 - 487.
54. Kato, F. T.; Puck, T. T. Mutagenesis by carcinogenic nitroso compounds. *J. Cell. Physiol.* **1971**, *78*, 139-144.
56. Oldreive, C.; Zhao, K.; Paganga, G.; Halliwell, B.; Rice-Evans, C. Inhibition of nitrous acid-dependent tyrosine nitration and DNA base determination by flavonoids and other phenolic compounds. *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, *11*, 1574-1579.
57. Nakagawa, T.; Yokozawa, T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food Chem. Toxicol.* **2002**, *40*, 1745 - 1750.
58. Dreosti, I. E.; Wargovich, M. J.; Yang, C. S. Inhibition of carcinogenesis by tea: the evidence from experimental studies. *Crit. Rev. Sci. Nutr.* **1997**, *37*, 761-770.
59. Jankun, J.; Selman, S. H.; Swiercz, R.; Skrzypczak-Jankun, E. Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature* **1997**, *354*, 387-561.
60. Wiseman, S. A.; Balentine, D. A.; Frei, B. Antioxidants in tea. *Crit. Rev. Sci. Nutr.* **1997**, *37*, 705-718.
61. Yang, C. S. Inhibition of carcinogenesis by tea. *Nature* **1997**, *389*, 134-135.
62. Zhou, J. S. Chemical changes during green tea processing. In *Tea Biochemistry*, L; Wang, Z. N., Ed.; Beijing, China, **1980** pp 259-263.
63. Lee, S. C.; Kim, S. Y.; Jeong, S. M.; Park, J. H. Effect of far-infrared irradiation on catechins and nitrite scavenging activity of green tea. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 399-403.
64. Niwa, Y.; Miyachi, Y. Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. *Inflammation* **1986**, *10*, 79-91.
65. Sakanaka, S.; Kim, M.; Taniguchi, M.; Yamamoto, T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. *Agric. Biol. Chem.* **1989**, *53*,

2307-2311.

66. Chung, F.; Xu, Y.; Ho, C.; Desai, D.; Han, C. Protection against tobacco-specific, nitrosamine-induced lung tumorigenesis by green tea and its components. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health II* Huang, M., Ho, Washington, DC, **1992** pp 300-307.
67. Chung, K.; Wei, C.; Johnson, M. C. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Food Sci. Technol.* **1998**, *9*, 168-175.
68. Vinson, V.A.; Dabbagh, Y.A.; Serry, M. M.; Jang, J. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using an *in vitro* oxidation model for heart disease. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 2800-2802.
69. Miyazawa, T. Absorption, metabolism and antioxidative effects of tea catechin in humans. *Biofactors* **2000**, *13*, 55-59.
70. Gulati, A.; Rawat, R.; Singh, B.; Ravindranath, S. D. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4764-4768.
71. Xu, J. Z.; Leung, L. K.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. Epimerisation of tea polyphenols in tea drinks. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1617-1621.
72. Seta, R.; Nakamura, H.; Nanjo, F.; Hara, Y. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1997**, *61*, 1434-1439.
73. Chen, Z. Y.; Kuhn, Q. Y.; Tsang, D.; Huang, Y. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 477-482.
74. Khokhar, S.; Magnusdottir, S. G. M. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the united kingdom. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 565-570.
75. Ahmad, N.; Feyes, D.K.; Nieminen, A.L.; Agarwal, R.; Mukhtar, H. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J. Natl. Cancer Inst.* **1997**, *89*, 1881-1886.
76. Lyn-Cook, B.D.; Rogers, T.; Yan, Y.; Blann, E. B.; Kadlubar, F. F.; Hammons, G. J. Chemopreventive effects of tea extracts and various components on human pancreatic and prostate tumor cells in vitro. *Nutr. Cancer* **1999**, *35*, 80-86.
78. Cao, Y. H.; Cao, R. H. Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature* **1999**, *345*, 398-381.
79. Suzuki, Y.; Isemura, M. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate on adhesion of murine melanoma cells to laminin. *Cancer Lett.* **2001**, *173*, 15-20.
80. Wang, X.; Tian, W. Green tea epigallocatechin gallate: a natural inhibitor of fatty-acid synthase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*

2001, 288, 1200-1206.

81. Wang, X.; Song, K. S.; Guo, Q. X.; Tian, W. X. The galloyl moiety of green tea catechins is the critical structural feature to inhibit fatty-acid synthase. *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *66*, 2039-2047.
82. Kato, F. T.; Puck, T. T. Mutagenesis by carcinogenic nitroso compounds. *J. Cell. Physiol.* **1971**, *78*, 139-144.
83. Nakagawa, T.; Yokozawa, T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food Chem. Toxicol.* **2002**, *40*, 1745-1750.
84. Ho, C.T.; Chen, Q.; Shi, H.; Zhang, K.Q.; Rosen, R.T. Antioxidative effect of polyphenol extract prepared from various Chinese teas. *Prev. Med.* **1992**, *21*, 520-525.
85. Jovanovic, S.V.; Steenken, S.; Tosic, M.; Marjanovic, B.; Simic, M.G. Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4846-4851.86. Salah, N.; Miller, N. J.; Paganga, G.; Tijburg, L.; Bolwell, G. P. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *322*, 339-346.
87. Guo, Q.; Zhao, B.; Li, M.; Shen, S.; Xin, W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochim. Biophys. Acta* **1996**, *1304*, 210-222.
88. Chen, Z.Y.; Chan, P. T.; Antioxidative activity of green tea catechins in chenola oil. *Chem.Phys. Lipids.* **1996**, *82*, 163-172.
89. Chen, Z. Y.; Zhu, Q. Y.; Tsang, D.; Huang, Y. Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 477-482.
90. Nanjo, F.; Goto, K.; Seto, R.; Suzuki, M.; Hara, Y. Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radical Biol. Med.* **1996**, *21*, 895-902.
91. Pelillo, M.; Biguzzi, B.; Bendini, A.; Gallina-Toschi, T.; Vanzini, M.; Lercker, G. Preliminary investigation into development of HPLC with UV and MS-electrospray detection for the analysis of tea catechins. *Food Chem.* **2002**, *78*, 369-374.
92. Masami, S.; Sachiko, O.;Naoko,S.; Eisaburo, S.; Satoru, M.; Kazue, I.; Kei, N.; Hirota, F. Green tea and cancer chemoprevention. *Mutat. Res.* **1999**, *428*, 339-344.
93. Kang, W. S.; Lim, I. H.; Yuk, D. Y.; Chung, K. H.; Park, J. B.; Yoo, H. S.; Yun, Y. P. Antithrombotic activities of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate. *Thrombosis Res.* **1999**, *96*, 229-237.
94. Zhu, Q. Y.; Zhang, A.; Tsang, D.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. Stability of green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 4624-4628.
95. Copeland, E. L.; Clifford, M. N.;Williams, C. M.; Preparation of (-)-epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition. *Food Chem.* **1998**, *61*, 81-87.

96. Yoshida, Y.; Masaaki, K.; Tetsuhisa, G. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chem.* **1999**, *67*, 429-433.
97. Niwa, Y.; Miyachi, Y. Antioxidant action of natural health products and Chinese herbs. *Inflammation.* **1986**, *10*, 79-91.
98. Niwa, Y.; Kanoh, T.; Kasama, T.; Neigishi, M. Activation of antioxidant activity in natural medicinal products by heating, brewing and lipophilization. A new drug delivery system. *Drugs Exp. Clin. Res.* **1988**, *14*, 361-372.
99. Inoue, S.; Kabaya, M. Biological activities caused by far-infrared radiation. *Int. J. Biometeorol.* **1989**, *33*, 145-150.
100. Niwa, Y.; Miyachi, Y.; Ishimoto, K.; Kanoh, T. Why are natural plant medicinal products effective in some patients and not in others with the same disease? *Planta Med.* **1991**, *57*, 299-303.
101. Lee, S. C.; Kim, S. Y.; Jeong, S. M. Park, J. H. Effect of Far-infrared irradiation on catechins and nitrite scavenging activity of green tea. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 399 - 403.
102. Gutfinger, T. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1981**, *58*, 966 - 968.
103. Price, M. L.; Scoyoc, S. V.; Butler, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* **1978**, *26*, 1214 - 1218.
104. Sikic, B. I.; Mimnaugh, E. G.; Litterst, C. L.; Gram, T. E. The effects of ascorbic acid deficiency and repletion on pulmonary, renal and hepatic drug metabolism in the guinea pig. *Arch. Biochem. Biophys.* **1977**, *179*, 663 - 671.
105. Goto, H.; Ikeda, I.; Kobayashi, M.; Hamada, T.; Tsuda, K.; Imaizumi, K.; Nozawa, A.; Sugimoto, A.; Kakuda, T. Heat-epimerized tea catechins rich in gallicocatechin gallate and catechingallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7303 - 7307.
106. Kato, H.; Lee, I. E.; Chuyen, N. V.; Kim, S. B.; Hayase, F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, *51*, 1333 - 1338.
107. Diplock, A. T. Will the 'good faires' please proves to us that vitamin E lessens human degenerative of disease? *Free Radical Research.* **1997**, *27*, 511-532.
108. Yildirim, A.; Mavi, A.; Kara, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumaxs crispus* L. extracts. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4083-4089.
109. Gulçin, İ.; Şat, İ. G.; Beydemir, Ş.; Elmasta, M.; Küfrevioğlu, Ö . İ. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender(*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem.* **2004**, *87*,

393-400.

110. Hertog, N. C. J. L.; Hollman, P. C. H.; Katan, M. B.; Krmhout, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinations in adults in The Netherlands. *Nutr. Cancer*. **1993**, *20*, 21-29.

111. Ahmad, N.; Mukhtar, H. Green tea polyphenols and cancer: Biologic mechanisms and practical implications. *Nutr. Rev.* **1999**, *57*, 78-83.

112. Wang, H.; Provan, G. J.; Helliwell, K. Tea flavonoids: Their functions, utilization and analysis. *Food Sci. Technol.* **2000**, *11*, 152-160.

113. Miura, Y.; Chiba, T.; Tomita, I.; Koizumi, H.; Miura, S.; Umegaki, K.; Hara, Y.; Ikeda, M.; Tomita, T. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. *J. Nutr.* **2001**, *131*, 27-32.

114. Lee, S. C.; Kim, J. H.; Jeong, S. M.; Kim, D. R.; Ha, J. U.; Nam, K. C.; Ahn, D. U. Effect of far-infrared radiation on the antioxidant activity of rice hulls. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4400 - 4403.

115. Park, Y. B.; Lee, T. G.; Kim, O. K.; Do, J. R.; Yeo, S. G.; Park, Y. H.; Kim, S. B. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds *Cassia tora* L. *Food Sci. Technol.* **1995**, *27*, 124-128.

116. Gray, J. I.; Dugan Jr, L. R. Inhibition of *N*-nitrosoamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* **1975**, *40*, 981-984.

117. Oldreive, C.; Zhao, K.; Paganga, G.; Halliwell, B.; Rice-Evans, C. Inhibition of nitrous acid-dependent tyrosine nitration and DNA base determination by flavonoids and other phenolic compounds. *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, *11*, 1574-1579.

118. Lin, Y. L.; Juan, I. M.; Chen, Y. L.; Liang, Y. C.; Lin, J. K. Composition of polyphenols in fresh tea leaves and association of their oxygen radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cell. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 1387-1394.

119. Bunkova, R.; Marova, I.; Nemeč, M. Antimutagenic properties of green tea. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2005**, *60*, 25-29.

120. Guo, S.; Yang, S.; Taylor, C.; Sonenshein, G. E. Green tea polyphenol epigallocatechin-3 gallate (EGCG) affects gene expression of breast cancer cells transformed by the carcinogen 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *J. Nutr.* **2005**, *135*, 2978S-2986S.

121. Zuo, Y.; Chen, H.; Deng, Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*. **2002**, *57*, 307-316.

122. Graham, H. N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* **1992**, *21*, 334-350.

123. Gulati, A.; Rawat, R.; Singh, B.; Ravindranath, S. D. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4764 - 4768.

124. Xu, J. Z.; Leung, L. K.; Huang, Y.; Chen, Z. Y. Epimerisation of tea polyphenols in tea drinks. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1617 - 1621.
125. Seta, R.; Nakamura, H.; Nanjo, F.; Hara, Y. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1997**, *61*, 1434 - 1439.
126. Wang, L. F.; Kim, D. M.; Lee, C. Y. Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4227-4232.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.