

최 중
연구보고서

녹차에서 가바 증진 및 이를 이용한
기능성 제품 개발

Enhancement of Gaba Content in Green Tea
and Development of Value Added Product

연구기관
목포대학교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “녹차에서 가바 증진 및 이를 이용한 기능성 제품 개발”에 관한 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008년 4월 일

주관연구기관명 : 목포대학교

총괄연구책임자 : 박 용 서

세부연구책임자 : 함 경 식

연구 원 : 이 미 경

연구 원 : 조 정 용

연구 원 : 고 천 성

연구 원 : 김 동 희

연구 원 : 유 현 희

연구 원 : 이심 우 정

협동연구기관명 : 전남농업기술원

협동연구책임자 : 박 장 현

연구 원 : 성 경 숙

연구참여기업체 : 보 성 제 다

요 약 문

I. 제 목

녹차에서 가바 증진 및 이를 이용한 기능성 제품 개발

II. 연구개발 목적 및 필요성

녹차는 가장 오랜 역사를 지닌 음료로서 차에 함유되어 있는 폴리페놀물질이 건강을 증진시켜 준다는 사실이 과학적으로 입증되면서 차 소비량이 큰 폭으로 증가하고 있다. 식생활 서구화에 따른 불균형적인 음식섭취로 각종 성인병이 증가하면서 녹차는 건강음료와 함께 식품첨가제, 녹차분말, 카테킨 추출액, 방향제와 입욕제에 이르기까지 다양한 가공품이 개발되어 소비되고 있다. 녹차 소비량이 증가하면서 재배면적도 크게 증가해 최근 생엽값이 크게 하락하였고 두물차와 세물차는 유통되지 못하고 창고에 재고로 남아 있는 실정이다.

반면, 홍차를 비롯한 외국산 차 수입량은 오히려 증가하고 있다. FTA 협정으로 관세가 철폐되면 더 많은 외국산 발효차가 수입되리라 예상된다. 국내 시장에서 우리 녹차가 외국산 차와 경쟁하기 위해서는 가격과 품질면에서 우위에 서야한다. 국내산 녹차가 과잉 생산되어 가격 하락과 함께 판로를 찾지 못해 재고량이 증가하고 있는 이때, 녹차 소비량을 증대시키면서 차의 부가가치를 높이기 위해서는 기능성 차를 개발해서 상품화하는 것이 중요하다.

따라서, 본 연구는 기능성 차 개발을 위해 녹차에서 가바 증진시스템 구축과 함께 주요 영양소와 기능성 연구를 통해 가바차와 가바음료를 개발하는데 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

다원에서 스트레스처리를 통한 가바증진을 위해 적외선과 자외선, 신호전달 물질인 삭실릭아시드, 메칠자스모네이트, 키토산 처리에 따른 주요영양소와 가바증진 효과를 조사하였다. 자외선과 메칠자스모네이트 조합처리에 따른 이들 효과도 조사하였다. 수확후 냉수침지처리와 상온예조에 따른 가바함량도 조사하였다. 제다전 100% N₂ 개스에서 혐기 처리조건과 온도에 따른 가바증진 효과와 함께 주요 영양소를 조사하였다. 또한, 유산균주에서 배양농도와 첨가제에 따른 가바함량도 조사하였다.

가바차 기능성과 관련해서, 동물 식이 쥐에서 항비만 개선 효과를 위해 체중, 복부지방량, 혈중 지질수준, triglyceride, 혈청 콜레스트롤 등을 조사하였다. 성인에서 녹차 음용 후 지질대사와 항비만과 관련된 체중, 혈압과 혈청 콜레스트롤 등도 조사하였다.

가바차 증진시스템 구축과 함께 제다공정을 확립해서 가바차, 가루차(분말)와 가바음료 시제품을 개발하였다. 가바차와 녹차에서 주요 영양소, 카테킨, 아미노산과 주요 생리활성도를 조사하였다. 가바차에서 추출온도와 추출횟수를 달리한 추출물에서 식미, 주요영양소와 주요 생리활성도 조사하였다. 가바차 온도와 포장형태에 따른 유통중 식미, 주요영양소와 생리활성조사로 유통 중 품질저하 요인에 대해서도 조사하였다. 개발한 시제품에 대해 경제성분석, 시제품 개발설명회와 함께 소비자기호도조사로 이들 제품의 상품화방안에 대해서도 검토하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

다원에서 가바증진을 위해 채엽 30일전부터 광파장처리에서, 적외선보다는 자외선이 효과적이었고 자외선 중에서는 75W를 일몰후 2시간 처리시 가바함량이 10% 내외 증가되었다. 신호전달물질처리에서 가바함량은 메칠자스모네이트 처리에서 증가되었다. 자외선 처리와 함께 메칠자스모네이트 1,000ppm을 수확전 3회 엽면살포시 가바함량은 15-20% 내외가 증진되었다. 반면, 광파장과 신호전달물질의 단독과 조합처리는 전질소, 전아미노산, 유리아미노산, 탄닌, 카페인, 전폐놀함량에는 영향을 미치지 않았다. 국내 재래종과 '야부기다'종간 가바함량도 차이가 없었다. 냉수(0℃)와 상온물(20℃)에서 각각 1, 2, 4, 6시간 침지 처리시 가바함량은 온도에 관계없이 처리시간이 경과할수록 다소 증가하였다.

100% N₂에서 온도(10, 20, 30℃)와 처리시간(1, 3, 5시간)에 따른 가바함량에서 20℃와 함께 3시간처리에서 가장 높았다. 혐기단독처리보다는 3시간 혐기처리 후 3시간 호기처리는 가바함량을 더욱 증가시켰다. 혐기처리전 5℃와 20℃에서 1, 10, 20시간 위조처리는 가바함량을 다소 증가시켰다. 이러한 냉수 침지, 위조, N₂혐기처리는 녹차에 비해 외관과 맛에 차이를 나타내지 않았다.

실험실에서 유산균주와 첨가제에 따른 가바생성에서, 균주 중에서는 *Lactovacillus brevis*에서 가장 높았고 첨가제로는 2% 글루탐산처리에서 가장 높았다.

가바차 동물실험에서, 체중의 경우 가바녹차군(GRGT)과 정상군(Normal)의 체중이 대조군(control)에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 사육 4주 후 측정된 혈중 triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol 수준 또한 가바녹차군이 대조군에 비해 47%, 26%, 79%, 47% 각각 감소함을 보여 가바녹차가 혈중 지질수준을 현저하게 감소시키는 효과가 있음을 알 수 있었다. 실험 종료일에 측정된 복부 지방의 무게 또한

대조군의 45%로써 유의적으로 낮은 수치를 보여 가바 녹차가 복부지방의 감량효과가 있음이 나타났다. 가바차 주요성분과 생리활성조사에서, 카테킨 중 EGCG 함량이 녹차에 비해 유의하게 높게 나타났다. 또, Lipase 저해 활성도 가바차에서 현저히 높았다. 가바차 성인 음용실험에서도 혈압강하와 함께 비만억제에 효과적인 것으로 나타났다.

가바차 주요특성에서 전아미노산, 전질소, 탄닌, 카페인 함량은 녹차와 차이가 없었으나 비타민C와 전페놀 함량은 낮았다. 유리아미노산에서 aspartic acid와 glutamic acid는 녹차에 비해 가바차에서 낮았다. 카테킨에서 epicatechin (EC)와 epigallocatechin (EGC)는 녹차에 비해 가바차에서 낮았으나 EGCG는 오히려 높았다. 무기물에서 Mg 함량은 가바차에서 낮았으나 Fe, Mn, Cu는 녹차와 차이가 없었다. 생리활성에서 항산화도, 전자공여능, 아질산소거능은 녹차와 차이가 없었으나 ACE 저해제 활성은 녹차에 비해 가바차에서 높았다.

가바차 추출온도 (70, 80, 90, 100℃)에서, 90℃가 가장 맛이 좋았고 추출 횟수가 빠를수록 맛이 좋았다. 가바함량, 전페놀함량, 탄닌함량은 추출온도가 높을수록 증가하는 경향을 나타냈다. 추출물에서 주요 카테킨은 EGC로 추출온도가 높을수록 높았다.

가바차 유통중 품질변화에서 상온과 저온저장시 저장기간은 각각 6개월과 8개월로 조사되었다. 포장지 열 개후 클립으로 막는 것과 막기전 용기에 실리카겔을 넣는 것은 별다른 차이를 나타내지 않았다. 저장기간이 경과할수록 탄닌, 카테킨과 가바함량은 저온 보다는 상온에서, 포장지 밀봉 상태 보다는 열 개후 클립으로 막거나 실리카겔처리에서 심하게 감소하는 경향을 나타냈다.

가바차 제조공정을 개발한 다음 가바차와 음료수 시제품을 개발하였다. 가바차에서 가바함량은 $8.0-8.4\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 건물 중으로, 이 차는 동물과 인체에서 지질대사에 효과가 있는 기능성 제품으로 판단되었다.

2. 활용에 대한 건의

본 과제를 통해 개발한 가바차는 기존 녹차에 비해 맛과 주요 영양소면에서 차이를 나타내지 않으면서 가바를 $8.0-8.4\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 건물중 증가시켰다. 동물에서 가바차는 지질대사 개선 효과가 기존 차보다 55% 더 높았고 이러한 사실은 성인집단에서 확인되었다. 따라서, 제다전 혐기처리에 필요한 장비 개발과 관련된 후속연구가 필요하다. 이러한 혐기처리 시설을 제다공장에 설치해서 일괄 작업화함으로써 작업의 일괄화와 함께 인건비를 절감할 수 있어 가바차 상품화를 앞당길 수 있다.

제다공정에 이러한 혐기시설을 설치하는데 예산이 소요된다. 대부분의 제다업체가 영세해서 이러한 시설자금을 지원해 주는 것이 바람직하다.

현재, 녹차 음료는 추출물을 활용해서 대부분 캔으로 상품화하고 있는데 앞으로 이들 음료에 가바를 첨가해서 상품화할 필요성이 있다. 특히, 지질대사 개선에 효과가 있어 이들 음료는 비만층과 실버층에서 소비량이 큰 폭으로 증가할 것이다. 제품 상품화후 유통과 판매에 어려움이 많다. 이를 극복하기 위해서는 기능성에 대한 광고와 홍보가 필요하다. 홍보에 정부와 지자체, 생산자단체의 적극적인 지원이 필요하다.

차 소비추세도 다양해지고 있다. 가바가 함유된 가바차와 가루차 제조공정을 개발해서 이들 제품을 상품화시 녹차 소비량 증가에도 크게 기여할 것이다. 이들 가바차 분말을 스낵, 면류, 생식제품에 첨가해서 상품화하는 방안도 적극 강구되어야 한다. 아울러 빵잎차, 감잎차, 다래차 등 대용차에 있어서도 이러한 기능성 증진에 대한 접목이 가능하다.

앞으로 녹차도 기능성 제품 위주로 소비될 것이다. 이러한 기능성 제품 유통시대를 대비하기 위해서 기능성차로서 가바함량에 대한 기준을 설정하는 것이 정책적으로 필요하다.

Summary

This experiment has 2 main purposes: one is to develop the gaba enhancement system in green tea, the other is to establish the suitable production procedure for gaba tea. This study consist of 8 parts which have objectives are as follow: 1) to enhance gaba content in green tea trees by using light source and signal transfer material, 2) to increase gaba content by various pretreatment such as microorganism, 3) to rise gaba content by combination of anarobic and aerobic treatments before processing, 4) to investigate the protective effectiveness of hypotension in rats fed with gaba tea, 5) to investigate the protective effectiveness of lipid metabolism in human consumed gaba tea, 6) to analysis major components and nutraceutical content in both gaba tea and its extracts, 7) to extend shelf life of gaba tea during storage, 8) to produce value added gaba tea product and panel test by comsumer.

For the gaba enhancement in the first part, we analysed major components and gaba content in tea trees by different light wavelengths and signal transfer materials in field condition. Any harmful effects did not find in tea trees by both treatments during 2006–2007 seasons. Also, we can not found any changes of shoot growth and major components either in light source or signal transfer material treatments. Gaba and GDC activity were much increased in either ultraviolet or methyl jasmonate compared with control. Gaba content is significantly higher in combination treatment with ultraviolet and signal transfer material comparison with single treatment.

The second part was conducted to increase the gaba content in tea leaves by various pretreatments before processing. In water soaking

treatment, gaba content slightly increased in either at 0°C for 4 hours or at 20°C for 2 hours treatments compared with non-treatment. In producing of gaba content by various microorganism, Lactovacillus brevis influenced the highest gaba content among microoranism in vitro under grown 2% glutamic acid.

The third part was conducted to increase gaba content by anaerobic treatment in tea leaves. An anaerobic treatment, gaba content is much higher at 20°C for 3 hours than those of at 10°C or 3 0°C treatments. Also, gaba content significantly increased with combination treatments of anaerobic and aerobic at 20°C.

The fourth part was conducted to investigate the changes of catechins in γ -aminobutyric acid (GABA)-rich green tea (GRGT) and its anti-obesity effect. The content of catechins in GRCT were significantly higher than those of green tea. In particular, catechin (C) and epigallocatechin gallate (EGCG) greatly increased over 1.5 folds during the manufacturing of GRGT. Also, lipase inhibitory activity was shown to be higher in GRGT than green tea (GT).

GRGT was administered to male diabetic Sprague-Dawley rats with high fat diet for four weeks. Body weight gain and lipid level in plasma of GABA tea and GT groups were significantly lower than those of control group ($P<0.05$). Total-abdominal adipose tissue weight in the GRGT group was significantly lower than that in control and GT groups ($p<0.05$). The levels of plasma triglyceride and plasma total-cholesterol in the GRGT group were significantly lower than other groups ($p<0.05$). Plasma low-density lipoprotein cholesterol in GRGT and GT groups were significantly lower than control group ($p<0.05$). However, no significant differences were observed between the plasma

high-density lipoprotein cholesterol levels of GRGT and other groups.

In fifth part, the effect of GRGT on body weight loss and the improvement of plasma lipid level of male person(40~50 ages) were also investigated. The overweighted male (BMI>25) were drunk into the beverage (560 mL, 5.6 g tea dr. wt. equivalent) of GRGT for four weeks. The levels of triglyceride and plasma total-cholesterol were reduced by green teas but there was no difference between GRGT and GT groups.

This results indicated that GRGT might exert potent anti-obesity and the improvement of plasma lipid level in diet-induced obese rats.

The sixth part was evaluated the major components and bioactivity in both gaba tea and green tea. Total phenolics, ascorbic acid and chlorophyll were lower in gaba tea than those of green tea. However, there were no differences in water content, total nitrogen, tannin, caffeine and reducing sugar contents. In amino acids, aspartic acid and glutamic acid were much lower in gaba tea than those of green tea. Epicatechin and epigallocatechin contents were significantly decreased in gaba tea compared to green tea. Among minerals, Mg content is lower in gaba tea than green tea. In bioactivities, ACE inhibition activity is much higher in gaba tea than those of green tea.

The seventh part was conducted to determine the shelf life of gaba tea during storage. Sensory quality and visual score decreased with time in both cold and ambient temperature storage. Catechin content and sensory quality were closely related PPO activity during storage. Shelf life of gaba tea in cold and ambient temperature storage were 6 and 8 months, respectively. In packing methods, shelf life considerably reduced when the tea bag open or clipped with silica gel, regardless of storage condition.

The eighth part was conducted to produce gaba tea and investigate consumer panel test. Gaba tea was produced by roasted processing. In economic analysis, gaba tea farmer earned much money about 174,000won/10a compared to green tea. In nutrition facts, gaba tea has 0 calories, 0 mg Na, 0 mg fat, 3.8 mg total phenolics, 8.6 mg gaba content per g dry weight. For consumer panel test with 200 people from the big city, they liked gaba tea products with increasing good taste and functional nutrients such as gaba, ascorbic acid and catechins. The optimal retail consumer price was 30,000 won per gaba tea product(50g).

Contents

Part 1. Introduction	19
Chapter 1. Concept of research project	19
1. Study objectives	19
2. Research contents and scales	19
Chapter 2. Current research status of gaba tea in domestic and foreign countries	20
1. Domestic research status	20
2. Foreign research status	23
Part 2. Enhancement of gaba content in tea trees by different light sources and signal transfer material spraying	24
Chapter 1. Introduction	24
Chapter 2. Materials and methods	24
Chapter 3. Results and discussion	28
1. Effectiveness of different light source treatments	28
2. Effectiveness of signal transfer spraying	37
3. Effectiveness of UV and methyl jasmonate combination treatments	47
Part 3. Enhancement of gaba content in tea leaves by anaerobic treatment before processing	52
Chapter 1. Introduction	52

Chapter 2. Materials and methods	52
Chapter 3. Results and discussion	52
1. Gaba content in tea leaves by water soaking	53
2. Gaba content among different microorganism in vitro	56
3. Gaba content in tea leaves by anaerobic treatment	58
Part 4. Positive effectiveness of anti-obesity in rats fed with gaba tea	69
Chapter 1. Introduction	69
Chapter 2. Materials and methods	70
Chapter 3. Results and discussion	74
Part 5. Enhancement catechins and those bioactivities in gaba tea	86
Chapter 1. Introduction	86
Chapter 2. Materials and methods	88
Chapter 3. Results and discussion	92
Part 6. Positive effectiveness of lipid metabolism and anti- obesity in human consumed gaba tea	98
Chapter 1. Introduction	98
Chapter 2. Materials and methods	98
Chapter 3. Results and discussion	101

Part 7. Properties of gaba tea and its extracts	119
Chapter 1. Introduction	119
Chapter 2. Materials and methods	119
Chapter 3. Results and discussion	123
 Part 8. Extension the shelf life of gaba tea during storage	133
Chapter 1. Introduction	133
Chapter 2. Materials and methods	133
Chapter 3. Results and discassion	133
 Part 9. Development of gaba tea product	139
1. Gaba tea processing procedure	139
2. Various kinds of gaba tea product	141
3. Economic analysis in gaba tea	143
4. Gaba tea seminar and panel test	145
Reference	148

목 차

요약문

제 1 장 서 론	19
제 1 절 연구개발과제의 개요	19
1. 연구의 목적	19
2. 연구 내용과 범위	19
제 2 절 국내외 기술개발 현황	20
1. 국내에서 기능성 차 개발	20
2. 해외에서 기능성 차 개발	23
제 2 장 다원에서 광 파장 및 신호전달물질 살포에 의한 가바 증진	24
제 1 절 서 론	24
제 2 절 재료 및 방법	24
제 3 절 실험 결과 및 고찰	28
1. 광파장 처리 효과	28
2. 신호전달물질 처리 효과	37
3. 자외선과 신호전달물질 살포 효과	47
제 3 장 제다전 혐기처리에 의한 가바증진	52
제 1 절 서 론	52
제 2 절 재료 및 방법	52
제 3 절 실험 결과 및 고찰	53
1. 냉수침지 처리 효과	53
2. 유산균주를 이용한 가바증진	56
3. 질소 혐기처리 효과	58
제 4 장 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 가바농도의 항비만 효과 ..	69
제 1 절 서 론	69
제 2 절 실험재료 및 방법	70
제 3 절 결과 및 고찰	74

제 5 장 혐기처리에 의해 제조된 가바녹차의 기능성분 증대 및 생리 활성	86
제 1 절 서 론	86
제 2 절 재료 및 방법	88
제 3 절 결과 및 고찰	92
제 6 장 성인남자에서 가바녹차 섭취가 비만억제 및 콜레스테롤 감소 효과	98
제 1 절 서 론	98
제 2 절 실험재료 및 방법	98
제 3 절 결과 및 고찰	101
제 7 장 가바차 주요 특성	119
제 1 절 서 론	119
제 2 절 재료 및 방법	119
제 3 절 실험 결과 및 고찰	123
1. 가바차에서 주요특성	123
2. 차 추출물에서 주요특성	123
제 8 장 가바차 유통중 품질 변화	133
제 1 절 서 론	133
제 2 절 재료 및 방법	133
제 3 절 실험 결과 및 고찰	133
제 9 장 가바차 시제품 생산 및 유통	139
제 1 절 시제품 생산 공정 개발	139
제 2 절 시제품 생산	141
제 3 절 경제성분석	143
제 4 절 시제품 개발 설명회 및 소비자기호도	145
참고 자료 및 인용 문헌	148

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발과제의 개요

1. 연구의 목적

녹차는 가장 오랜 역사를 지닌 음료로서 차에 함유되어 있는 폴리페놀물질이 건강을 증진시켜 준다는 사실이 과학적으로 입증되면서 차 소비량이 큰 폭으로 증가하고 있다. 식생활 서구화에 따른 불균형적인 음식섭취로 각종 성인병이 증가하면서 녹차는 건강음료와 함께 식품첨가제, 녹차분말, 카테킨 추출액, 방향제와 입욕제에 이르기까지 다양한 가공식품이 개발되어 소비되고 있다. 녹차 소비량이 증가하면서 재배면적도 크게 증가해 최근 생엽값이 크게 하락하였고 두물차와 세물차는 유통되지 못하고 창고에 재고로 남아 있는 실정이다.

반면, 홍차를 비롯한 외국산 차 수입량은 오히려 증가하고 있다. FTA 협정으로 관세가 철폐되면 더 많은 외국산 차가 수입되리라 추측된다. 국내시장에서 우리 녹차가 외국산 차와 경쟁하기 위해서는 가격과 품질면에서 우위에 서야한다. 국내산 녹차가 과잉 생산되고 있는 이때, 녹차 소비량을 증가시키면서 부가가치를 높이기 위해서는 기능성 차를 개발해서 유통시키는 것이 중요하다. 따라서 본 연구는 기능성 차 개발을 위해 녹차에서 가바 증진시스템을 개발해서 가바차와 가바음료를 생산하는데 있다.

2. 연구 내용과 범위

다원에서 스트레스처리를 통한 가바증진을 위해 광 파장 처리(적외선과 자외선), 신호전달물질 (삭실릭아시드, 메칠자스모네이트, 키토산) 처리에 따른 가바증진 효과를 조사하였다. 수확후 냉수침지처리 조건에 따른 가바함량도

조사하였다. 제다전 100% 질소개스에서 혐기 처리조건과 온도에 따른 가바 증진 효과와 주요 특성변화를 조사하였다. 또한, 유산균주에서 배양농도와 첨가제에 따른 가바함량 변화도 조사하였다.

가바차 기능성과 관련해서, 동물 식이 쥐에서 지질대사 개선 효과를 위해 체중, 복부지방량, 혈중 지질수준, triglyceride, 혈청 콜레스테롤 등을 조사하였다. 성인에서 녹차 음용후 지질대사와 관련된 혈압과 혈청 콜레스테롤을 조사하였다.

가바차 증진시스템 구축과 함께 제다공정을 확립해서 가바차, 가루차(분말)와 가바음료 시제품을 개발하였다. 가바차 주요 영양소, 카테킨, 아미노산과 주요 생리활성도를 조사하였다. 가바차에서 추출온도와 추출횟수를 달리한 추출물에서 식미, 주요영양소와 주요 생리활성도 조사하였다. 가바차 온도와 포장형태에 따른 유통중 식미, 주요영양소와 생리활성조사로 유통중 품질저하 요인에 대해서도 조사하였다. 개발한 시제품에 대해 경제성분석, 시제품 개발설명회와 함께 소비자기도조사로 이들 제품의 상품화 방안에 대해서도 검토하였다.

제 2 절 국내외 기술개발 현황

1. 국내에서 기능성 차 개발

우리나라에서 '90-'95년 507-699톤 내외였던 차 생산량은 국민소득 증가에 따른 소비량 증가 추세에 맞춰 '00년 이후 차 생산량이 크게 증가하였다. '96년 840톤에 그쳤던 녹차 생산량도 '00년 1천434톤, '03년 2천53톤, '05년 3천309톤, '07년 3,500톤으로 크게 늘었다 (Table 1-1).

반면, 국민 1인당 평균 소비량은 '90년 12.1g, '00년 18.3g 수준이었으나 '00년 38.1g, '05년 50.0g으로 크게 증가한 후 '07년 60g으로 안정화 추세를

나타내고 있다.

수출량은 '90년 44.3톤, '95년 36.6톤, '00년 27.1톤으로 다소 감소하였으나 '05년 266톤으로 증가하였는데 이는 미국, 홍콩, 일본, 호주 등으로 수출량이 늘어났기 때문이다. 반면, 수입량은 '90년 2.7톤이었으나 '95년 117톤, '00년 410톤, '05년 2,982톤, '07년 3,500톤으로 해마다 크게 증가하고 있는데 수입량의 60%는 중국산이다.

Table 1-1. Status of green tea production and consumption in Korea.

	1990	1995	2000	2005	2007
Green tea production (ton)	507	699	1,731	3,309	3,500
Green tea consumption (g/person)	12.1	18.3	38.1	50.0	60.0
Export amount (ton)	44.3	36.6	27.1	266	-
Import amount (ton)	2.7	117	410	2,982	-

최근 녹차 소비량은 답보 상태를 나타내는데 비해, 생산량이 급증하고 있는데다 값싼 중국산의 대량 수입으로 녹차 가격이 큰 폭으로 하락하고 있다.

특히 전남지방의 경우 소비시장이 한정돼 있는데도 불구하고 재배면적 확대에 따른 생산량 증가와 함께 시장개방 확대 추세와 맞물려 녹차 재고량이 갈수록 증가하고 있다.

전라남도 녹차 재배면적은 '07년 보성 1천23ha, 구례 220ha, 순천 199ha, 광양 110ha, 장흥 25ha 등 총 1천910ha이다. 이는 지난 '03년 780ha에 비해 2.5배가량 늘었으며, '04년 1천40ha, '05년 1천589ha 등 급증세를 보였다.

이처럼 녹차 재배 면적과 생산량이 급증하면서 도내 기계채엽(티백용) 생엽(生葉)가격이 지난 '05년에 비해 절반 가격에도 못 미치는 수준으로 뚝 떨어졌다.

녹차 생엽 가격은 1kg당 '04년 1천700원에서 '05년 2천200원, '06 1천300, '07 500~1천원대로 하락했으며, 고급 녹차인 '세작' 가격도 '05년 3만원에서 '06년 2만8천원, '07년 2만2천원 수준으로 떨어졌다. FTA시대 값 싼 중국차와 경쟁하기 위해서는 기능성이 우수한 제품을 생산해서 유통하는 것이 중요하다.

가바(Gaba, gamma aminobutyric acid)는 1949년 E. Robetr가 발견한 기능성 물질로 곡류, 토마토 등에 0.03-32.5ug/생체중 g 내외, 질소고정 식물(Medicago)의 뿌리에서는 6.6%가 존재하고 있는 것으로 보고되고 있다.

동물에서 가바를 100mg/kg(10mg/쥐) 식이시 콜레스테롤 흡수 억제로 혈청내 콜레스테롤 함량을 감소시키고 학습증진 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 사람에서 가바를 70mg 음용시 신경계와 혈액에 주로 함유되어 있으며 특히, 대부분 뇌의 골수에 존재해 신경전달 물질인 acetyl cholin을 증가시켜 뇌의 기능을 촉진시키고, 신경안정, 학습증진 효과와 연골의 혈관중추에 작용하여 혈압상승 억제에 크게 기여 하는 것으로 알려져 있다.

가바는 glutamic acid가 L-glutamate 1-carboxylase(GDC)에 의해 decarboxylation 과정에서 CO₂가 배출되면서 생성되는 것으로 알려져 있는데 이때 대사물질은 glutamic acid로 알려져 있다. 이러한 원리를 이용, 현미를 40℃에서 8시간 동안 혐기 발아시킬 경우 가바함량은 8mg → 300mg/100g으로 약 6배 증가하는데 이러한 발아 현미는 '햇반가바' 기능성식품으로 상품화되어 시중에서 유통되고 있다.

식물에서 gaba 함량은 환경적인 스트레스(혐기상태, 침수, 수분부족, 미량요소 결핍, 저온, 자외선 조사)는 가바 함량을 증가하는 것으로 보고되고 있다. 병잎에서 혐기처리(CO₂나 N₂)시 가바함량은 크게 증가하는데 이때 증가 정도는 개스 농도와 처리시간, 처리방법(혐기와 호기 상호처리)에 영향을 받는 것으로 알려지고 있고 병잎을 이용한 가바차 시제품이 출시되고 있다.

녹차를 이용한 기능성 제품에서, 녹차 주류 제품('99년), 녹차 추출액 앰플('00년) 녹차 카테킨 이용 여성 위생용품('05), 녹차 유용 천연물을 이용한 자연 치즈('05년) 등이 개발되었다. 또, 녹차 씨를 이용한 항염증 및 발암 예방제품('04년-현재),

향미 특성이 우수한 탈카페인 녹차('04년-현재), 버섯 균사체를 이용한 고기능성 녹차('04년-현재), 녹차 드링크, 저카페인 차, 신향미 차 등이 개발 중이거나 상품화되었다.

2. 해외에서 기능성 차 개발

녹차에서 험기처리하는 GDC 활성 증가로 엽내 가바함량이 증가 한다는 사실이 일본 야채다업연구소에서 연구 결과 알려지면서 가바를 이용한 가바차가 상품화 되어 유통되고 있다. 제다전 험기처리후 증제과정을 거쳐 제조한 결과 차 추출물에서 이취가 다소 발생되나 기능성차로서 소비되고 있다. 이들은 차 잎내 가바함량이 10mg/건물중 g 내외 일때 가바차로 인정해 주고 있다.

최근, 녹차류 소비량 증가와 함께 간편성과 기능성을 지닌 녹차음료류 소비량이 젊은 층을 중심으로 증가하는 추세이다. 일본에서 아미노산 함유 음료시장 규모가 매년 다소 증가하고 있고, 스트레스가 많은 사람을 위해 가바함유 식품류가 속속 개발되어 상품화 되고 있는 추세이다. '멘탈밸런스'는 초코렛(에라키 글리코사), '본브란 가바'는 와인 (메르샤사), '포렐 아미노 내츄럴'은 음료(삿바로 맥주)로 유통되고 있다.

제 2 장 다원에서 광 파장 및 신호전달물질 살포에 의한 가바 증진

제 1 절 서 론

식물 생육중 적은 량의 가바가 합성되는데 외부 자극이나 스트레스는 합성되는 가바량을 더욱 증진시키는 것으로 알려져 있다. 가바차가 일본에서 상품화되어 유통되고 있는데 제다전 혐기처리에 의존하고 있다. 잘 알려진 발아 현미에서 알 수 있듯이 가바는 혐기처리시 수시간내 급격히 증가한다. 차에서도 지금까지 혐기처리만으로 가바를 증진시켜 왔으나 다원에서 스트레스를 통해 가바를 어느 정도 증진시킬 수 있을 것으로 판단된다. 다원에서 최소한의 시설비를 투자해서 일몰후 광파장처리와 함께 신호전달물질로 알려진 물질을 단독, 조합처리해서 가바증진 효과와 함께 수체생장, 주요영양소함량을 조사하는 것이 필요하다.

제 2 절 재료 및 방법

본 시험은 전남 보성군 소재 차 시험장 포장에 식재된 9년생 재래종을 이용 2006년 6월부터 2007년 5월까지 수행하였다. 광처리를 위해 차가 식재된 0.9m×20m×1m 이랑(가로:세로:높이) 마다 1m×2m×2.5m(가로:세로:높이) 규격의 하우스용 골재시설을 제작해서 지붕은 폴리아크릴로 덮었다(Fig. 2-1). 광원인 적외선, 가시광선과 자외선 등은 전파상에서 구입해서 골재시설내 차 수관 1m 높이에 달아 주었다.

적외선은 100, 150, 250W 용량이었고 가시광선은 200W, 자외선은 10, 30,

40W 용량이었다. 광 파장은 수확전 30일부터 일몰후 2, 4시간 처리후 채엽해서 주요 항목을 조사하였다.

신호전달 물질로는 신호전달물질인 키토산은 분자량 40,000-50,000 인 것을 젖산에 녹여 100ppm으로 희석해서 1주일 간격으로 3회 엽면 살포하였다. 살리실릭엑시드(salicylic acid)와 메칠자스모네이트는 각각 알콜에 녹여 농도별로 희석해서 살포하였다. 살포일은 채엽 9일전부터 3일간격으로 3회 엽면 살포하였다.



Fig. 2-1. Combination treatment of UV radiation and signal transfer material in tee trees.

수체생장 특성은 채엽 직후 줄자와 저울을 이용 조사하였다. 잎 색도는 칼라메타(Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Japan)을 이용 측정한다. Hunter 'L' (+L=흰색, -L=검은색) 및 'a' (+a=빨강, -a=녹색)값으로 나타냈다.

전질소는 비색법으로 측정하였는데, 시험관에 혼합시약(alkaline phenolate 50mL+Na nitroprusside 100mL+4% EDTA 5mL) 3mL에 분말시료 1g을 넣고 37°C 수조에 5분간 넣어 둔 다음 발색시약(인산완충용액 200mL+Na hypochlorite 50mL) 5mL를 가해 잘 혼합시켰다. 상온에서 20분간 발색시켜

분광분석기(Hewlett Packard, Model 8452A, Rockvile, USA)를 이용 665nm에서 흡광도를 측정하였다.

천아미노산은 분말 시료 1g에 증류수 100mL를 넣고 80°C 수조에서 30분간 추출하였다. 추출액 1mL와 함께 ninhydrin 0.5mL를 가해 80°C 수조에서 30분간 발색시킨 다음 냉각시켜 isopropylalcohol과 증류수 혼합액(1:1, v/v) 5mL를 가해 곧바로 분광분석기를 이용 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

탄닌은 상기 분말 시료에서 추출한 추출물을 10,000g 속도로 15분간 원심 분리해서 측정 하였다. 상징액 3mL에 0.016M $K_3Fe(CN)_6$ 1.0mL, 0.02M $FeCl_3$ 1.0mL를 각각 넣어 잘 혼합하였다. 혼합액은 15분간 상온에서 발색시킨 다음 분광분석기를 이용 700nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용한 표준곡선으로 전 페놀함량을 결정한 다음 탄닌으로 전환하였다.

Caffein은 상기 분말시료에서 추출한 추출물을 0.45um 필터로 여과해서 HPLC(Waters, USA)에서 측정하였다. 칼럼은 C_{18} 역상칼럼이었고 용매는 메탄올과 증류수 (30%:70%) 혼합액으로 분당 1.0mL 유출시켰다. 칼럼온도는 35°C로 유지시켜 주면서 UV 260nm에서 흡광도를 측정하였다.

클로로필함량은 분말 시료 0.5g과 함께 칼슘카보네이트 3g을 85% 아세톤 50mL에 넣어 냉암소에서 24시간 추출하였다. 추출액은 여과해서 분광 분석기에서 흡광도 (660nm와 642nm)를 측정하였다.

비타민 C는 분말 시료 1g과 6% HPO_3 용액 100mL을 플라스크에 넣어 80°C 수조에서 2시간 추출한 후 millipore filter(0.45um)여과한 다음 HPLC로 측정하였다. HPLC에서 칼럼은 30cm×4.6mm, C_{18} 이었고, 용매는 tridecylammonium이 함유된 methanol(220mg/600mL MeOH+증류수 400mL+Formic acid 0.05mL)로 유출 속도는 1.5mL·분⁻¹, 흡광도는 UV 254nm였다.

카테킨은 분쇄한 녹차 잎 1g에 80°C 증류수 100mL를 넣고 항온수조에서 30분간 추출한 후 millipore filter로 (0.45um)여과해서 HPLC로 측정하였다. HPLC에서 칼럼은 Waters사의 30cm×4.6mm 규격의 C_{18} 이었고, 용매는

acetonitrile, ethyl acetate, 0.05% phosphoric 용액 (120:20:860, v/v/v)으로 유출 속도는 분당 1.2mL, 칼럼온도는 40°C, 흡광도는 UV 254nm였다.

전폐농함량은 2.5g 시료를 100% EtOH 25mL에 2-3회 걸쳐 추출하였다.

추출한 시료는 Whatman No 4 여과지로 1차 여과한 다음 10,000g에서 15분간 원심분리하였다. 50% EtOH로 25mL가 되게 한 다음 측정시까지 -18°C에 보관하였다. 추출시료 0.5mL를 5,000g에서 10분간 원심분리 한 다음 10% Folin-Ciocalteu 시약(BDH) 2.5mL, 7.5% Na₂CO₃ 용액 1mL를 혼합해서 상온에 30분간 두었다가 분광분석기 750nm에서 흡광도를 측정하였다. Catechin으로 표준곡선을 만들어 정량하였다.

GDC 활성은 1g 시료를 0.02mM pyridoxal-5-phosphate 용액이 함유된 50mM 인산완충용액 20mL에서 추출하였다. 여액은 cheese 형질으로 여과한 다음 15,000 g에서 20분간 원심분리하였다. 시험관에 시료 추출물 4.5mL를 넣고 37°C에서 5분간 두었다가 67mM sodium L-glutamate 용액 0.5mL를 넣고 마개로 밀폐하였다. 1시간 경과후 1mL 개스를 뽑아 GC에서 CO₂를 측정해서 발생된 CO₂량을 효소활성으로 계산하였다.

유리아미노산분석에서 차 추출액을 0°C에서 30분간 10,000g 속도로 원심 분리한 다음 상정액은 감압 농축시켰다. 여액을 여과 (0.45um)한 후 50uL를 work station에서 진공 건조시켰다. 건조된 시료에 메탄올, 물, trifluoroacetic acid (TEA)을 2:2:1로 혼합한 용액 20uL를 넣은후 건조시켰다. 건조시킨 시료에 메탄올, 물 TEA, phenylisothiocyanate를 7:1:1:1로 혼합한 용액 20uL로 넣어 실온에서 유도체화한 다음 진공 건조시켰다. 건조된 시료에 시료희석용 시약 250uL를 넣어 여과한 다음 10uL를 HPLC(Waters, USA)에 주입하였다. HPLC에서 칼럼은 Pico-Tag column (3.9×150mm, 4um)이었고 온도는 50°C였다. 용매는 20g의 sodium acetate trihydrate와 500uLm TEA, 65mL의 CH₃CN이 함유된 용액(A)과 60% CH₃CN 함유된 용액(B)이었고 유출시 A용액을 11분간 최초 100%에서 0%로 낮춘후 다시 100% A용액을 10분간 유출시키면서 UV 250nm에서 측정하였다.

제 3 절 실험 결과 및 고찰

1. 광파장 처리 효과

다원에서 채엽전 30일 동안 적외선(100W, 150W, 250W)과 자외선(16W, 30W, 65W)을 일몰후 각각 2, 4시간 처리한 다음 잎 특성, 차 수량, 가바함량과 주요 성분을 조사하였다. 첫물차, 두물차와 세물차에서, 단위면적당 신초수, 잎 길이, 신초당 잎수, 신초 중, 수량은 처리간 유의차가 없었다(Table 2-1~3). 신초와 잎 생장은 자외선 보다는 적외선에서 다소 더 억제되었고 적외선에서는 250W에서 다소 억제되는 경향을 나타냈다. 수확한 잎의 Hunter 'L', 'a', 'b'값도 수확기별 차이를 나타내지 않았다 (자료 미제시). 전질소, 전아미노산과 탄닌함량은 적외선과 자외선 처리 광도가 강할수록 다소 감소하는 반면, 카페인 함량은 다소 증가하는 경향을 나타냈으나 처리간 유의차는 없었다(Table 2-4~6). 광파장 처리에 따른 가바와 GDC(Glutamic decarboxylase) 활성 조사(Table 2-7, -9)에서, 가바함량은 적외선 처리에서는 차이가 없었으나 자외선에서는 모든 차에서 처리 광도가 높을수록 높아지는 경향을 나타냈다. GDC 활성도 적외선 보다는 자외선 처리에서 다소 높았고 자외선에서는 광도가 높을수록 다소 높았으나 처리시간에는 영향을 받지 않았다.

Table 2-1. Response of shoot growth in tea trees by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment			Shoot of first harvest				
			Number (no.0.18m ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g.100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg.10a ⁻¹ F wt)
Control			220	7.3	4.1	31.8	247
Infra red	100W	2hrs	214	7.2	3.9	31.6	244
		4hrs	206	7.0	3.7	31.4	240
	150W	2hrs	212	7.1	3.8	31.5	241
		4hrs	201	6.9	3.6	31.4	234
	250W	2hrs	208	7.0	3.7	31.6	233
		4hrs	196	6.6	3.5	31.2	221
Ultraviolet	16W	2hrs	215	7.4	4.0	31.0	246
		4hrs	218	7.5	3.9	31.7	241
	30W	2hrs	216	7.3	3.8	31.6	243
		4hrs	214	7.1	3.8	31.5	240
	65W	2hrs	211	7.2	3.7	31.5	237
		4hrs	207	7.3	3.9	31.3	231

Table 2-2. Response of shoot growth in tea trees by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment			Shoot of second harvest				
			Number (no/0.18m ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g/100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg/10a ⁻¹ F wt)
Control			214	7.2	3.8	32.5	256
Infra red	100W	2hrs	211	7.1	3.7	32.2	249
		4hrs	203	7.0	3.6	31.7	241
	150W	2hrs	210	7.1	3.7	32.3	248
		4hrs	200	7.0	3.6	31.7	239
	250W	2hrs	205	7.0	3.6	31.6	240
		4hrs	193	6.8	3.5	31.0	224
Ultraviolet	16W	2hrs	212	7.2	3.8	32.6	259
		4hrs	215	7.3	3.9	33.1	251
	30W	2hrs	215	7.2	3.8	32.4	256
		4hrs	210	7.1	3.8	32.5	257
	65W	2hrs	214	7.2	3.8	32.6	261
		4hrs	206	7.0	3.7	32.2	247

Table 2-3. Response of shoot growth in tea trees by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment			Shoot of third harvest				
			Number (no/0.18m ²)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g/100bud - ¹ F wt)	Yield (kg/10a ⁻¹ F wt)
Control			232	8.7	4.1	33.0	295
Infra red	100W	2hrs	227	8.6	4.0	32.8	292
		4hrs	219	8.3	3.7	32.4	286
	150W	2hrs	223	8.4	3.8	32.5	283
		4hrs	213	8.0	3.4	32.0	271
	250W	2hrs	216	8.1	3.7	32.1	277
		4hrs	201	7.5	3.1	31.5	260
Ultraviolet	16W	2hrs	230	8.7	4.1	33.1	297
		4hrs	229	8.6	4.1	32.9	294
	30W	2hrs	227	8.6	4.0	33.0	294
		4hrs	223	8.5	3.9	33.0	291
	65W	2hrs	225	8.6	4.0	32.8	289
		4hrs	222	8.2	3.7	32.6	284

Table 2-4. Changes in major component contents of green tea by light wavelength treatments under growth field conditions in 2006.

Treatment		Green tea of first harvest			
		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg $100g^{-1}$)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control		5.2	1,990	12.1	2.9
Infra red	100W 2hrs	5.3	1,990	11.2	2.9
	4hrs	5.1	1,990	11.4	2.9
	150W 2hrs	5.0	1,950	12.3	3.0
	4hrs	5.1	2,180	12.3	3.1
	250W 2hrs	5.2	2,290	12.2	3.2
	4hrs	5.0	2,630	12.2	3.0
Ultraviolet	16W 2hrs	5.3	2,200	12.6	2.9
	4hrs	5.1	2,150	12.4	2.9
	30W 2hrs	5.2	2,150	11.7	3.0
	4hrs	5.2	2,110	11.8	3.1
	65W 2hrs	5.1	1,980	11.9	3.0
	4hrs	5.2	2,180	11.7	3.0

Table 2–5. Changes in major component contents of green tea by light wavelength treatments under growth field conditions in 2006.

Treatment		Green tea of second harvest				
		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg.100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)	
Control		4.5	1,690	13.5	2.4	
Infra red	100W 2hrs	4.5	1,690	13.5	2.4	
	4hrs	4.3	1,670	13.7	2.5	
	150W 2hrs	4hrs	4.4	1,684	13.5	2.8
		250W 2hrs	4.5	1,690	13.8	2.5
	4hrs	4.1	1,630	13.9	2.9	
	Ultraviolet	16W 2hrs	4.5	1,700	13.4	2.5
4hrs		4.3	1,670	13.5	2.5	
30W 2hrs		4hrs	4.4	1,687	13.4	2.5
		65W 2hrs	4.3	1,673	13.6	2.4
4hrs		4.3	1,679	13.7	2.6	

Table 2-6. Changes in major component contents of green tea by light wavelength treatments under growth field conditions in 2006.

Treatment		Green tea of third harvest			
		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control		3.7	1,030	14.6	1.9
Infra red	100W 2hrs	3.6	994	14.7	2.0
	4hrs	3.6	998	14.8	2.1
	150W 2hrs	3.7	1,023	14.8	2.0
	4hrs	3.5	976	14.8	2.2
	250W 2hrs	3.4	958	14.8	2.0
	4hrs	3.3	931	14.9	2.2
Ultraviolet	16W 2hrs	3.7	1,025	14.6	2.0
	4hrs	3.8	1,046	14.7	2.0
	30W 2hrs	3.6	1,006	14.7	1.8
	4hrs	3.6	1,011	14.9	1.9
	65W 2hrs	3.6	1,002	14.6	2.1
	4hrs	3.5	982	14.7	2.2

Table 2-7. Change in GDC activity and gaba content of green tea by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment		Green tea of first harvest		
		GDC activity (unit·mL)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Total phenolic acid (%)
Control		1.83 c ^z	22.20 b	12.10
Infra red	100W 2hrs	1.52 c	23.11 b	12.20
	4hrs	1.59 c	22.80 b	12.40
	150W 2hrs	1.61 c	21.40 b	12.50
	4hrs	1.76 c	20.70 b	12.80
	250W 2hrs	1.70 c	20.60 b	12.80
	4hrs	1.86 c	22.24 b	12.80
Ultraviolet	16W 2hrs	2.11b	23.45 b	12.90
	4hrs	2.19b	26.88 ab	12.20
	30W 2hrs	2.28b	26.96 ab	12.50
	4hrs	3.49a	31.82 a	12.20
	65W 2hrs	2.48b	28.90 ab	12.30
	4hrs	2.92a	31.25 a	12.30

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2–8. Change in GDC activity and gaba content of green tea by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Green tea of second harvest					
Treatment		GDC activity (unit·mL)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Total phenolic acid (%)	
Control		1.40 c ^z	23.25 b	12.34	
Infra red	100W 2hrs	1.32 c	22.14 b	12.38	
	4hrs	1.64 c	22.45 b	12.52	
	150W 2hrs	1.50 c	21.47 b	12.43	
	4hrs	1.62 c	20.71 b	12.73	
	250W 2hrs	1.63 c	20.60 b	12.49	
	4hrs	1.58 c	22.24 b	12.68	
Ultraviolet	16W 2hrs	2.02b	23.43 b	12.31	
	4hrs	2.26b	26.71 ab	12.36	
	30W 2hrs	2.44b	26.56 ab	12.43	
	4hrs	3.24a	30.82 a	12.49	
	65W 2hrs	2.46b	26.94 ab	12.39	
	4hrs	2.92a	30.26 a	12.50	

Table 2-9. Change in GDC activity and gaba content of green tea by light wavelength treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment	Green tea of third harvest			
	GDC activity (unit-mL)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Total phenolic acid (%)	
Control	1.14 b ^z	16.14 b	13.16	
Infra red	100W 2hrs	1.16 b	15.22 b	13.19
		4hrs	1.12 b	15.30 b
	150W 2hrs	1.12 b	14.24 b	13.26
		4hrs	1.14 b	17.30 b
	250W 2hrs	1.18 b	14.82 b	13.37
		4hrs		15.32 b
Ultraviolet	16W 2hrs	1.46 a	17.30 ab	13.12
		4hrs	1.42 a	17.60 ab
	30W 2hrs	1.64 a	20.42 a	13.26
		4hrs	1.68 a	21.30 a
	65W 2hrs	1.60 a	22.20 a	13.19
		4hrs	1.62 a	21.44 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

2. 신호전달물질 처리 효과

다원에서 신호전달물질인 키토산(chitosan), 살리릭산(salicylic acid), 메칠자스모네이트(methyl jasmonate) 용액을 농도별로 처리한 다음 첫물차, 두물차와 세물차에서, 신초수, 잎 길이, 잎수, 신초중과 수량을 조사하였다. 신호전달물질 처리에 따른 수체 생장 (Table 2-10~12)에서, 신초수, 잎 길이, 잎 수, 신초중과 수량은 처리간 차이를 나타내지 않았다. 이들 물질에서 엽면살포에 따른 생리장해는 발견되지 않았다.

잎 Hunter 값에서, 'L', 'a'와 'b'값도 처리간 차이를 나타내지 않았다(자료 미제시). 따라서, 이정도 수준에서 신호전달 물질의 엽면살포는 신초생장에 영향을 미치지 않았고 생리장해도 유발하지 않았다. 전질소, 전아미노산, 탄닌과 카페인함량도 처리간 차이가 없었다(Table 2-13~15). 가바함량은 신호전달물질 처리에서 높아지는 경향을 나타냈는데, 특히 methyl jasmonate 처리에서 GDC 활성 증가와 함께 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다(Table 2-16~18).

국내 재래종과 일본 도입종인 '야부기다' 품종에서 신초생장과 가바함량 비교 조사에서(Table 2-19~20), 신초와 잎 생장, 차 수량에서 차이가 없었다. 또, 가바, 카테킨, 전페놀산 함량에서 두 종간 차이점이 나타나지 않았다. 따라서 국내 재배되고 있는 차나무종간 가바함량은 별다른 차이점이 없을 것으로 판단되었다.

Table 2-10. Response of shoot growth in tea trees by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment(ppm)	Shoot of first harvest					
	Number (no/0.18m ²⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g/100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg/10a ⁻¹ F wt)	
Control	220	7.1	4.1	31.8	247	
Chitosan	50	222	7.2	4.3	31.9	251
	250	231	7.3	4.2	32.4	256
	500	230	7.3	4.2	32.3	255
Salicylic acid	1,000	225	7.1	3.9	32.2	252
	2,000	222	7.4	4.1	32.7	257
	3,000	218	7.4	4.0	32.4	254
Methyl jasmonate	250	228	7.5	3.9	32.4	256
	500	236	7.6	4.2	32.8	263
	1000	232	7.6	4.1	32.5	261

Table 2-11. Response of shoot growth in tea trees by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment(ppm)		Shoot of second harvest				
		Number (no·0.18m ²⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g·100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg·10a ⁻¹ F wt)
Control		214	7.2	3.8	32.5	256
Chitosan	50	214	7.3	3.9	32.6	257
	250	218	7.4	3.8	32.8	263
	500	217	7.2	4.0	32.9	262
Salicylic acid	1,000	215	7.2	3.7	32.6	260
	2,000	217	7.4	3.9	32.7	263
	3,000	215	7.4	3.9	32.7	261
Methyl jasmonate	250	218	7.3	3.7	32.5	259
	500	218	7.4	3.8	32.7	266
	1000	216	7.4	3.8	32.6	260

Table 2-12. Response of shoot growth in tea trees by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment(ppm)	Shoot of third harvest				
	Number (no·0.18m ² ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g·100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg·10a ⁻¹ F wt)
Control	232	8.7	4.1	33.0	295
Chitosan 50	236	8.6	4.1	33.1	297
250	239	8.8	4.2	33.4	305
500	241	8.9	4.3	33.5	304
Salicylic acid 1,000	235	8.7	4.3	33.2	298
2,000	239	8.9	4.3	33.4	301
3,000	239	8.8	4.4	32.9	298
Methyl jasmonate 250	234	8.7	4.2	32.9	299
500	242	8.8	4.1	33.3	300
1000	240	8.8	4.1	33.0	296

Table 2-13. Changes in major components content of green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment (ppm)		Green tea of first harvest			
		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control		5.1	1,990	13.0	2.9
Chitosan	50	5.2	1,915	13.0	3.0
	250	5.1	1,922	13.4	3.0
	500	5.1	1,920	13.1	3.2
Salicylic acid	1,000	5.0	2,124	13.0	3.3
	2,000	5.2	1,940	13.5	2.9
	3,000	5.0	1,991	13.3	3.1
Methyl jasmonate	500	5.2	1,980	13.1	3.1
	1000	5.3	1,982	13.5	3.1
	1500	5.1	1,950	13.8	3.1

Table 2-14. Changes in major components content of green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

		Green tea of second harvest			
Treatment (ppm)		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control		4.5	1,695	13.5	2.4
Chitosan	50	4.6	1,712	13.6	2.5
	250	4.7	1,723	13.8	2.5
	500	4.7	1,727	13.5	2.7
Salicylic acid	1,000	4.7	1,723	13.6	2.7
	2,000	4.8	1,740	13.8	2.4
	3,000	4.5	1,691	13.9	2.6
Methyl jasmonate	500	4.6	1,709	13.8	2.6
	1000	4.8	1,742	14.1	2.6
	1500	4.5	1,700	14.5	2.8

Table 2-15. Changes in major components content of green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment (ppm)		Green tea of third harvest			
		Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control		3.7	1,030	14.6	1.9
Chitosan	50	3.7	1,034	14.6	1.9
	250	3.6	999	14.8	2.1
	500	3.8	1,045	14.5	2.0
Salicylic acid	1,000	3.8	1,047	14.4	2.1
	2,000	3.8	1,041	14.8	2.2
	3,000	3.9	1,053	14.9	2.2
Methyl jasmonate	500	3.8	1,045	14.9	2.1
	1000	3.9	1,056	15.3	2.2
	1500	3.6	1,001	15.1	1.9

Table 2–16. Changes in GDC activity and gaba content in green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment (ppm)	Green tea of first harvest		
	GDC activity (unit·mL ⁻¹)	Gaba (mg ·100g ⁻¹)	Total phenolic compound (%)
Control	1.45 b ^z	22.2 b	12.30 a
Chitosan 50	1.40 b	23.80 b	12.70 a
250	1.43 b	24.40 b	12.90 a
500	1.40 b	25.20 b	13.30 a
Salicylic acid 1,000	1.54 b	25.00 b	12.60 a
2,000	1.48 b	26.80 b	13.50 a
3,000	1.41 b	27.48 ab	12.90 a
Methyl jasmonate 500	1.50 b	28.63 b	13.40 a
1000	2.18 a	33.38 a	13.85 a
1500	1.98 a	32.00 a	13.70 a

Table 2–17. Changes in GDC activity and gaba content in green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment (ppm)	Green tea of second harvest		
	GDC activity (unit·mL ⁻¹)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Total phenolic compound (%)
Control	1.42 b ^z	23.42 b	12.34 a
Chitosan 50	1.44 b	23.84 b	12.36 a
250	1.46 b	25.26 b	12.42 a
500	1.44 b	26.24 b	12.47 a
Salicylic acid 1,000	1.53 b	25.08 b	12.42 a
2,000	1.52 b	26.82 b	12.49 a
3,000	1.48 b	27.44 ab	12.48 a
Methyl jasmonate 500	1.60 b	27.63 b	12.78 a
1000	2.08 a	33.32 a	12.85 a
1500	1.93 a	31.02 a	12.73 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2–18. Changes in GDC activity and gaba content in green tea by signal transfer material treatments under grown field conditions in 2006.

Treatment	Green tea of third harvest		
	GDC activity (unit·mL ⁻¹)	GABA (mg·100g ⁻¹)	Total phenolic compound (%)
Control	1.20 b ^z	16.22 b	13.16 a
Chitosan 50	1.24 b	17.44 b	13.14 a
250	1.26 b	17.26 b	13.21 a
500	1.24 b	18.86 b	13.29 a
Salicylic acid 1,000	1.23 b	17.24 b	13.28 a
2,000	1.32 b	17.90 b	13.35 a
3,000	1.31 b	20.14 ab	13.41 a
Methyl jasmonate 500	1.40 b	20.63 b	13.52 a
1000	1.85 a	23.32 a	13.69 a
1500	1.61 ab	21.02 a	13.61 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2-19. Growth and yield of green tea between conventional species and 'Yabukita' cultivar under grown field conditions in 2006.

Cultivar	Shoot of first harvest				
	Number (no·0.18m ² ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g·100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg·10a ⁻¹ F wt)
Conventional	220	6.2	3.4	25.4	197
Yabukita	207	7.0	3.9	26.3	209

Table 2-20. Major components contents of different species of green tea under grown field conditions in 2006.

Tea cultivar	Green tea of first harvest			
	GDC activity (unit·mL ⁻¹)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Catechin (%)	Total phenolic compound (%)
Conventional	1.42	25.12	11.80	11.32
Yabukita	1.38	23.46	11.62	11.06

3. 자외선과 신호전달물질 살포 효과

전년도 다원에서 광과장과 신호전달물질처리에서 가바함량에 가장 효과적인 것은 자외선과 메칠자스모네이트였다. 이러한 결과를 근거로 일몰후 자외선 65W 2, 4시간 조사와 함께 메칠자스모네이트 1,000ppm 엽면 살포에서 차 신초 생장에 미치는 효과는 Table 2-21~22에 나타낸 바와 같다. 두물차에서 신초수와 길이, 잎 수, 중량, 수량은 대조구와 차이를 나타내지 않았다. 세물차에서도 이들 처리는 두물차에서와 같이 신초 생장에 영향을 미치지 않으므로써 이들 조합 처리에 따른 신초 생장억제나 생리장해는 나타나지 않는 것으로 판단된다.

Table 2-21. Response of shoot growth in tea trees by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments under grown field conditions in 2007.

Treatment ^z	Shoot of second harvest				
	Number (No· 0.18m ² ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g·100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg·10a ⁻¹ F wt)
Control	222	6.2	3.2	33.5	276
UV 2hrs+MJ	234	6.2	3.2	35.6	281
4hrs+MJ	236	6.0	3.4	36.2	287

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

Table 2-22. Response of shoot growth in tea trees by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments under grown field conditions in 2007.

Treatment ^z	Shoot of third harvest				
	Number (No· 0.18m ² ⁻¹)	Length (cm)	Leaf no	Weight (g·100bud ⁻¹ F wt)	Yield (kg·10a ⁻¹ F wt)
Control	246	8.8	4.1	34.2	312
UV 2hrs+MJ	260	9.2	4.1	36.4	332
4hrs+MJ	254	9.0	4.2	35.8	337

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

두물차와 세물차의 Hunter 'L'값 변화 (Table 23~24)에서, 'L'와 'b'값은 처리구에 비해 대조구에서 다소 높은 경향을 나타냈으나 'a'값은 다소 감소하는 경향을 나타냈는데 이들 값은 처리간 유의차가 없었다. 따라서, 차에서 이들 조합처리는 신초 생장 뿐만 아니라 잎색에도 별다른 영향을 미치지 않았다.

Table 2-23. Changes in Hunter values of tea leaves by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Hunter value of second harvest		
	L	a	b
Control	52.14	-13.14	25.57
UV 2hrs+MJ	48.18	-10.16	22.91
4hrs+MJ	49.43	-10.80	20.80

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

Table 2-24. Changes in Hunter values of tea leaves by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Hunter value of third harvest		
	L	a	b
Control	54.15	-14.10	23.57
UV 2hrs+MJ	50.18	-12.26	20.31
4hrs+MJ	51.43	-12.20	21.30

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

수확한 잎의 주요 영양소 함량 (Table 25~26)에서, 전질소, 전아미노산, 탄닌과 카페인함량은 처리구와 대조구에서 별다른 차이를 나타내지 않았다. 따라서, 자외선과 메칠자스모네이트 처리는 두물차와 세물차의 주요 영양소 함량에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

Table 2-25. Changes in major component contents of green tea by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Green tea of second harvest			
	Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹ D wt)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control	4.4	1,695	13.5	2.4
UV 2hrs+MJ	4.1	1,673	13.6	2.4
4hrs+MJ	4.3	1,679	13.7	2.6

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

Table 2-26. Changes in major component contents of green tea by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Green tea of third harvest			
	Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹ D wt)	Tannin (%)	Caffeine (%)
Control	4.0	1,295	15.5	2.0
UV 2hrs+MJ	3.8	1,173	14.6	2.1
4hrs+MJ	3.8	1,179	14.7	2.2

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

GDC와 가바함량 조사 (Table 27~28)에서, 두물차에서 GDC 활성은 대조구 보다는 처리구에서 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다. 가바함량도 대조구의 20.25mg에 비해 처리구에서 24.22, 26.54mg·100g⁻¹D wt으로 처리구에서 유의하게 높았다. 세물차에서도 처리구는 대조구에 비해 GDC 활성 증가와

함께 가바함량을 현저히 증가시켰다. 따라서, 다원에서 자외선 처리와 함께 메칠자스모네이트 엽면살포는 가바함량을 대조구에 비해 18-24% 증가시켰다.

Table 2-27. Change in GDC activity and gaba content of green tea by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Green tea of second harvest		
	GDC activity (unit·mL)	Gaba (mg·100g ⁻¹ D wt)	Total phenolic acid (%)
Control	1.40 b ^y	20.25 b	11.64 a
UV 2hrs+MJ	1.86 a	26.54 a	11.39 a
4hrs+MJ	2.22 a	24.22 a	12.50 a

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

^yMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 2-28. Change in GDC activity and gaba content of green tea by ultraviolet plus methyl jasmonate treatments grown under field conditions in 2007.

Treatment ^z	Green tea of third harvest		
	GDC activity (unit·mL)	Gaba (mg·100g ⁻¹ D wt)	Total phenolic acid (%)
Control	1.34 b ^y	18.16 b	12.16 a
UV 2hrs+MJ	1.90 a	22.20 a	12.29 a
4hrs+MJ	2.02 a	24.64 a	12.46 a

^zUltraviolet 65W treatment plus 1,000ppm methyl jasmonate foliar spray.

^yMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

제 3 장 제다전 혐기처리에 의한 가바증진

제 1 절 서 론

가바차 개발을 위해서는 찻잎내 가바함량을 증진시키는 것이 시급하다. 가장 효율적인 방법은 질소개스를 이용 혐기처리를 하는 것으로 알려져 있는데 아직 우리나라에서 찻잎을 이용한 가바증진 실험은 시도된 바 없다. 혐기처리시 가바함량은 처리 온도와 함께 혐기와 호기를 교대로 처리해 줌으로써 가바함량에 영향을 받는 것으로 알려져 있어 최적의 혐기처리 조건을 밝히는 것이 시급하다. 또, 혐기처리시간이 길거나 처리온도가 높으면 혐기 발효가 진행되어 찻잎 외관이 나빠지고 추출물에서 이취가 발생할 우려도 있다. 따라서 가바증진을 위한 최적의 혐기처리 조건을 구명하는 것이 필요하다.

제 2 절 재료 및 방법

보성 차시험장 다원에서 채엽한 두 번째 차는 곧 바로 냉수침지 처리하였다. 상온수(20℃)와 함께 지하수인 물을 0℃로 온도를 낮춰 1, 2, 4, 6시간 각각 침지 처리해 주었다. 처리가 끝난 차는 상온에서 건조시킨 다음 제다기를 이용 덩음차 제다공정으로 제다하였다.

유산 균주에 따른 가바 생성량을 조사하기 위해 5종의 균주를 전남농업기술원 으로부터 분양 받아 사용하였다. 균주 배양액은 12.5, 15, 17.5% amino acid power였고 배양온도는 20℃였다.

가바함량 증진을 위해, 수확한 차는 20L 밀폐된 플라스틱 용기에 70% 정도 넣어 통기성을 확보한 다음 100% N₂ 개스 300mL·분⁻¹를 5분간 흘려 보낸 다음 밀폐시켰다. 개스가 주입된 플라스틱상자는 10, 20, 30℃에서 각각 1, 3, 5시간 혐기처리 한 다음 꺼내 덩음차 제다 공정으로 제다하였다. 반면, 대조구로 사용한 녹차는 다원에서 수확한 다음 덩음차 제다 공정으로 제다

하였다.

수확한 찻잎 예조효과를 보기 위해, 5℃와 20℃ 상태에서 각각 1, 10, 20시간 둔 다음 100% N₂ 개스를 3시간 혐기처리한 다음 뒤음차 제다 공정으로 제다하였다.

전질소, 전아미노산, 탄닌, Caffein, 클로로필, 비타민 C, 카테킨, 전페놀, 유리아미노산함량, GDC 활성과 가바함량은 제2장 2절 재료 및 방법과 동일한 방법으로 측정하거나 분석하였다.

관능평가를 위해 다관에 뜨거운 물을 온도별 (80, 90, 100℃)로 각각 100mL 넣고 가바차 3g을 넣어 3분간 3회 추출하였다. 관능평가는 목포대학교 지역 특화작목산업화센터 연구원과 국제차문화학과 대학원생 10명이 수행하였다. 쓴맛, 떫은맛, 단맛, 향을 각각 평가한 다음 이들 값을 평균해서 수치(1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=우수, 5=매우 우수)로 나타냈다.



Fig. 3-1. Representation of anaerobic treatment with N₂ gas (left) and immersed with cold water (right) in green tea leaves before processing.

제 3 절 실험 결과 및 고찰

1. 냉수침지 처리 효과

채엽후 제다공장으로 수송할 때 까지 신선도 유지를 위해 0℃ 냉수와 함께 20℃ 상온수를 대조구로 해서 1시간에서부터 6시간까지 침지처리한 다음 제다해서 주요 성분을 조사한 결과는 Table 3-1, -2, -3에 나타냈다. 가바함량은 냉수와 상온수에

서 모두 증가하는 경향을 나타냈고 특히 20℃ 2시간 또는 4시간 처리에서 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다. 채엽후 잎 Hunter값에서, 'L'값은 0℃에서 1, 2, 4, 6시간 처리시 52.30-51.95로 처리시간에 따라 별다른 차이를 나타내지 않았다. 반면 20℃에서는, 처리 4시간부터 'L'값이 낮아지면서 외관이 다소 나빠지는 경향을 나타냈다. 전질소, 전아미노산, 탄닌, 카페인 함량은 처리 온도와 처리 시간에 영향을 받지 않았으나 클로로필함량은 20℃ 6시간 처리에서 다소 감소하는 경향을 나타냈다. Hunter 값과 엽록소 손실을 기준으로 0℃에서는 4시간, 20℃에서는 2시간 이내에서 침지 처리하는 것이 바람직한 것으로 나타났다.

Table 3-1. Changes in major components content of green tea as influenced by water soaking treatment before processing.

Treatment	Green tea of second harvest				
	Total nitrogen (%)	Total amino acid (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffeine (%)	Chlorophyll (mg·100g ⁻¹)
Control	4.97	2,485	13.09	2.91	438
0℃ 1hr	4.99	2,493	13.09	2.94	452
2hrs	4.96	2,483	12.97	2.89	445
4hrs	4.92	2,465	13.18	2.85	440
6hrs	4.89	2,451	12.92	2.80	426
20℃ 1hr	5.00	2,498	13.07	2.96	458
2hrs	4.91	2,461	12.95	2.84	446
4hrs	4.83	2,432	13.15	2.81	437
6hrs	4.75	2,408	12.88	2.73	403

Table 3-2. Changes of major components content of green tea as influenced by water soaking treatment before processing.

Treatment	Green tea of second harvest			
	GDC activity (unit·mL ⁻¹)	Gaba (mg·100g ⁻¹)	Catechin (%)	Total phenolic compound (%)
Control	1.30 b ^z	24.40 b	11.80 a	11.32 a
0°C 1hr	1.34 b	25.24 b	11.84 a	11.54 a
2hrs	1.90 a	30.34 a	11.62 a	11.58 a
4hrs	1.88 a	30.68 a	11.36 a	11.3 a
6hrs	2.02 a	31.47 a	11.24 a	11.2 a
20°C 1hr	1.85 a	32.24 a	11.72 a	11.4 a
2hrs	2.10 a	31.68 a	11.50 a	11.2 a
4hrs	2.14 a	31.46 a	11.14 a	11.1 a
6hrs	2.00 a	31.94 a	11.06 a	10.8 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 3-3. Change in Hunter value of green tea as influenced by water soaking treatment before processing.

Treatment	Hunter value of second harvest			
	L	a	b	b/a
Control	52.31	-12.04	23.92	-1.99
0°C 1hr	52.30	-12.02	23.90	-1.99
2hrs	52.21	-11.97	23.85	-1.99
4hrs	52.03	-11.85	23.79	-2.01
6hrs	51.95	-11.73	23.74	-2.02
20°C 1hr	52.27	-12.00	23.87	-1.99
2hrs	52.14	-11.91	23.81	-2.00
4hrs	51.96	-11.79	23.73	-2.01
6hrs	51.88	-11.62	23.65	-2.04

2. 유산균주를 이용한 가바증진

미생물을 이용한 가바 함량 증진(Table 3-4, -5)에서, 5종의 미생물 중 *Lactovacillus brevis*에서 생성량이 가장 많았고 이 미생물의 배양농도에서는 2% glutamic acid가 1%나 3% 용액에 비해 유의하게 높았다. 배양기간별로는 배양 7일에 최대치에 도달된 다음 배양기간이 경과할수록 점점 감소하는 경향을 나타냈다. 동일한 미생물 균주를 이용 amino acid powder 12.5, 15.0, 17.5% 배양액에서 가바함량을 조사시 200mg·100g⁻¹ 내외로 glutamic acid 배양액에 비해 현저히 낮은 경향을 나타냄으로써 가바함량은 배양액 조성에 따라서도 큰 차이를 나타냈다. 유산균주를 이용한 가바증진 효과도 우수한 것으로 나타나 앞으로, 이를 이용한 실용화 연구도 필요한 것으로 사료된다.

Table 3-4. Changes in gaba content in *Lactovacillus* spp. with different glutamic acid treatment according to incubation duration.

Treatment	Gaba content (mg·100g ⁻¹)				
	3 days	7 days	11 days	15 days	
<i>Lactovacillus brevis</i>	1%+ Glutamic acid	209	386	397	405
	2%+Glutamic acid	312	761	713	642
	3%+Glutamic acid	337	628	572	523
<i>Lactovacillus plantarum</i>	1%+Glutamic acid	178	302	312	320
	2%+Glutamic acid	230	515	477	499
	3%+Glutamic acid	246	428	398	387
<i>Leuconostoc mensenterodies</i>	1%+Glutamic acid	102	278	289	304
	2%+Glutamic acid	150	403	388	354
	3%+Glutamic acid	178	329	301	287
<i>Weissella paramensenterodies</i>	1%+Glutamic acid	126	310	321	325
	2%+Glutamic acid	195	425	400	370
	3%+Glutamic acid	210	301	287	279
<i>Pediococcus dextrinicus</i>	1%+Glutamic acid	145	361	369	372
	2%+Glutamic acid	200	505	501	476
	3%+Glutamic acid	240	376	359	351

* Cultural medium composition : glucose 1.2%, pepton 1.3%, yeast extracter 0.6%, water 91.9~93.9% (pH 6.1±0.1), *Lactovacillus* spp concentration 1.9±0.1%.

Table 3-5. Changes in gaba content in *Lactovacillus* spp. with different amino acid powder treatment according to incubation duration.

Treatment	Gaba content (mg·100g ⁻¹)			
	7 days	14 days	21 days	28 days
<i>Lactovacillus brevis</i> 12.5%+amino acid powder	206	301	406	342
	215	338	483	423
	223	346	457	407
<i>Lactovacillus plantarum</i> 12.5%+amino acid powder	126	179	254	237
	148	201	318	300
	152	199	302	287
<i>Leuconostoc mensenterodies</i> 12.5%+amino acid powder	115	163	239	230
	137	189	275	268
	139	195	263	251
<i>Weissella paramensenterodies</i> 12.5%+amino acid powder	172	259	316	289
	184	278	359	332
	192	285	341	322
<i>Pediococcus dextrinicus</i> 12.5%+amino acid powder	131	183	297	288
	148	199	341	323
	157	210	330	315

* Cultural medium composition : glucose 1.2%, pepton 1.3%, yeast extracter 0.6%, water 91.9~93.9% (pH 6.1±0.1), *Lactovacillus* spp concentration 1.9±0.1%

3. 질소 혐기처리 효과

10, 20, 30℃에서 100% N₂ 개스를 1, 3, 5시간 처리시 가바와 주요 성분 변화 (Table 3-6~8)에서, 전질소, 전아미노산, 탄닌, 카페인, 클로로필함량은 처리간 차이가 없었다. 유리당인 포도당, 과당, 자당도 처리간 차이를 나타내지 않았다. 아미노산함량에서 glutamic acid와 aspartic acid가 감소하면서 가바와 alanine이 증가하는 경향을 나타냈다. 가바함량은 대조구에 비해 모든 혐기처리에서 높아지는 경향을 보여주었고 혐기처리 중에서는 20℃에서 3시간 처리시 가바함량이 가장 높게 나타났다.

혐기처리에서 관능평가지 식미는 처리온도가 높을수록 처리시간이 길수록 낮아지는 경향을 나타냈다 (Table 3-9). 대조구에서 식미값은 80.4로 나타났고 20℃, 3시간 혐기처리에서도 78.1로 나타나 이 정도의 혐기처리는 품질을 저하시키지 않는 것으로 나타났다.

혐기처리전 5, 20℃에서 각각 1, 10, 20시간 예조처리후 N₂ 개스 처리에 따른 주요 성분과 식미변화 (Table 3-10~13)에서, 이들 처리조건에 따른 주요성분과 가바함량, 식미는 영향을 받지 않았다. 따라서, 이 정도의 예조처리후 가바차 제다는 차 품질에 별다른 영향을 미치지 않을 것으로 판단된다.

Table 3-6. Changes in major components content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas before processing.

N ₂ gas treatment	Green tea of second harvest					
	T-N ^z (%)	TAA ^y (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffein (%)	Chlorophyll (mg·100g ⁻¹)	Vitamin C (mg·100g ⁻¹)
10°C 1 hr	4.70	2,731	13.09	3.27	327.1	382.4
3 hrs	4.90	3,003	12.87	3.23	318.9	390.4
5 hrs	4.97	3,065	12.97	3.03	303.9	373.2
20°C 1 hr	4.73	2,788	12.98	3.08	324.3	360.6
3 hrs	4.88	3,022	12.63	3.18	329.5	347.9
5 hrs	4.65	2,667	13.17	3.00	310.8	320.1
30°C 1 hr	4.55	2,608	13.26	2.98	327.6	356.7
3 hrs	4.84	2,911	12.97	3.16	305.1	330.5
5 hrs	4.28	2,425	12.80	3.05	284.3	289.1
Control	4.85	2,926	13.34	3.09	330.3	365.7

^zTotal nitrogen

^yTotal amino acid

Table 3-7. Changes in free sugars content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment	Free sugars (mg·100g ⁻¹)			
	Sucrose	Glucose	Fructose	Total
10°C 1 hr	701	1,102	281	2,084
3 hrs	693	1,083	277	2,053
5 hrs	686	1,004	172	1,862
20°C 1 hr	717	1,106	246	2,079
3 hrs	685	1,300	273	2,258
5 hrs	587	1,059	184	1,830
30°C 1 hr	665	1,109	229	2,003
3 hrs	603	1,197	239	2,039
5 hrs	467	1,088	164	1,719
Control	678	993	191	1,862

Table 3–8. Changes in amino acids content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment	Free amino acids ^z (mg·100g ⁻¹)						
	Asp	Thea	Ser	Glu	Ala	Gaba	Arg
10°C 1 hr	84	1,212	130	270	225	51	425
3 hrs	50	1,351	123	201	320	190	429
5 hrs	42	1,397	115	182	317	205	438
20°C 1 hr	95	1,246	140	258	203	85	401
3 hrs	42	1,394	155	172	270	225	388
5 hrs	40	1,328	97	165	285	210	375
30°C 1 hr	62	1,096	85	160	300	115	421
3 hrs	35	1,343	88	152	295	217	441
5 hrs	42	1,161	59	135	227	200	343
Control	141	1,381	121	342	119	35	406

^zAsp : Aspartic acid, Thea : Theanine, Ser : Serine, Glu : Glutamic acid, Pro : Proline, Gly : Glycine, Ala : Alanine, Val : Valine, Ile : Isoleucine, Leu : Leucine, Tyr : Tyrosine, Pho : Phenylalanine, GABA : γ -Aminobutyric acid, Lys : Lysine, His : Histidine, Arg : Arginine.

Table 3-9. Changes in sensory evaluation in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment	Sensory evaluation (100 score)					Total
	External factor (40 score)		Internal factor (60 score)			
	Appearance	Leaf colour	Flavor	Extract colour	Tasty	
10°C 1 hr	14.9	15.2	16.1	15.9	16.4	78.5
3 hrs	15.7	15.8	16.5	16.0	16.6	80.6
5 hrs	15.4	15.6	16.0	15.6	15.7	78.3
20°C 1 hr	15.8	15.5	15.6	15.4	15.3	77.6
3 hrs	15.8	15.5	15.6	15.6	15.6	78.1
5 hrs	14.9	15.1	15.7	15.3	15.3	76.3
30°C 1 hr	15.5	15.7	15.3	15.2	15.3	77.0
3 hrs	15.0	15.1	16.0	15.4	15.9	77.2
5 hrs	14.1	14.7	15.2	15.2	15.1	74.3
Control	15.8	15.7	16.5	16.2	16.2	80.4

Table 3-10. Changes in major components content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas and conditioning duration before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment with conditioning	Green tea of second harvest				
	T-N ^z (%)	TAA ^y (mg·100g ⁻¹)	Tannin (%)	Caffein (%)	Chlorophyll (mg·100g ⁻¹)
5°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.88	2,955	14.64	3.15	342.4
5°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.80	2,880	14.32	3.17	320.1
5°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.71	2,740	13.76	3.12	292.6
20°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.83	2,915	14.32	3.17	332.3
20°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.66	2,665	14.09	3.02	305.8
20°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	4.40	2,537	13.58	2.89	265.9
Control	4.85	2,926	13.34	3.09	330.3

^zTotal nitrogen

^yTotal amino acid

Table 3-11. Changes in major components content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas and conditioning duration before processing.

N ₂ gas treatment with conditioning	Free sugars (mg·100g ⁻¹)			
	Sucrose	Glucose	Fructose	Total
5°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	557	946	264	1,767
5°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	603	894	231	1,728
5°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	673	791	182	1,616
20°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	589	913	243	1,745
20°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	610	799	221	1,630
20°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	614	757	182	1,553
Control	678	993	191	1,862

Table 3-12. Changes in major components content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas and conditioning duration before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment with conditioning	Free amino acids ^z (mg/100g)						
	Asp	Thea	Ser	Glu	Ala	Gaba	Arg
5°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	97	1,324	115	214	219	180	414
5°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	69	1,308	108	198	221	223	400
5°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	58	1,256	112	184	214	208	397
20°C 1 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	65	1,345	115	230	211	185	425
20°C 10 hrs conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	51	1,263	91	198	203	215	384
20°C 20 hr conditioning→ 3 hrs N ₂ treatment	47	1,191	90	210	198	164	357
Control	141	1,381	121	342	119	35	406

^zAsp : Aspartic acid Thea : Theanine Ser : Serine Glu : Glutamic acid Pro : Proline Gly : Glycine Ala : Alanine Val : Valine Iie : Isoleucine Leu : Leucine Tyr : Tyrosine Pho : Phenylalanine GABA : γ -Aminobutyric acid Lys : Lysine His : Histidine Arg : Arginine

Table 3-13. Changes in major components content in green tea by anaerobic treatment with 100% nitrogen gas and conditioning duration before processing. Tea leaves used on second harvest season.

N ₂ gas treatment with conditioning	Sensory evaluation (100 score)					Total
	External factor (40 score)		Internal factor (60 score)			
	Appearance	Leaf colour	Flavor	Extract colour	Tasty	
5°C 1 hr conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.8	16.1	15.7	15.5	15.3	78.4
5°C 10 hrs conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.5	15.8	15.4	15.7	15.2	77.6
5°C 20 hr conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.7	15.1	15.6	15.5	15.4	77.3
20°C 1 hr conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.8	15.8	15.3	15.5	15.6	78.0
20°C 10 hrs conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.8	15.9	14.8	14.6	15.0	76.1
20°C 20 hr conditioning → 3 hrs N ₂ treatment	15.0	15.5	14.5	14.4	14.2	73.6
Control	15.8	15.7	16.5	16.2	16.2	80.4

제다전 혐기처리에 따른 가바 증진을 위해, 전년도 실험 성적에서 25°C에서 100% N₂ 개스를 3시간 처리시 가바함량이 크게 증가하였다. 가바증진을 위해 N₂ 개스 호기와 혐기처리에 따른 주요 영양소 함량 조사 (Table 3-14)에서, 전질소, 전아미노산, 탄닌, 카페인, 클로로필과 비타민 C함량은 대조구에 비해 별다른 차이를 나타내지 않았다.

Table 3-14. Changes in major components content in green tea by anaerobic and aerobic treatments with 100% nitrogen gas or air before processing.

N ₂ gas treatment ^z	Green tea leaves					
	T-N ^y (%)	TAA ^x (mg·100g ⁻¹ D wt)	Tannin (%)	Caffein (%)	Chlorophyll (mg·100g ⁻¹ D wt)	Vitamin C (mg·100g ⁻¹ D wt)
A	4.22	2,924	10.63	2.78	339.5	317.5
B	4.25	2,761	11.17	2.80	340.8	326.4
C	4.15	2,658	10.26	2.98	323.6	319.3
Control	4.20	2,821	10.34	2.49	334.3	335.5

^zA=3hrs under 100% N₂ at 20°C

B=3hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition at 20°C

C=3hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition→ 3hrs under 100% N₂ at 20°C

^yTotal nitrogen

^xTotal amino acid

유리아미노산 함량(Table 3-15)에서, N₂ 개스 처리시 aspartic acid는 대조구에 비해 증가하였으나 glutamic acid는 현저하게 감소하였다. 가바함량은 대조구에 비해 N₂ 처리구에서 높았고, N₂ 처리구에서는 혐기처리 보다는 혐기와 호기를 번갈아 가면서 처리시 가바함량이 현저히 증가하는 경향을 나타냈다.

Table 3-15. Changes in free amino acids content in green tea by anaerobic and aerobic treatments with 100% nitrogen gas or air before processing.

N ₂ gas treatment ^z	Free amino acids ^y (mg·100g ⁻¹ D wt)						
	Asp	Thea	Ser	Glu	Ala	Gaba	Arg
A	42 b ^x	1,394 a	135 a	172 b	270 a	225 b	388 a
B	36 b	1,328 a	127 a	125 c	285 a	270 a	375 a
C	32 b	1,196 a	115 a	120 c	300 a	275 a	421 a
Control	141 a	1,381 a	121 a	342 a	119 b	35 c	406 a

^zA=3hrs under 100% N₂ at 20°C

B=3 hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition at 20°C

C=3 hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition→ 3 hrs under 100% N₂ at 20°C

^yAsp : Aspartic acid, Thea : Theanine, Ser : Serine, Glu : Glutamic acid, Pro : Proline, Gly : Glycine, Ala : Alanine, Val : Valine, Ile : Isoleucine, Leu : Leucine, Tyr : Tyrosine, Pho : Phenylalanine, GABA : γ-Aminobutyric acid, Lys : Lysione, His : Histidine, Arg : Arginine.

^xMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

가바차 추출물 관능평가에서(Table 3-16)에서, 외형적 요인 40%와 내질적 요인 60%로 해서 맛을 조사해 본 결과 혐기처리시 추출한 잎 외관은 개스 처리시 대조구에 비해 다소 감소하는 경향을 나타냈다. 반면, 내질적 요소인 향, 당색과 식미에서는 별다른 차이를 나타내지 않았다. 종합 점수에서 대조구 82.4로 혐기처리구의 80.1, 76.3, 75.8와 별다른 차이를 나타내지 않았다. N₂ 혐기처리 시간이 길면 혐기호흡 결과 잎색이 검게 변하면서 이취가 발생되는데 3시간 혐기처리→ 3시간 호기처리→ 3시간 혐기처리는 가바를 증진시키는 반면, 추출물 맛에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 3-16. Changes in sensory evaluation in green tea extracts by anaerobic and aerobic treatments with 100% nitrogen gas or air before processing.

N ₂ gas treatment ^z	Sensory evaluation (100 score)					Total
	External factor (40 score)		Internal factor (60 score)			
	Appearance	Leaf colour	Flavor	Extract colour	Tasty	
A	17.8	15.5	15.8	15.4	15.6	80.1
B	14.9	15.1	15.7	15.2	15.4	76.3
C	15.0	15.0	15.3	15.2	15.3	75.8
Control	17.8	15.7	16.5	16.2	16.2	82.4

^zA=3hrs under 100% N₂ at 20°C

B=3 hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition at 20°C

C=3 hrs under 100% N₂→ 3hrs aerobic condition→ 3 hrs under 100% N₂ at 20°C

제 4 장 고지방 식이를 섭취한 흰쥐에서 가바녹차 의 항비만 효과

제 1 절 서 론

최근 삶의 수준이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심이 높아가는 가운데 웰빙식품들이 주목을 받고 있다. 세계 3대 기호 음료 중 하나인 차는 웰빙 식품으로 소비자가 선호하는 식품 중 하나이다. 특히 차는 항산화, 항암, 혈중 지질억제, 항비만, 항균, 혈압상승억제, 성인병예방 등의 다양한 생리활성을 갖고 이들 기능에 기여하는 주요 성분으로는 카테킨과 같은 폴리페놀, 가바(γ -aminobutyric acid, GABA), 카페인, 테아닌(theanin) 등이 알려져 있다.

차는 보통 *Camellia sinensis*의 잎을 이용하여 가공된 것을 말하며, 제법에 따라 다양한 종류의 제품이 생산되고 있다. 차 제품 형태에 따라 차가 갖는 항당뇨, 면역증강, 노화억제 등의 다양한 기능성도 큰 차이를 나타낸다고 알려져 있다. 또한 차에 함유된 유용 기능성 성분을 추출하여 얻어진 조성물을 화장품, 의약품, 식품 등에 첨가하여 만들어진 제품들이 출시되고 있으나 차 음료 외 가공제품 등의 생산은 아직 미비한 실정이다. 그 외에도 차 품질 및 기능성을 향상시키기 위한 차 재배법 연구가 진행되고 있다.

우리나라의 차 생산량은 3309톤(2005년)으로 매년 증가하고 있고 차 소비량은 1인당 80 g(2005년)으로 매년 증가하고 있다. 최근 우리나라에서는 우롱차, 홍차, 후발효차 등과 같은 발효차 등의 소비량이 조금씩 증가하고 있으나 국내에서 소비되고 있는 것은 대부분 녹차 형태이다. 녹차가 소비자의 관심을 받는 가장 큰 이유는 우롱차나 홍차와는 달리 녹차에 함유된 카테킨과 같은 기능성 성분의 함량이 높기 때문이다. 녹차 중 독특한 제조 특성을 갖는 가바녹차는 혐기조건에 둔 찻잎을 이용하여 만들어진 차로, 혈압강화, 신장

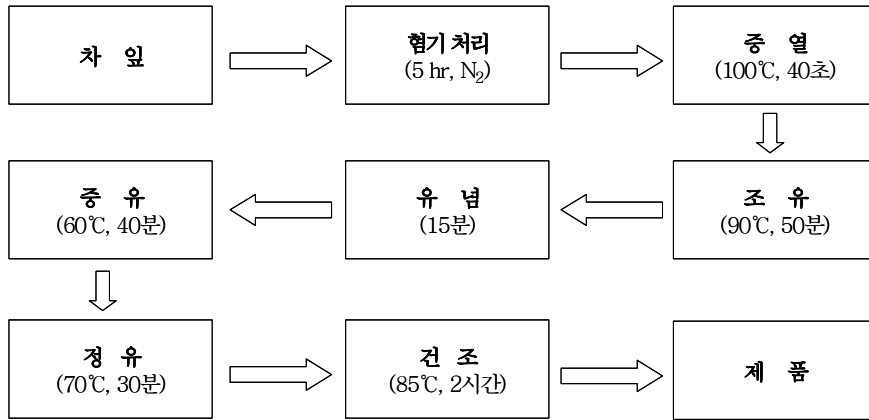
기능강화, 긴장완화와 신경안정, 학습증진효과 등을 있다고 알려져 있는 가바성분 함량이 높다고 밝혀진 바 있으나 그 외의 기능성 성분 연구는 전혀 이루어진 바가 없다. 가바는 1949년 E. Robert가 발견한 비단백질 구성 아미노산으로, glutamic acid가 1-glutamate, 1-carboxylase에 의해 탈탄산 되는 과정에서 생성된다고 알려져 있다.

본 연구에서는 가바가 많이 함유되도록 재배한 가바녹차의 추출물을 이용하여 실험용 쥐에게 경구투여한 후 가바녹차의 항비만 및 혈중 지질의 수준에 미치는 영향을 관찰하였다.

제 2 절 실험재료 및 방법

1. 시료 제조

실험에 사용한 차잎은 2006년 5월말에 전남 보성에서 재배되고 있는 재래종(*Camellia sinensis* var. *sinensis*)에서 채취된 것으로, 채취한 차잎을 밀폐된 플라스틱용기(45×30×25cm)에 넣고 N₂ gas가 공급되는 혐기조건으로 상온에서 5시간동안 둔 다음 이를 증제차 제조 방법에 의해 혐기녹차(가바녹차)를 제조하여 시료로 사용하였다. 증제 녹차는 증열, 조유, 유념, 증유, 정유, 그리고 건조 과정을 거쳐 제조하였다. 즉, 차잎을 증제차 제조기로 100℃에서 40초 동안 증열한 다음 90℃에서 50분간 조유과정을 거쳐 유념기에서 15분간 유념하였다. 이어 60℃에서 40분 동안 수분 제거와 함께 증유기에서 차의 모양을 만들었으며, 70℃ 30분간 정유기에서 정유한 다음 85℃ 건조기에서 2시간동안 건조하였다. 또한 혐기처리 녹차와 비교하기 위해 동일한 장소 및 시간에 채취한 신선 차잎을 혐기처리없이 바로 상기의 녹차증열과정을 통해 녹차(일반녹차)를 제조하여 비교구로 사용하였다.



<가바녹차의 제조 공정 흐름도>

2. 녹차 열수추출물의 제조

일반녹차와 가바녹차 각각 200 g에 증류수 20 L를 가하여 5분 동안 85°C로 가열추출한 후 여과지(Whatman No.1)로 감압 여과하였다. 얻어진 여과액을 회전감압농축기를 이용하여 농축한 다음 최종적으로 동결 건조시켜 일반녹차와 가바녹차 열수추출물 약 60 g을 얻어 동물실험에 사용하였다.

3. 실험동물

가. 사육 및 식이

실험동물로는 4주령의 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐를 분양받아 동물 사육실(실내온도 $22\pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $55\pm 5\%$, 12 hour light-dark cycle)에서 1주일간 적응시켰다. 먼저 쥐의 비만을 유도하기 위해 정상군과 고지방군으로 나누어 실험 식이를 공급하였다. Diet-induced obesity(DIO)를 유도하기 위한 고지방식이(AIN-93G diet, 한살 R&D, 경기도, 대한민국)의 조성은 표 1에 나타냈다. 6주 동안 비만을 유도한 결과, 고지방군의 체중이 정상군에 비해 116% 이상 증가하였으며(Fig. 4-1) 혈중 지질 농도 또한 유의적으로 높게

나타남을 확인하였다. 이어 비만이 유도된 쥐들을 대조군(Control), 녹차군(GT)과 가바녹차군(GRGT)으로 각각 8마리씩 나누어 고지방식이를 *ad-libitum*으로 섭취토록 하였고 정상군(Normal)은 계속 정상식이를 공급하였다. 일반 녹차군과 가바녹차군은 각각의 열수추출물을 1일 체중 0.3 g/kg body weight으로 일정한 시간에 4주 동안 경구 투여하였다.

사육기간 중 실험동물의 체중과 식이섭취량은 각각 주 1회씩 일정시간에 측정하였다.

Table 4-1. Compositions of the experimental diets

Component	Diets (g/kg diet)	
	Normal	High-fat
Casein	200	239
L-Cystine	3	3
Corn starch	398	198
Sucrose	100	88
Dextrose	132	116
Cellulose	50	60
Soybean oil	70	84
Lard	0	155
AIN-93G mineral mix*	35	42
AIN-93G vitamin mix+	10	12
Choline bitartrate	2	3
Total	1000	1000

* AIN-93G mineral mix containing (g/kg): calcium phosphate dibasic 500, sodium chloride 74, potassium citrate 220, potassium sulfate 52, magnesium oxide 24, manganous carbonate 3.5, ferric citrate 6, zinc carbonate 1.6, cupric carbonate 0.3, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromiumium potassium sulfate 0.55.

+ AIN-93G vitamin mix containing (g/kg): thiamin 0.6, pyridoxine HCl 0.7, niacin 3, calcium panththenate 1.6, folic acid 0.2, biotin 0.02, vitamin B12 (0.1% trituration in mannitol) 1, dry vitamin A palmitate (500,000 U/g) 0.8, dry vitamin E acetate (500 U/g) 10, vitamin D3 trituration (40,000 U/g) 0.25, manadione sodium bisulfite complex 0.15.

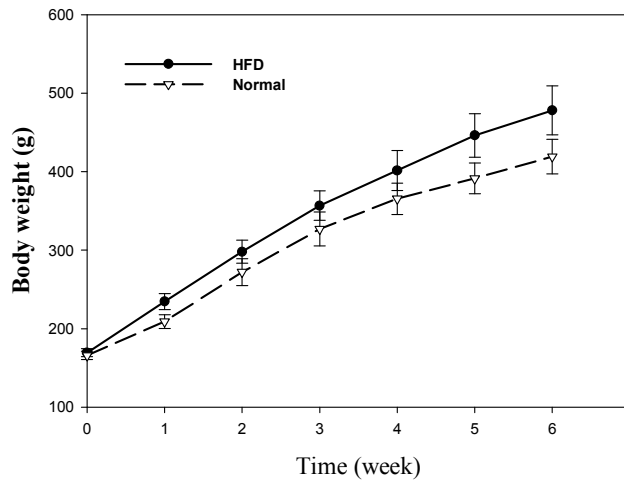


Fig. 4-1. Changes of body weights of rats fed normal and HFD (high fat diet) for 6 weeks.

나. 쥐 혈장 및 복부지방의 채취

실험동물을 희생 전 12시간 절식시킨 다음 에테르로 마취시킨 상태에서 심장으로부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 혈장을 분석 시료로 사용하였다. 복부지방무게는 각 식이군의 부고환지방과 신장지방을 분리하여 생리식염수(0.9% NaCl 용액)로 세척한 다음 무게를 측정하였다.

다. 지방 및 콜레스테롤 분석

분리한 혈장의 총 cholesterol (CHOL), triglyceride (TG), 그리고 HDL cholesterol (HDL-C)의 함량은 혈액분석기(VITROS DT60 II system, Johnson & Johnson company, USA)를 이용한 enzymatic method에 의해 측정하였다. 또한 LDL cholesterol (LDL-C) 함량은 Friedwald 공식 ($CHOL - HDL - 0.2 \times TG$)에 의해 계산되었다.

라. 통계처리

모든 실험결과는 SPSS(Statistical package for social sciences) 12.0 package program을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며, 4주간 체중 변화는 반복측정 분산분석에 의해서, 혈액 sample과 복부지방량은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 후 Scheffe's test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 실험군 간의 유의적 차이를 검증하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 실험동물의 체중의 변화 및 식이섭취량

일반녹차와 가바녹차의 열수추출물을 6주 동안 비만을 유도한 쥐에 고지방식이와 함께 4주 동안 경구 투여하여 체중 변화를 조사하였다(Fig. 4-2). 대조군, 일반 녹차군, 가바녹차군의 체중은 사육기간에 따라 증가하였으며 집단간 유의적 차이를 나타냈다. 즉, 경구 투여 4주경과 후 대조군의 체중은 550 g으로 가장 높게 나타난 반면, 일반녹차군과 가바녹차군은 각각 500 g과 480 g으로 완만한 체중증가를 나타냈으며 대조군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 가바녹차군과 일반녹차군간의 유의적 차이는 없었으나 일반녹차군에 비해 가바녹차군의 체중이 15 g정도 낮았다.

일반녹차와 가바녹차 열수추출물의 경구 투여 4주 경과 후 각 식이군의 식이섭취량을 분석한 결과(Fig. 4-3), 고지방 식이를 공급한 3 그룹은 1주 동안 약 100 g이었으며 정상식이군이 150 g 이상에 비하여 유의적으로 낮았다. 가바녹차군, 일반 녹차군, 대조군은 유의적인 차이가 없었다.

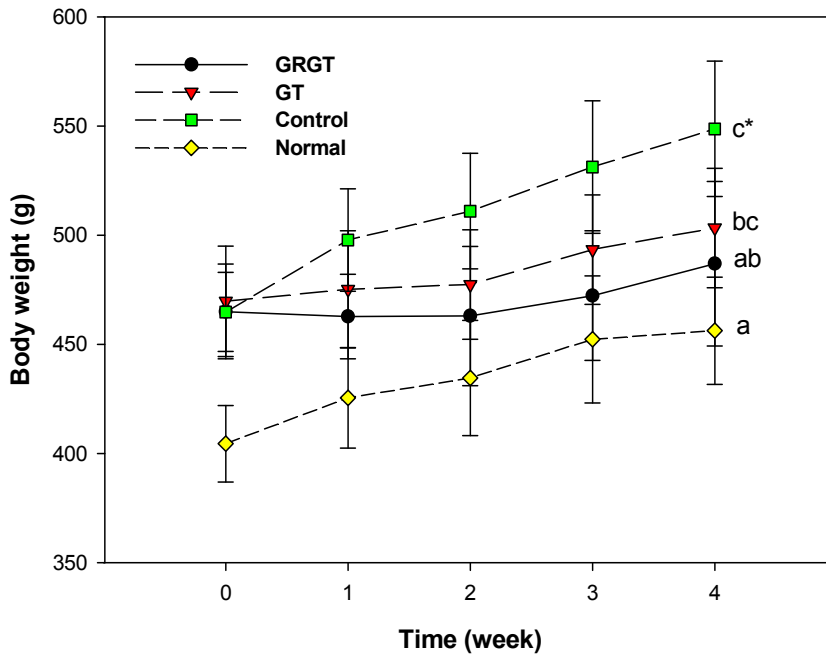


Fig. 4-2. Changes of body weights in rats administered green teas with high fat diets for four weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat fed high fat diet and administered with water extracts of green tea,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: rat fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

*Different letters are significant difference among experimental groups at $p < 0.05$.

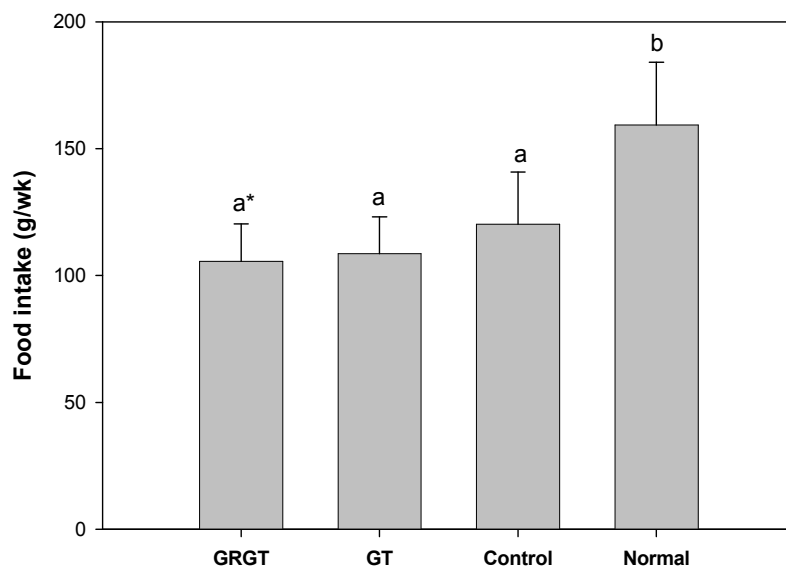


Fig. 4-3. Food intake in rats administered green teas with high fat diets for four weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet. Values are expressed as mean±SD (n= 8).

*Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

2. 복부 지방량 측정

복부에 축적된 지방은 당뇨, 동맥경화, 심혈관질환 등의 질병을 유발할 가능성이 있다고 알려져 있다. 특히 체지방량이 같더라도 복부 지방량이 증가할수록 대사성합병증의 발생률이 증가하므로 복부 지방이 이들 질환의 독립된 위험 인자로 알려져 있다. 복부 주위의 지방세포는 피하 지방세포와 달리 크기가 크고 adipose tissue lipoprotein lipase 활성도가 높아 지속적으로 증성지방을 분해시켜 혈중 유리지방산 농도를 상승시킨다. 이와는 반대로 혈중에 있는 과량의 유리지방산은 다시 지방세포로 흡수되어 지방조직 내에 재축적되므로 복부 지방량의 조사는 복부비만을 확인할 수 있는 직접적인 방법이라고 볼 수 있다.

경구투여 4주 후에 수술을 통하여 각 식이군의 복강 내 지방분포를 사진(Fig. 4-4)을 취한 다음 복부지방을 채취하여 복부 지방량을 조사하였다(Fig. 4-5). 제시한 가바녹차군과 대조군의 복강 내 사진과 같이 두 군간의 복부지방량은 큰 차이가 있음을 알 수 있었으며, 실제로 정상군<가바녹차군<일반 녹차군<대조군의 순으로 높게 나타났고, 가바녹차군과 정상군 간에는 유의적인 차이가 없었다($p<0.05$).

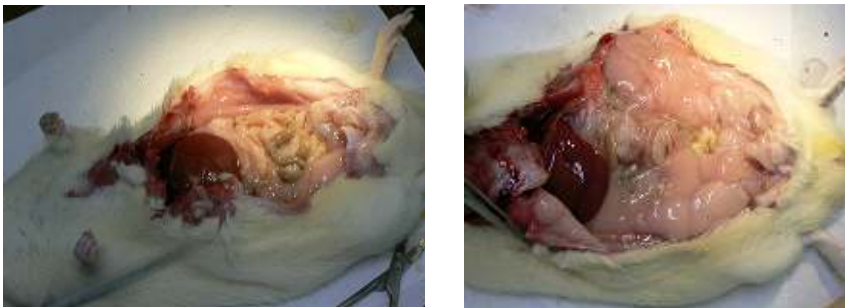


Fig. 4-4. Photographs of abdominal fats of rats fed high fat diet and administered with water extracts of GABA tea for 4 weeks.

(**Left**: A rat fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day, **Right**: A rat fed high fat diet)

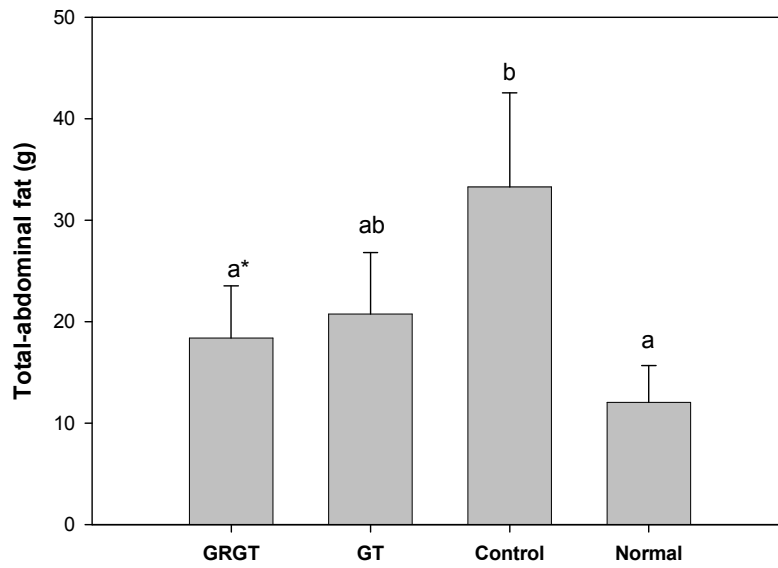


Fig. 4–5. Total–abdominal fats of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA–rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

* Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p<0.05$ by Scheffe's test.

3. 혈중 지질 수준

사육 4주 후 희생시킨 쥐의 혈액으로부터 분리한 혈장에서 중성지질, 총콜레스테롤, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol의 농도를 조사한 결과는 Fig. 4-6과 같다. 가바녹차군이 다른 군에 비해 유의적으로 가장 낮은 수준을 나타냈다($p < 0.05$). 일반 녹차군과 정상군은 유의적인 차이가 없었고, 대조군이 가장 높게 나타났다. 이는 일반 녹차보다 가바녹차가 혈중 중성지방을 감소시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

혈중 총 cholesterol 함량 또한 다른 군에 비해 가바녹차군이 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다($p < 0.05$). 그리고 일반 녹차군과 정상군은 유의적인 차이가 없었고, 대조군이 가장 높게 나타나 혈중 중성지방 함량을 측정할 결과와도 일치함을 보였다(Fig. 4-7).

이와는 달리 혈중 HDL-cholesterol 함량은 Fig. 4-8과 같이 전 실험군 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났으며 혈중 LDL-cholesterol 함량은 대조군에 비해 가바녹차군과 일반 녹차군이 유의적으로 매우 낮은 수준을 나타내었다($p < 0.05$). 또한 가바녹차와 일반 녹차군의 LDL-cholesterol수준이 정상군보다도 유의적으로 낮아 녹차 추출물의 투여가 혈중 LDL 수준을 낮추는 데 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 4-9).

혈중 VLDL-cholesterol 함량은 Fig. 4-10과 같이 대조군에 비해 가바녹차군, 일반 녹차군, 정상군이 유의적으로 낮은 수준을 나타내었다($p < 0.05$). 그 중에서도 가바녹차군이 가장 낮은 수치를 보였고, 일반 녹차군과 정상군은 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 혈중 중성지방과 총 콜레스테롤 수준과도 같은 경향임을 알 수 있었다.

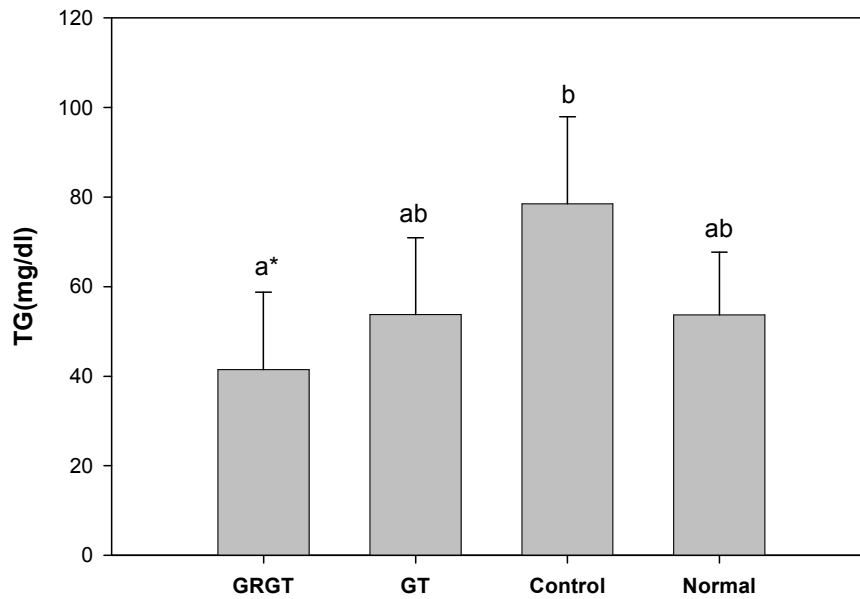


Fig. 4–6. Triglyceride concentrations in plasma of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

*Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

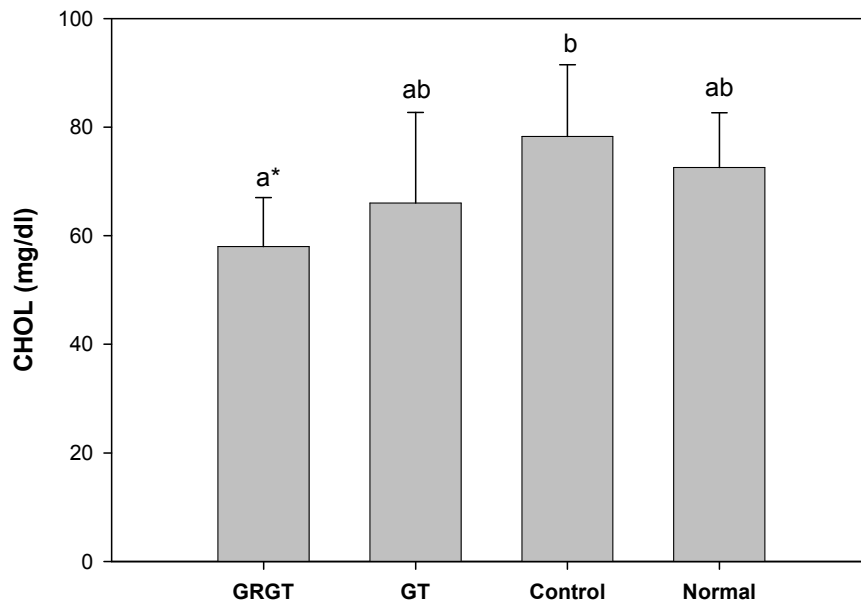


Fig. 4–7. Total cholesterol concentrations in plasma of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

* Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

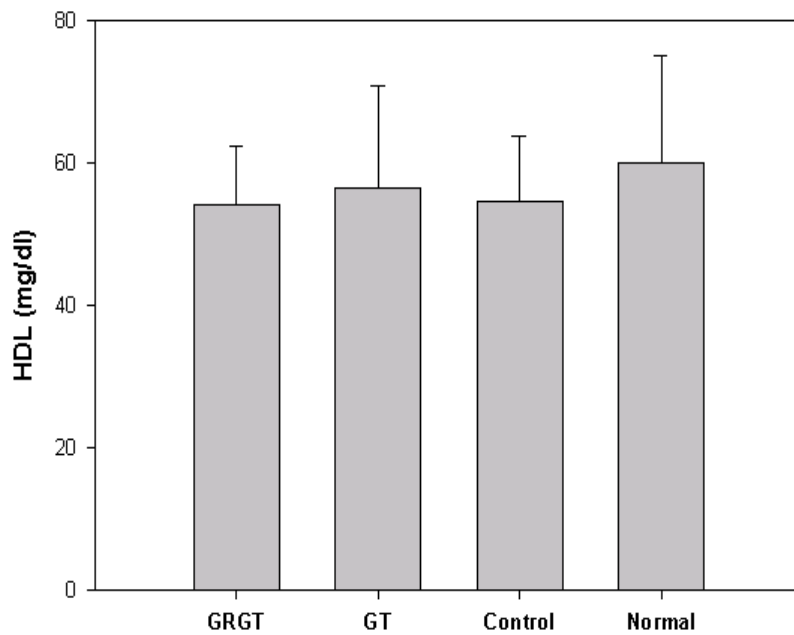


Fig. 4–8. HDL concentrations in plasma of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

* Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

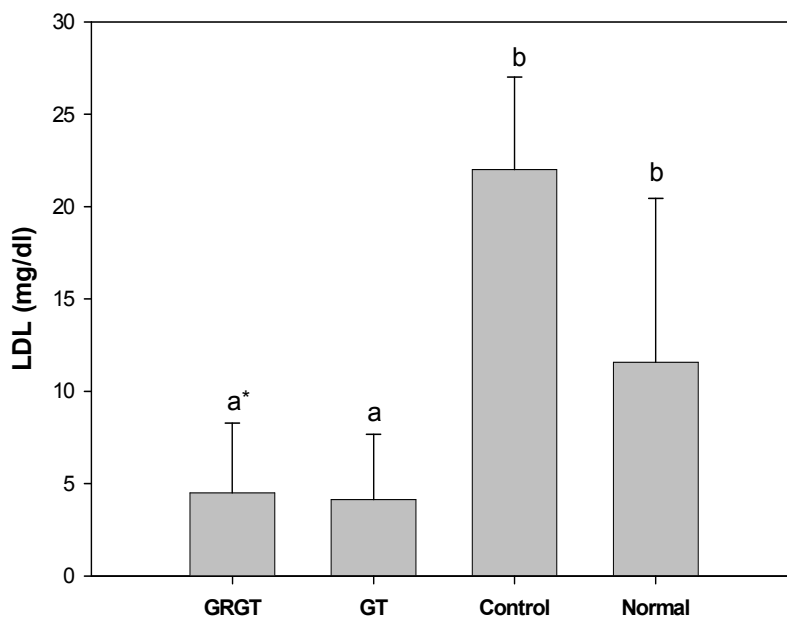


Fig. 4–9. LDL concentrations in plasma of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

*Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

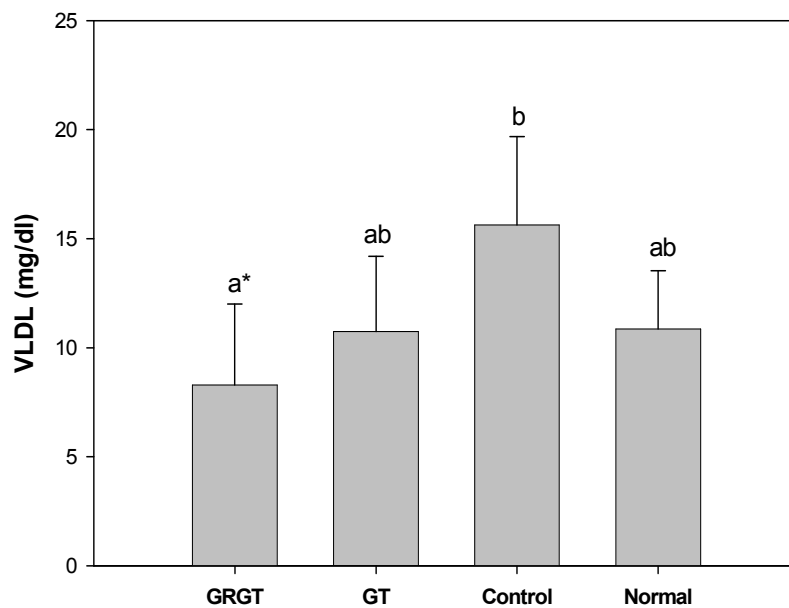


Fig. 4-10. VLDL concentrations in plasma of rats fed experimental diets and administered with water extracts of GABA tea and green tea for 4 weeks.

GRGT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of GABA-rich green tea every day,

GT: A rat group fed high fat diet and administered with water extracts of green tea every day,

Control: A rat group fed high fat diet,

Normal: A rat group fed normal diet Values are expressed as mean±SD (n= 8).

* Different letters above the bar indicate significant difference among experimental groups at $p < 0.05$ by Scheffe's test.

4. 요약

본 장에서는 흰쥐에서 가바녹차 추출물의 항 비만효과 알아보기 위하여 시행되었다. 정상쥐와 Diet-induced obesity(DIO)쥐를 대상으로 하여 실험군은 가바녹차 동결건조추출물을 1일 0.3g/kg 용량으로 총 4주 동안 음용하도록 하였다. 그 결과 체중증가량의 경우 가바녹차군(GRGT)과 정상군(Normal)의 체중이 대조군(control)에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 사육 4주 후 측정된 혈중 triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol 수준 또한 가바녹차군이 대조군에 비해 47%, 26%, 79%, 47% 각각 감소함을 보여 가바녹차가 혈중 지질수준을 낮추는 효과가 있음을 알 수 있었다. 실험 종료일에 측정된 복부 지방의 무게 또한 대조군의 45%로써 유의적으로 낮은 수치를 보여 가바 녹차가 복부지방의 감량효과가 있음이 나타났다.

제 5 장 혐기 처리에 의해 제조된 가바녹차의 기능 성분 증대 및 생리활성

제 1 절 서 론

혐기처리에 의해 제조된 가바녹차가 고지방식이 동물실험에서 대조군에 비해 월등히 높은 항비만 효과가 있음을 확인하였다. 좀 더 자세하게 설명하자면, 정상쥐와 6주 동안 고지방식으로 비만을 유도한 쥐를 대상으로 가바녹차 열수추출물을 1일 0.3g/kg 용량으로 총 4주 동안 경구 투여를 행한 결과 가바녹차군(GRGT)의 체중이 대조군(control)에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 혈중 triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol 농도 또한 가바녹차군이 대조군에 비해 크게 감소함을 보여 가바녹차가 혈중 지질수준을 낮추는 효과가 있음을 알 수 있었다. 실험 종료일에 측정된 복부 지방의 무게 또한 대조군의 45%로써 유의적으로 낮은 수치를 보여 가바녹차가 복부지방의 감량효과를 나타냈다.

녹차는 항산화, 항암, 혈중지질억제작용, 혈당상승억제, 항알러지, 항비만 등의 다양한 생리활성을 갖는다고 알려져 있으며, 차의 주성분인 catechin이 주로 이들 생리활성에 기여한다고 증명된 바 있다. 차의 대표적인 5종의 catechin은 catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), 그리고 epicatechin gallate (ECG)으로 알려져 있다(Fig. 5-1). 가바녹차와 일반녹차에 함유된 총페놀성 및 카테킨 함량을 조사하고자 하였으며 DPPH 자유 라디칼 소거 검정법에 의한 항산화 활성 및 lipase 저해 검정법에 의한 비만억제 효과를 측정하여 비교하고자 하였다.

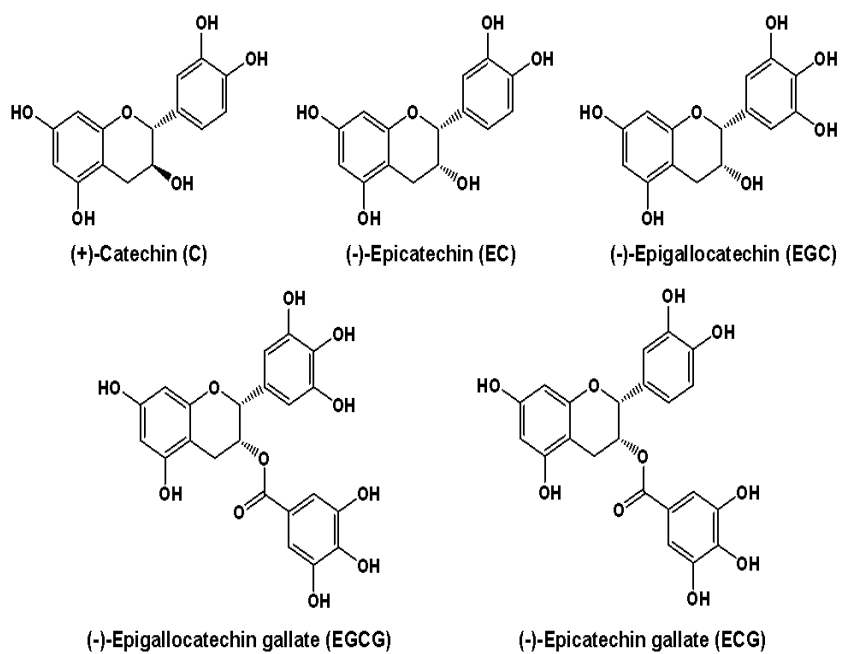


Fig. 5-1. The structures of catechins

제 2 절 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 가바녹차와 일반녹차는 제 1장에서 언급한 것과 동일한 시료를 사용하였다.

2. 시약

실험에 사용된 Folin ciocalteu's phenol reagent, catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG), *Pseudomonas fluorescens* 유래의 GABASE, porcine pancreas 유래의 type VI-S lipase 등은 Sigma사에서 구입하였고, 기타 시약은 분석용 특급제품을 사용하였다.

3. 기능성 성분 분석 방법

가. 총 페놀성 화합물 함량의 측정

총 페놀성 화합물의 함량은 Yildirm 등의 방법에 의해 측정되었다. 즉, 시료 5 g에 증류수 100 mL를 가하여 30분동안 열수 추출한 후 Whatman No 2 여과지로 여과하여 여액을 얻었다. 얻어진 여액 2 mL에 2 N Folin ciocalteu's 용액 2 mL를 가하여 20분간 상온에서 반응시킨 다음 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약인 gallic acid를 이용하여 작성한 검량 곡선에 의해 시료의 총 페놀성 화합물의 함량을 정량하였다.

나. HPLC에 의한 catechin의 분석

녹차의 catechin류 함량에 대한 분석은 HPLC를 이용하였으며, 분석 조건은 Table 5-1과 같다. 즉, CH₃CN/EtOAc/0.05% H₃PO₄의 이동상 용매계로 Waters Atlantis column (4.6*250 mm, ODS, 5 μm, Waters, USA)을 사용하였으며, 1.0 mL/min (Model 515 HPLC pump, Waters, USA)의 유속으로, 280 nm의 검출과장(Model 486 tunable absorbance Detector, Waters, USA)에서 검출하였다. 각 성분들의 정성분석은 표준물질의 retention time(*t_R*)과의 비교하여 동정을 행하였으며, 정량분석은 표준물질의 검량곡선을 작성하여 행하였다.

녹차 5 g에 증류수 100 mL를 가하여 5 분간 열수로 추출한 다음 Whatman No. 1 여과지로 여과하여 여액을 얻었다. 얻어진 여액을 클로로포름으로 분배한 다음 수용액에 에칠아세테이트로 3회 분배·추출하였다(Fig. 5-2). 이 에칠아세테이트 용액을 감압농축하여 얻어진 조카테킨 추출물을 HPLC 분석 시료로 사용하였다.

Table 5-1. HPLC conditions for analysis of catechins in green tea

(A) Operation condition

Instrument	Water 510
Detector	Waters 86 tunable absorbance Detector
Wave length	280 nm
Mobile phase	Solvent A: CH ₃ CN/EtOAc/0.05% H ₃ PO ₄ = 6:2:86 (v/v) Solvent B : CH ₃ CN/EtOAc/0.05% H ₃ PO ₄ = 44:1:43 (v/v)
Column	Waters Atlantis column (4.6×250 mm, ODS, 5 μm, Waters, USA)
Flow rate	1.0 mL/min

(B) Mobile phase

Time (min)	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Gradient curve
0	100	0	6
10	100	0	6
12	80	20	6
20	80	20	6
25	0	100	6
30	0	100	6
31	100	0	1

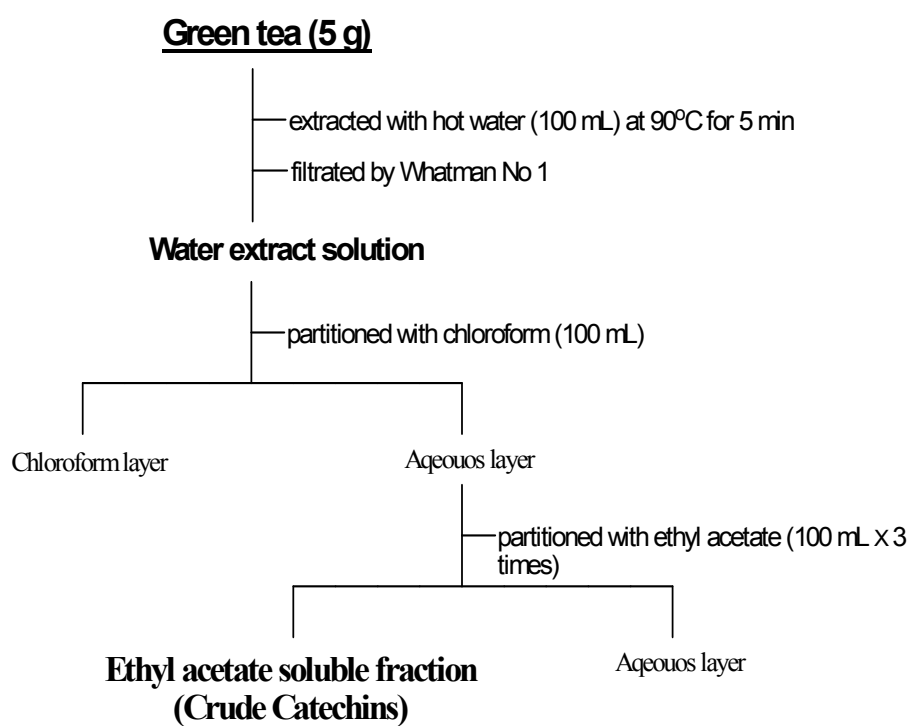


Fig. 5-2. Extraction procedure of crude catechins from green tea

4. 생리활성 측정 방법

1) DPPH radical 소거에 대한 항산화 활성 측정

녹차 추출물의 항산화 활성은 DPPH free-radical scavenging 방법에 의해 측정되었다. 시료 2 g에 80% 메탄올 20 ml를 첨가하여 실온에서 12시간동안 진탕추출한 후 8,000 rpm에서 40분동안 원심분리하여 상층액을 얻었다. 얻어진 상등액 100 ml에 Tris-HCl buffer (pH 7.4)의 400 ml과 300 mM DPPH 용액의 500 ml를 가하여 vortex mixer로 혼합한 다음 암소에서 20분 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교구로 수용성 항산화제인 trolox를 사용하였다.

2) Lipase inhibitory activity 측정

시료 5 g에 증류수 100 mL로 90°C, 5분간 열수추출하여 얻어진 추출용액을 제조하였다. 시료중량의 0.67 mg에 해당하는 추출용액 (100 µL)에 lipase 효소 용액(lipase 10,000 unit/mL, 10 mM MOPS & 1 mM EDTA, pH 6.8)의 30 µL와 반응용액 (100 mM Tris-HCl/5 mM CaCl₂, pH 7.0) 850 µL를 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시켰다. 이 용액에 *p*-nitrophenyl butyrate (10 mM, dimethyl formide) 20 µL를 가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 400 nm에서 흡광도를 측정하였다(25).

제 3 절 결과 및 고찰

1. 가바녹차의 기능성 성분

가. 가바녹차의 총 페놀성 화합물 함량

가바녹차 및 일반녹차의 열수추출물에 함유된 총 페놀성 화합물의 함량은 Folin ciocalteu's 용액을 이용한 흡광도에 의해 측정되었다. 가바녹차 및 일반녹차 열수추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 약 80.1 mg/g으로 나타나 두 시료간에는 거의 차이가 없었다(Fig. 5-3). 이는 혐기적 처리에 따른 총 페놀성 화합물 함량 변화가 거의 없음을 알 수 있었다.

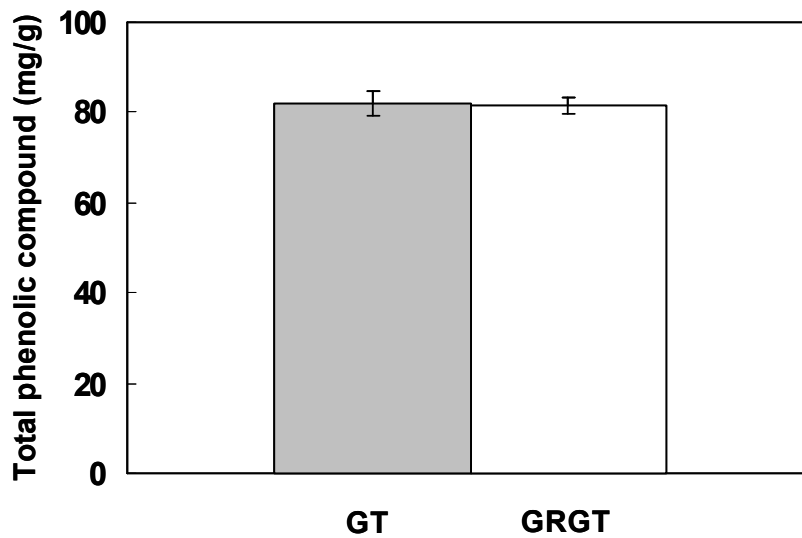


Fig. 5-3. Total phenolic compound contents of GT and GRGT.

나. HPLC에 의한 catechin의 분석

녹차의 주요 성분인 catechin류는 항암, 항산화, 항당뇨, 항염증 등의 다양한 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있다. 특히 선행된 항비만 동물실험에서 가바녹차(GRGT)가 일반녹차(GT)에 비해 항비만 및 콜레스테롤 함량 저하 효과가 더 우수한 것으로 나타나 이는 catechin 함량의 차이에 기인한 것으로 예상되었다. 이에 일반녹차와 험기처리 녹차를 대상으로 ODS-HPLC에 의해 개별 catechin의 함량을 조사하였다. 가바녹차 및 일반녹차 열수추출물의 HPLC 크로마토그래피에서는 주요 5종의 catechin 성분인 catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), 그리고 epicatechin gallate (ECG)가 검출되었으며, 이들은 표준물질의 retention time(t_R)과의 비교를 통하여 동정되었다.

또한 표준물질의 검량곡선에 의해 가바녹차 및 일반녹차에 함유된 5종의 카테킨 성분을 정량하였다. 가바녹차의 총 카테킨 함량은 20.76%으로 나타나 일반녹차(14.83%)에 비해 약 5.8% 정도의 높은 함량을 보였다. 이들 녹차에 함유된 개별 카테킨 함량은 C < EG < ECG < EGC < EGCG 순으로 높게 나타났다. 가바 녹차는 EGC와 EG를 제외한 C, ECG, EGCG의 함량이 일반 녹차보다 높게 증가하였다. 특히 녹차에 함유된 개별 카테킨 중 가장 높은 함량을 갖는 것으로 알려진 EGCG의 경우 가바녹차(11.58%)가 일반녹차(7.35%)보다 약 4.25%의 높은 함량 차이를 보였으며, 가장 낮은 함량을 갖는 catechin (C)의 경우 가바녹차는 0.49%으로 일반녹차(0.26%)에 비해 약 1.8%의 높은 증가율을 나타냈다.

이상의 연구결과로부터 험기처리에 의해 제조된 가바녹차는 일반녹차에 비해 카테킨 함량이 높았음을 알 수 있었다. 이는 가바녹차와 같이 험기처리가 카테킨 생합성관련 유전자의 발현량을 증가시켜 카테킨의 함량이 증가한 것으로 시사되었다. 추후 험기 처리 시간에 따른 카테킨 함량의 변화 및 이들 생성 기작에 관한 연구는 매우 흥미로운 것으로 기대된다.

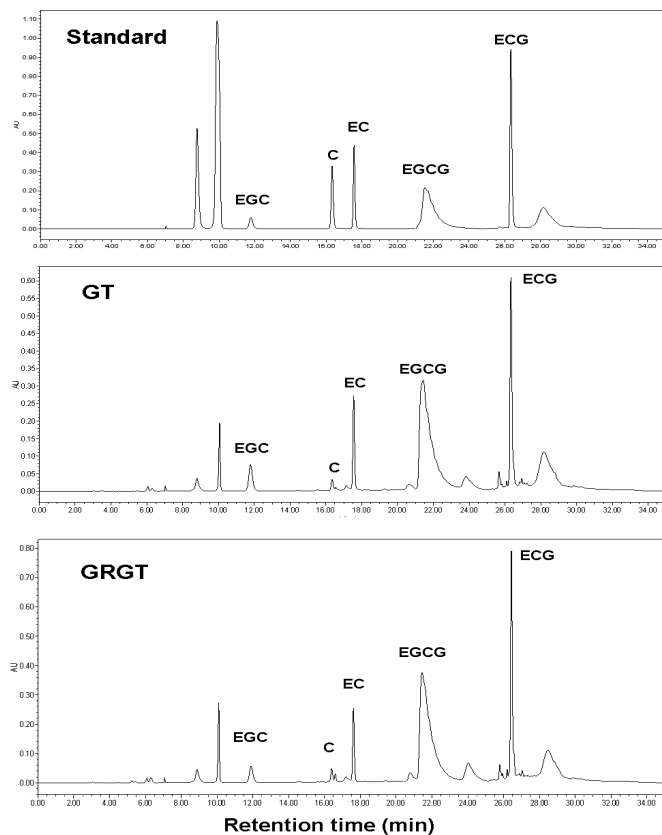


Fig. 5-4. HPLC Chromatograms of catechin in GT and GRGT.

Column: Waters Atlantis (4.6250 mm, ODS, 5 m, Waters)

Wavelength: 280 nm

Flow rate: 1.0 mL/min

Mobile phase: gradient system

A solvent, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{EtOAc}/0.05\% \text{H}_3\text{PO}_4 = 6:2:86(\text{v/v})$

B solvent, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{EtOAc}/0.05\% \text{H}_3\text{PO}_4 = 44:1:43(\text{v/v})$

catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG)

Table 5-2. Catechin contents of GRGT and GT

Compounds	Sample (%)	
	GRGT	GT
EGC	3.76±0.98	3.75±0.34
C	0.49±0.06	0.26±0.07
EC	2.04±0.18	1.73±0.46
EGCG	11.58±1.56	7.35±2.21
ECG	2.89±0.41	1.74±0.52

Data is presented as Mean±SD (n=5).

Catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG)

2. 생리활성

가. DPPH radical 소거에 대한 항산화 활성

일반녹차와 가바녹차를 대상으로 DPPH free-radical scavenging 방법에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 시료 0.45 g 상당량의 동일 농도로 열수추출물에 대한 DPPH radical-scavenging 소거 활성을 조사한 결과, 가바녹차는 70.6%로 일반녹차(58.8%)에 비해 약간 높은 활성을 보였으나 큰 차이는 없었다.

나. Lipase 저해에 의한 항비만 억제 효과

중성지방은 소장에서 lipase 작용에 의해 지방산과 모노아실글리세롤로 분해되어 체내로 흡수, 축적되는 것으로 알려져 있다. Lipase 저해 활성을 갖는 식품 섭취는 비만 억제 효과가 기대되어 일반녹차와 가바녹차를 열수로 추출하여 얻어진 추출물을 대상으로 lipase 저해 활성을 비교하였다. 시료 0.67 g

상당량의 동일 농도로 열수추출물에 대한 lipase 저해 활성을 조사한 결과, 일반녹차는 29.59%의 저해 활성을 보인 반면 가바녹차는 12.92%로 일반 녹차에 비해 2.2배 높은 활성을 나타냈다. 이 결과는 가바녹차가 일반녹차에 비해 항비만 효과가 높았던 동물실험의 결과와 일치하였다.

녹차의 lipase 저해 활성은 카테킨에 기인한 것으로 보고된 바 있다. 특히 galloyl기를 갖는 epigallocatechin gallate (EGCG)는 catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC)에 비해 높은 활성을 보였다고 보고하였다. 따라서 일반녹차에 비해 총 카테킨 함량이 높았던 가바녹차가 높은 lipase 저해 활성을 보였던 것으로 시사되었다.

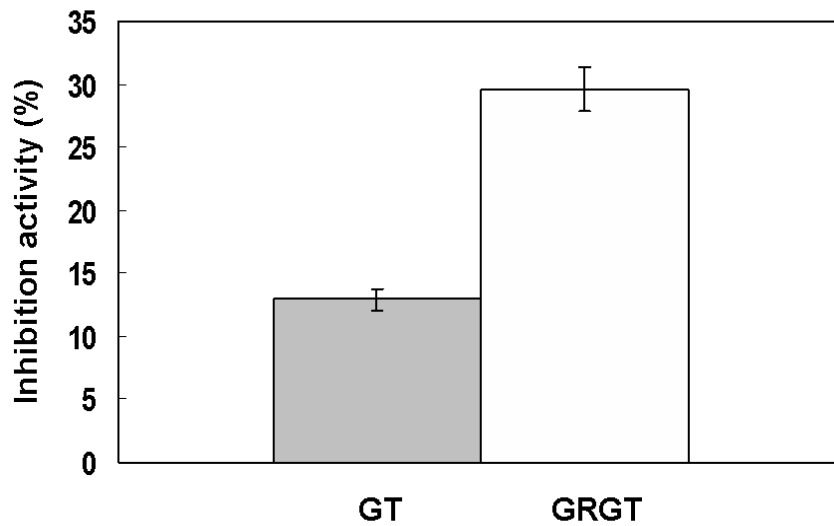


Fig. 5-5. Lipase Inhibition activities of GRGT and GT

3. 요 약

녹차는 항당뇨, 면역증강, 노화억제 등의 다양한 생리활성을 가진 기호식품으로 그 제법에 따라 활성 정도에 큰 차이를 나타낸다. 혐기적 처리를 통하여 제조한 녹차(혐기처리 녹차, GRGT)는 신경세포 조절기능을 갖는 GABA 함량이 증가되고, 혈압상승억제 등의 약리 효과가 있다고 보고된 바 있다. 선행된 동물실험에서 혐기처리 가바녹차가 일반녹차(GT)에 비해 항비만 및 콜레스테롤 함량 저하 효과가 뛰어난 것을 밝혀, 본 연구에서는 혐기처리 녹차에 대한 유용성분 함량 및 lipase 저해 등의 생리활성을 조사하였다. 혐기처리 녹차의 총 페놀성 화합물 함량은 약 84 mg/g으로 일반녹차와 차이는 거의 없었다. 그러나 5종의 카테킨을 HPLC에 의해 정량 분석한 결과, 혐기처리 녹차에서는 EGC를 제외한 C, EC, EGCG, 그리고 ECG 등의 함량이 일반녹차보다 높게 나타났으며, 이 중 C과 EGCG의 함량은 일반 녹차에 비해 약 1.6배 이상의 큰 함량 차이를 보였다. 혐기적 처리 녹차는 일반 녹차보다 체내 지방 흡수에 관련된 lipase 억제 효과도 뛰어났다. 따라서, 가바녹차의 제조과정 중 혐기처리는 카테킨 함량 및 lipase 억제 효과 증진에 영향을 주는 것으로 시사된다.

제 6 장 성인남자에서 가바녹차 섭취가 비만 억제 및 콜레스테롤 감소 효과

제 1 절 서 론

제1장과 제2장에서 언급하였던 것과 같이 동물실험에서 혐기처리 가바녹차가 일반녹차에 비해 항비만 및 콜레스테롤 함량 저하 효과가 있음을 밝혔다. 또한 EGC를 제외한 C, EC, EGCG, 그리고 ECG 등의 카테킨 성분 함량이 일반녹차보다 높고 체내 지방 흡수에 관련된 lipase 억제 효과도 우수함을 밝혔다. 따라서, 혐기 처리하여 제조한 가바녹차는 카테킨 함량 및 lipase 억제 효과 증진에 영향을 주는 것으로 시사된다. 이상의 연구결과로부터 불규칙한 생활습관으로 인해 과체중인 성인남자에게 가바녹차를 섭취할 경우 비만 억제 및 콜레스테롤 감소에 어떻게 미치는지 알아보려고 하였다.

따라서, 본 장에서는 혐기 처리하여 제조한 가바녹차가 과체중인 40~50대 남성을 대상으로 항비만 및 혈중 지질의 수준에 미치는 영향을 조사하였다.

제 2 절 실험재료 및 방법

1. 시 료

본 실험에 사용한 시료는 제 1장에서 언급한 바와 같이 동일한 가바녹차와 일반녹차를 이용하여 캔음료를 제조하였다. 제조된 이들 녹차음료는 녹차 추출물 이외의 어떤 성분도 첨가하지 않았으며 냉장 보관하여 사용하였다

2. 녹차 캔음료의 제조 방법

녹차 캔음료는 현대영농조합의 음료생산 공장에서 제조되었다. 즉, 일반 녹차와 가바녹차 각각 1.5 kg에 증류수 150 L를 가하여 10분 동안 90℃로 가열추출한 후 얻어진 여액을 캔(180 mL)에 주입하여 캔음료를 제조하였다.

3. 녹차 캔음료의 catechin 함량 측정 방법

일반녹차음료와 가바녹차음료의 catechin 함량은 제5장(제2절. 3. 기능성 성분 분석 방법)에서 언급한 추출 방법 및 동일한 HPLC 분석에 의해 측정되었다.

4. 임상실험

가. 연구대상 및 건강상태 및 생활습관조사

연구대상자는 본교 40~50대 남성을 대상으로 일반사항, 연령, 교육수준, 연령, 수입, 자신의 건강상태, 생활습관 등의 설문 조사를 한 다음 과거 질병력이 없고 비만 혹은 과체중인 사람을 실험대상으로 하였다.

나. 실험방법

선발된 임상실험대상자는 가바녹차음료군(group GRGT)과 일반녹차음료군(Group GT)으로 각각 7명씩 나누어 녹차음료를 1일 3캔 (180 mL/1캔, 총 560 mL, 5.6 g 녹차 상당량)으로 일정한 시간에 4주 동안 마시도록 하였다. 실험대상자는 실험기간동안 평상시와 동일한 식사를 하도록 하였으나 시료 녹차 외의 녹차를 금하도록 하였으며 기타 차 혹은 포도주 등의 음용을 가급적 마시지 않도록 하였다. 신체검사는 조사 전날 저녁식사 후 물 이외의 섭취를 금하였으며 검사당일 공복상태에서 조사하였다.

실험기간동안의 신체검사는 각각 2주 1회씩 일정시간에 측정하였다.

다. 신체계측

체성분 분석장비인 Inbody 3.0 (Bioimpedence method, Biospace, Korea)을 이용하여 체중(Body weight), 근육량(Sofe lean mass), 체지방량(Fat mass), 체지방율(Percentage of body mass), 복부지방률(Abdominal fat distribution), 허리-엉덩이 둘레비(Waist-hip ratio: WHR), 상대체중(Relative body weight: RAW%), 체질량지수(Body mass index: BMI kg/m²) 등을 측정하였다. 체성분 측정은 공복상태로 대, 소변을 본 후 오전에 실시하였다. 신체계측과 채혈은 0주, 2주 및 4주에 1회씩 일정시간에 측정하였다. 표준체중(Ideal or desirable body weight: IBW)은 신장을 이용하여 표준체중을 구하는 Broca변법에 의해 계산한 후 표준체중 백분율로 평가하였다. 체질량지수(BMI)는 체중(kg)을 신장(m)의 제곱으로 나눈 값으로 체지방량과 밀접한 관련이 있어 비만도와 건강위험도를 평가하였다.

라. 혈액검사

각 실험대상자의 채취한 혈액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 혈장을 분석 시료로 사용하였다. 분리한 혈장의 총 cholesterol(CHOL), triglyceride (TG), 그리고 HDL cholesterol (HDL-C)의 함량은 혈액분석기 (VITROS DT60 II system, Johnson & Johnson company, USA)를 이용한 enzymatic method에 의해 측정하였다. 또한 LDL cholesterol (LDL-C) 함량은 Friedwald의 방식에 따라 {총콜레스테롤-(HDL-cholesterol + Triglyceride/5)}의 공식으로 (Friedwald 등 1972)구하였다. 임상진단에서 순환계와 관련한 진단 지수인 동맥경화지수(Atherogenic index)와 심장위험지수(Cardiac risk factor, C.R.F)는 변인 산출방법(Haglund 등 1991; Rosenfeld 등 1989)은 다음과 같다.

$$\text{Atherogenic index} = [\{ (\text{total cholesterol}) - (\text{HDL-cholesterol}) \} / \text{HDL-cholesterol}]$$

마. 통계처리

본 조사의 자료는 SPSS (Statistical package for social sciences) 12.0 package program을 이용하여 평균과 표준편차를 분석하였다. 4주간 체중 변화는 반복측정 분산분석에 의해서, 혈액 sample과 복부지방량은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA) 후 독립변수 T-test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 실험군 간의 유의적 차이를 검증하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 녹차캔음료에 함유된 catechin 함량

임상실험에 사용하기 위해 제조된 가바녹차 및 일반녹차의 캔음료에 함유된 catechin 함량을 ODS-HPLC에 의해 분석한 결과, HPLC 크로마토그래피에서는 주요 5종의 catechin 성분인 catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG)가 검출되었으며, 앞서 5장에서 언급한 가바녹차 및 일반녹차 열수추출물의 카테킨 분석 결과와 유사하였다. 또한 이 크로마토그래피상에서 retention time 24.5분에 새로운 미지 peak가 관찰하였으며, 이는 녹차 캔 음료제조 과정 중에 새롭게 생성된 것으로 생각된다.

또한, 가바녹차음료(GRGT) 및 일반녹차음료(GT)에 함유된 5종의 카테킨 성분을 정량하였다. 가바녹차음료의 총 카테킨 함량은 100 mL당 219.2 mg으로 측정되었으나 일반녹차음료는 100 mL당 199.6 mg으로 약 19.6 mg 정도의 높은 함량을 보였다. 이들 녹차음료에 함유된 개별 카테킨 함량은 $C < EG < ECG < EGC < EGCG$ 순으로 높게 나타나 앞서 분석한 결과와 유사한 경향을 보였으나 EGC와 C의 함량은 5장에서 언급한 함량보다 더 증가하였다. 이는 대량 추출 제조과정 중에 EGC와 C가 더 용출된 것으로 생각된다. 가바 녹차음료에 함유된 C, ECG, EGCG의 함량이 일반녹차보다 높게 나타남은 5장에서 언급한 결과와 일치하였다.

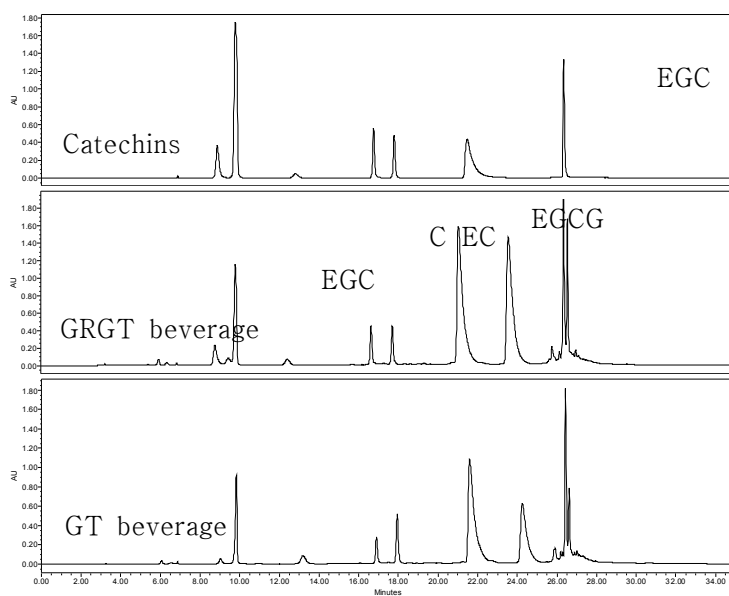


Fig. 6-1. HPLC Chromatograms of catechins in beverages of GT and GRGT.

Column: Waters Atlantis (4.6250 mm, ODS, 5 m, Waters)

Wavelength: 280 nm

Flow rate: 1.0 mL/min

Mobile phase: gradient system

A solvent, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{EtOAc}/0.05\% \text{H}_3\text{PO}_4 = 6:2:86(\text{v/v})$

B solvent, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{EtOAc}/0.05\% \text{H}_3\text{PO}_4 = 44:1:43(\text{v/v})$

catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG)

Table 6-1. Catechin contents in the beverages of GRGT and GT

Compounds	Sample (mg%)	
	GRGT	GT
EGC	31.0±1.7	39.0±5.0
C	19.9±6.9	11.4±1.2
EC	21.3±3.5	24.9±12.1
EGCG	114.0±3.5	95.7±7.4
ECG	33.0±1.5	28.6±2.5

Data is presented as Mean±SD (n=3).

Catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin gallate (ECG)

2. 임상실험결과(Intervention studies)

가. 일반사항

조사대상자의 신체적 특성은 Table 6-2에 나타내었다. 조사 대상자의 평균 연령은 대조군(Group GT)이 51.1±9.6세, 실험군(Group GRGT)의 나이는 48.3±8.0세였다. 대조군(Group GT)의 신장과 체중은 174.0 cm, 75.3 kg, 실험군(Group GRGT)의 신장과 체중은 173.3 cm, 70.9 kg으로 두군 간에 비교하였을 때 신장과 체중은 유의적이 차이가 없었다(Table 5). 우선 비만의 정도는 신장으로 표준체중을 구한 후 백분율로 평가하였다. 표준체중 백분율(%)은 대조군(Group GT)이 117.4±17.1%, 실험군 (Group GRGT)의 나이는 114.7±10.8 이었다. 두 집단 모두 111-120 %의 사이의 값으로 과체중에 속하였으나, 집단 간의 유의적인 차이는 없었다.

체질량지수(BMI)는 체중(kg)을 신장 (m)의 제곱으로 나눈 값으로 체지방량과 밀접한 관련이 있어 비만도와 건강위험도를 평가하는데 사용하였다. 대조군(Group O)과 실험군(Group G)의 체질량지수는 각각 25.6±3.7, 24.9±2.1을 나타내었다. 신체질량지수{Body mass index: BMI(kg/m²)}가 건강에 미치는

영향은 민족에 따라 다르게 나타나며, 아시아인일 경우 약간의 BMI 상승도 관련된 질병에 미치는 효과가 서양인에 비하여 크다고 보고하였다(Banerji 등 1999). 이는 세계보건기구(WHO) '아시아 성인에서 체질량지수에 의한 체중평가'에 기준치 중 1 단계 비만(25.0 < BMI < 29.9)에 속하였으나 두 집단과의 유의적인 차이는 없었다. 신장과 체중을 이용한 비만판정방법에서 조사대상자들은 과체중과 1단계 비만에 속함을 알 수 있었다.

나이가 많을수록 규칙적인 아침식사를 하는 경향을 보였고, 나이에 따라 증가하는 부종지수도 증가하는 경향을 보였다($P < 0.01$). 평균적으로 부종지수는 나이가 증가할수록 증가하는 지수로 알려져 있는 것과 일치한 결과이다.

가족수가 증가할수록 카페인 함유 차 섭취빈도는 감소하였으나, 내장지방 면적과 복부 지방율은 증가하는 것으로 나타났다($P < 0.05$). 카페인의 효능측면에서는 중추신경계를 자극하며 정신을 맑게 하는 각성효과, 소화기관 위산 분비 촉진, 신장에서 이뇨작용 촉진한다(Tonychou 등 1992; Regestein 등 1981; Goldsteine 등 1965). 카페인의 과다섭취는 심장질환을 유발하고 무기질의 지나친 체외배설을 야기한다는 보도도 있다(Fenster 등 1991; Lecos 등 1987). 카페인 함유음료섭취가 하루에 4잔 이상 먹는 경우가 64.3%이었으나 무기질 함량과는 음의 상관관계를 나타내었다. 이는 가족수가 증가할수록 다른 식품의 형태로 무기질의 함량이 증가함으로 이를 보충하는 것으로 사료된다.

Table 6-2. General characteristics of the subjects

	Group GT (n=7)	Group GRGT (n=7)
Age(yr)	51.1±9.6 ^{1),2)}	48.3±8.0
Weight(kg)	75.3±12.5	70.9±4.1
Hight(cm)	174.0±3.9	173.3±6.3
RBW(kg) ³⁾	64.0±4.3	63.3±6.2
RBW % ⁴⁾	117.4±17.1	114.7±10.8
BMI (kg/m ²) ⁵⁾	25.6±3.7	24.9±2.1

1) Mean±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

3) RBW(kg) : IBW(kg) = (Hight-100)×0.9

4) RBW(%) : Relactive body weight =(body weight/ideal body weight)×100

5) BMI: Body mass index(kg/m2)

나. 건강상태 및 생활습관

성장이 멈춘 후에 의도하지 않았는데 체중이 5kg 이상 증가하였을 경우는 신체활동이나 식사섭취의 조정이 요하나 조사대상자 대부분 현저한 체중감소는 나타나지 않았다(Table 6-3). 운동의 규칙성은 가바녹차음용군(group GRGT)과 일반녹차음용군(group GT)과 차이는 없었다.

흡연자는 연구대상자의 57.1%이었고 가바녹차음용군(group GRGT)과 일반녹차음용군(group GT)간의 차이는 없었다. 2001년 국민영양조사결과 중년 남자의 흡연율은 61.2%로 본 연구대상자의 흡연율은 낮았다(Table 7). 조사대상자의 중 57.1%가 흡연자이었고, 흡연을 시작한 나이가 어릴수록 일흡연량이 많았고, 운동량이 적은 경향을 보였다(P<0.01). 일흡연량에 미치는 변수는 스트레스, 우울, 건강상태, 자아 존중감, 불안 등으로 보고하였다(Sok 등 2007). 흡연량이 많은 사람일수록 그 가족의 병력이 높은 것으로 나타났다(P<0.01). 흡연자가 비흡연자보다 WHR가 크고 흡연량이 많을수록 허리둘레가 증가하는 양의 상관관계를 보이는 것으로 보고되어 있다. 그러나 본연구대상자

들에서는 이러한 차이를 흡연자와 비흡연자사이에 차이를 볼 수 없었다.

조사대상자의 100% 음주를 하였다. 2001년 국민건강영양조사결과 한국인 중년 남성 음주율 69.96%보다 높게 나타났다. 하지만 2001년 국민건강영양조사 음주율은 직업에 따라 차이가 있어 전문 행정관리직의 음주율은 86.28%로 전문교육직인 조사대상자보다 낮게 나타났다. 비만은 음주율과 음주빈도와 밀접한 관계가 있다고 보고되었다(Lee 등 2004). 본 조사대상자들의 대부분이 비만 및 과체중군으로 음주와 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

음주횟수가 많은 사람일수록 아침을 거르고 부종지수가 높은 경향을 보였다 ($P<0.001$). 최근 체중이 증가한 사람은 심혈관계 질환에 대한 두려움을 갖고 있는 것으로 나타났다($P<0.01$). 이와 같이 자신의 건강 상태에 대해 부정적으로 인식하고 있는 사람일수록 대변 횟수가 감소하는 경향을 나타냈다($P<0.01$).

치아가 자연치를 가진 사람은 의치를 가진 사람보다 아침식사를 규칙적으로 하는 것으로 나타났다($P<0.01$). 의치를 가지고 있는 사람일수록 최근 체중이 증가하고 있는 경향을 보였다($P<0.05$). 이는 의치를 가지는 경우, 식사속도가 증가하고 미각에 대한 감각이 저하함으로 체중을 증가하는 경향을 보이는 것과 일치한 결과이다.

Table 6-3. The habits of exercise, drinking and smoking in the subjects.

	N(%)	
	Group GT	Group GRGT
Frequency of exercise per week		
More than 5 days	1(14.3) ¹⁾²⁾	0(0)
More than 3 days	2(28.6)	2(28.6)
1-2 days	3(42.9)	1(14.3)
Less than 1 day	1(14.3)	4(57.1)
Smoking		
Smoker	4(57.1)	4(57.1)
Nonsmoker	3(42.9)	3(42.9)
Smoking amount(pack/day)		
Less than 1/4pack	0(0)	1(14.3)
More than 1/4 pack-less than 1 pack	2(18.6)	1(14.3)
More than 1pack	2(28.6)	2(28.6)
Drinking		
Yes	7(100)	7(100)
No	0(0)	0(0)
Frequency of drinking		
No	1(14.3)	0(0)
Less than 1 time/week	1(14.3)	1(14.3)
2-4 times/week	4(57.1)	5(71.4)
More than 2-4 times/week	1(14.3)	1(14.3)

1) Mean±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

다. 복부비만측정결과

허리 및 엉덩이 둘레의 비율(Waist-hip ratio : WHR)가 남자의 경우 0.9 이상이면 상체비만(upper body obesity) 혹은 복부비만으로 판정하는데, 대조군과 실험군은 각각 0.97, 0.95로 상체비만에 속하였다. 내장지방/피하지방의 비율이 0.4이상인 경우를 내장지방형 비만, 그 미만을 피하지방형으로 분류하는데 대조군(Group GT)과 실험군(Group GRGT)은 각각 0.185 ± 0.02 , 0.193 ± 0.03 으로 피하지방형 비만을 나타내었다(Table 6-4). 상체비만은 하체비만(lower body obesity)보다 당뇨병, 뇌졸중, 관상동맥질환 등의 만성질환의 이환율이 증가된다. 피하지방형은 성인병 유발 등 건강적인 측면과는 관계 적은 것으로 알려져 있으나 몸의 장기 사이사이에 쌓인 내장 지방형은 혈액 속으로 쉽게 흘러들어 혈중콜레스테롤 수치를 높임으로써 당뇨병, 고혈압, 고지혈증 등 각종 성인병에 걸릴 확률이 높은 것으로 알려져 있다.

실험기간 4주 동안 내장 지방량과 피하 지방량에 감소하는 경향을 보였으나 두 집단 간의 유의적 차이는 없었다(Table 6-4). 실험기간 4주 동안 녹차와 가바 강화 녹차를 임용한 실험대상자의 내장 지방량과 피하 지방량 감소효과 하여 복부비만율을 낮추었으나, 내장지방레벨을 감소하는 효과를 보였으나 ($p < 0.05$) 두 집단 간의 유의적인 차이는 없었다.

성인 남자의 경우, 내장 지방의 단면적이 100 cm^2 이상이면 내장비만으로 판정하는데 두 집단 모두가 내장비만형으로 판정되었다. 두 가지 비만판정 결과치가 차이는 생체전기저항분석법(BIA, Bioelectrical impedance analysis)으로 비만 판정하는 경우에는 체지방의 측정분포를 구체적으로 알 수 없기 때문이라고 사료된다.

Table 6-4. Fat composition in the subjects

Group(wk)	Group GT			Group GRGT		
	0 week	2 weeks	4 weeks	0 week	2 weeks	4 weeks
Visceral fat (kg)	3.48±1.70 ¹²⁾	3.37±1.64	3.37±1.64	3.00±0.70	2.93±0.56	2.93±0.62
Hypodermic fat (kg)	17.23±5.94	15.87±2.00	16.97±6.09	16.02±2.48	15.87±2.00	15.86±2.33
Visceral fat/ Hypodermic fat	0.185±0.02	0.183±0.03	0.138±0.01	0.193±0.03	0.189±0.03	0.189±0.03
Visceral fat level	14.0± 2.4	13.0± 2.5	13.0± 2.9	13.0± 1.4	13.0± 1.4	13.0± 1.4
Visceral fat area (VFA[cm ²])	150.0±46.7	147.0±46.3	144.0±44.9	135.0±19.5	133.0±18.4	117.0±22.4
waist/hip ratio (WHR)	0.97± 0.0	0.97± 0.1	0.96± 0.1	0.95± 0.0	0.95± 0.0	0.95± 0.0

1) Mean±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

라. 체성분분석결과

체지방율(Fat%)은 체지방량이 체중에 차지하는 비율을 말한다. 체지방율이 높은 사람일수록 혈압이 높고, 콜레스테롤 수치가 높은 경향을 보인다. 또, 체질량지수와 체중이 정상이라도 체지방율이 높으면 심혈관계질환 위험요인이 증가한다. 체지방율이 20-25이하는 과지방, 25-30는 비만, 30%이상은 고도비만으로 판단한다. 가바녹차음용군(Group GRGT)과 일반녹차음용군(Group GT)은 각각 26.8 ± 6.0 과 26.3 ± 3.0 으로 과지방에 속하였다(Table 6-5). 가바녹차음용군(Group GRGT)과 일반녹차음용군(Group GT) 두 집단 모두에서 체중감소효과를 나타내었다. 이런 체중 감소 효과는 체질량지수 및 체지방률이 높은 사람일수록 체중감소변화가 적은 경향을 보였다($P < 0.01$).

Table 6-5. Body composition in the subjects.

Group(wk)	Group GT			Group GRGT		
	(0)	(2)	(4)	(0)	(2)	(4)
weight (kg)	$72.1 \pm 5.2^{1),2)}$	72.1 ± 5.1	72.1 ± 5.4	75.2 ± 12.5	74.8 ± 12.0	75.1 ± 12.1
BMI (kg/m^2)	24.9 ± 2.1	24.6 ± 1.7	24.6 ± 1.7	25.6 ± 3.7	25.5 ± 3.6	25.6 ± 3.6
Fat(%)	26.3 ± 3.0	24.6 ± 4.8	25.9 ± 2.7	26.8 ± 6.0	26.5 ± 7.6	26.3 ± 6.6
Fat(kg)	19.0 ± 3.2	18.8 ± 2.6	18.8 ± 2.9	20.7 ± 7.6	20.4 ± 7.6	20.3 ± 7.7
Smooth muscle (kg)	49.0 ± 2.7	49.2 ± 3.2	49.2 ± 3.1	50.1 ± 4.6	50.1 ± 4.3	50.4 ± 4.3
Cell(kg)	35.8 ± 1.9	36.7 ± 2.3	36.0 ± 2.2	36.6 ± 3.5	36.6 ± 3.3	36.8 ± 3.2

1) Mean \pm SD

2) NS : Not significant at $p < 0.05$

3) BMI: Body mass index(kg/m^2)

마. 체성분분석 결과

신체를 구성하고 있는 성분 에 대한 결과로 일반적으로 건강한 사람은 일정한 비율을 유지하게 된다. 남자의 경우 수분55-65%, 체지방 15-20%, 무기질 5.8-6%, 단백질 16-18%의 경우 정상으로 간주하는데 모두 정상범위에 속하였다. 실험시작 2주후 부터 녹차섭취는 체질량지수(BMI)와 체지방량(fat%)가 증가할수록 부종지수가 증가하였다($p < 0.05$).

부종지수는 세포내외액을 비롯한 체수분균형을 평가함으로써 신체의 균형 상태를 파악할 수 있다 평균적으로 여성이 남성보다 높고 나이가 증가할수록 수치가 상승한다. 정상치는 0.30-0.36으로 가바녹차음용군(Group GRGT)과 일반녹차음용군(Group GT)은 모두 0.34 ± 0.0 으로 정상범위에 속하였다(Table 6-6). 카페인 음료 섭취가 많은 사람일수록 체내 무기질량이 높게 나타났다($P < 0.01$).

4주 동안 녹차음용 후 부종지수가 낮은 사람은 세포외액의 변화량, 근육량, 및 세포량이 증가하는 경향을 보였고 부종지수가 증가하는 경향을 보였다. ($p < 0.05$).

Table 6-6. Body composition analysis in the subjects.

Grup(wk)	Group GT			Group GRGT		
	0 week	2 weeks	4 weeks	0 week	2 weeks	4 weeks
weight(kg)	72.1±5.2 ^{1)NS2)}	72.1± 5.1	72.1±5.4	75.2±12.5	74.8±12.0	75.1±12.1
lean body masss(%)	73.7± 3.0	74.0± 2.5	74.1± 2.7	73.2± 6.0	73.5± 6.2	73.5± 6.6
Muscle mass(%)	59.0±23.1	68.2± 2.4	68.3± 2.7	67.4± 4.2	67.7± 6.1	68.0± 2.4
Body fluid(%)	53.1± 2.2	53.3± 1.8	53.3± 2.0	52.7± 4.3	52.9± 4.4	53.1± 4.7
ECF(kg) ³⁾	25.1± 1.4	25.2± 1.6	25.2± 1.6	25.2± 1.6	25.7± 2.5	25.8± 2.5
ICF(kg) ⁴⁾	13.1± 0.9	13.1± 1.0	13.2± 0.9	13.5± 1.1	13.5± 1.0	13.6± 1.1
edema Index	0.34± 0.0	0.34± 0.0	0.34± 0.0	0.34± 0.0	0.34± 0.0	0.35± 0.0
Mineral(%)	5.7± 0.1	5.7± 0.1	5.7± 0.1	5.7± 0.1	5.7± 0.1	5.7± 0.1
Protein(%)	14.9± 0.8	14.9± 0.7	15.0± 0.7	14.8± 1.6	14.9± 0.7	14.9± 1.8

1) Mean ±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

3) ECF : Extreccellular Fluid

4) ICF : Intracellular Fluid

바. 혈청지질과 혈압

심장질환의 질환의 위험요인으로 HDL-콜레스테롤에 대한 콜레스테롤의 비율(C.R.F: Total 콜레스테롤/HDL콜레스테롤)과 HDL콜레스테롤에 대한 LDL콜레스테롤의 비율(LDL-콜레스테롤/HDL콜레스테롤)이 이용되는데 Total-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤의 정상범위로 5.0이하를 권장하고 있다 (Lee 등 2004). 이 연구대상자의 혈중 지질농도와 동맥경화위험인자에 Table에 나타내었다. Total-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤비율은 3.14 ± 0.98 과 3.22 ± 1.79 으로 모두 정상의 범위에 속하였다(Table 6-7).

AIP(atherogenic index of plasma)은 관상동맥경화증의 위험인자인 성별, 나이, 고지질농도 및 당뇨병과 양의 상관관계가 있는 것으로 다양한 혈장 지단백질의 분포를 반영하는 지수이다(Ftrohlich 등 2003). AIP가 0.21이상인 경우 동맥경화증 위험증이 높다고 보고되었다(Dobiasova 등 2004). 실험군과 대조군의 AIP는 각각 0.48 ± 0.13 과 0.44 ± 0.28 으로 동맥경화 관련 질환의 위험률이 높은 것으로 나타났다(Table 6-7). 이러한 경향은 최근 체중이 증가하는 경향을 보이는 조사 대상자는 심혈관계 질환에 대한 두려움이 증가하는 경향을 나타내었다($p < 0.05$).

Table 6-7. Levels of plasma lipids in the control and experimental groups.

Group(wk)	Group GT			Group GRGT		
	0 week	2 weeks	4 weeks	0 week	2 weeks	4 weeks
Total-cholesterol(mg/dl)	135.14±38.15 ¹⁾²⁾	118.43±36.92	122.71±31.97	153.14±43.79	138.14±10.64	137.43±24.21
VLDL-cholesterol(mg/dl)	22.00±20.98	19.43±18.02	21.29±20.98	29.86±20.61	25.71±21.39	27.14±12.43
LDL-cholesterol(mg/dl)	69.46±24.57	45.77±22.64	31.20±28.11	65.66±48.11	45.82±23.50	59.11±38.65
HDL-cholesterol(mg/dl)	44.29±8.03	53.57±8.3	67.29±21.57	57.71±27.08	66.71±29.56	51.00±23.92
Triglyceride(mg/dl)	109.86±104.33	95.43±96.26	121.14±99.95	148.86±103.67	128.00±106.49	136.57±62.34
HTR ³⁾	0.35±0.10	0.49±0.16	0.58±0.23	0.44±0.28	0.48±0.20	0.38±0.16
AI ⁴⁾	2.14±0.98	1.24±0.69	0.97±0.72	2.22±1.79	1.47±1.16	2.09±1.23
T-Chol/HDL-Chol ratio ⁵⁾	3.14±0.98	2.24±0.69	1.97±0.73	3.22±1.79	2.47±1.17	3.10±1.23
AIP ⁶⁾	0.48±0.13	0.33±0.14	0.27±0.17	0.44±0.28	0.35±0.20	0.46±0.18

1) Mean ±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

3) HTR: [HDL-cholesterol]/[Total cholesterol]

4) AI (atherogenic index) : {[Total cholesterol]-[HDL-cholesterol]}/ [HDL-cholesterol]

5) Total-cholesterol/HDL-cholesterol

6) AIP(atherogenic index of plasma) : $AIP = \log_{10}(TG/HDL-C)$

사. 혈압

조사대상자의 대조군의 실험군의 수축기 혈압은 각각 평균 135.6±17.9 mmHg와 127.6±12.5 mmHg이었고 이완기 혈압은 95.0±16.6 mmHg와 87.4±5.9 mmHg로 나타났다. 이것은 WHO (World Health Organization)의 고혈압 정의에 따른 수축기 혈압 140 mmHg보다 낮았고, 이완기 혈압 90 mmHg보다 낮아서 정상범위에 속했으나, 대조군은 도시의 40-49세의 성인남자의 평균 수축기 혈압이 120 mmHg로 보고한(Lee 등 2000)에 비하여 높았고 대조군의

이완기 혈압은 89 mmHg보다 높았으나 실험군의 이완기혈압은 89 mmHg보다 낮았다(Table 6-8).

Table 6-8. The change of blood pressure in the control and experimental groups

Group(wk)	Group GT			Group GRGT		
	0 week	2 weeks	4 weeks	0 week	2 weeks	4 weeks
SBP ³⁾ (mmHg)	127.6±12.5 ¹⁾²⁾	121.3±10.4	127.1±1	135.6±17.9	128.1±17.9	128.6±10.7
DBP ⁴⁾ (mmHg)	87.4±5.9	74.3±5.3	78.6±6.9	95.0±16.6	81.0±13.6	74.3±11.3

1) Mean ±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

3) SBP : Systolic blood pressure

4) DBP : Diastolic blood pressure

아. 혈중지질농도와 신체지수와의 상관관계

혈중 지질농도는 체중과 상관성이 높다고 알려져 있는데 본 연구 대상자에서도 체중과 체질량지수(BMI), 체지방율(%), 중성지질(TG) 및 초저밀도콜레스(VLDL)와는 $r=0.907$, $p<0.001$, $r=0.850$, $p<0.001$, $r=0.736$, $p<0.001$ 및 $r=0.657$, $p<0.05$ 로 유의적인 양의 상관관계를 나타내었고, 체질량지수도 체중과 같은 경향을 보였다 (Table 6-9). 체내지방률은 중성지방과 양의 상관관계를 나타내었고($r=0.564$, $p<0.05$), HDL-콜레스테롤/Total-콜레스테롤의 비율은 음의 상관관계를 나타내었다($r=-0.549$, $p<0.05$). 성인 남녀에서 체중의 증가는 심장질환의 위험율을 증가시키고, 혈중 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤, 혈당의 증가와 상관성이 있다고 보고하였다(Seidell 등 2001).

Table 6-9. Pearson correlation coefficient in each variable in the subjects.

	Weight	BMI	Body fat(%)	TG	Total-C	VLDL-C	LDL-C	HDL-C	HTR
weight	1								
BMI³⁾	0.907**	1							
Body fat(%)	0.850**	0.941**	1						
TG	0.736**	0.736**	0.564*	1					
Total-C	0.421	0.526	0.496	0.514	1				
VLDL-C	0.657*	0.612*	0.462	0.947**	0.436	1			
LDL-C	0.112	0.112	0.159	0.362	-0.085	0.600*	1		
HDL-C	-0.167	-0.111	-0.338	0.063	-0.057	0.112	-0.734**	1	
HTR⁴⁾	-0.361	-0.357	-0.549*	-0.218	-0.480	-0.139	-0.869**	0.887**	1

1) * : Significant at p <0.05 by Pearson's correlation

2) ** : Significant at p <0.01 by Pearson's correlation

3) BMI : Body mass index(kg/m²)

4) HTR: [HDL-cholesterol]/[Total cholesterol]

자. 녹차음료의 섭취기간별 성인남자의 생활습관 및 체성분 변화의 상관관계

신체계측결과는 체중 및 비만관련지수를 감안하여 가바녹차음용군(Group GRGT)과 일반녹차음용군(Group GT)으로 구분하여 비교하였다. 녹차섭취기간에 따른 각 실험군간의 유의적 차이는 보이지 않았다. 2주 동안 녹차의 섭취는 내장지방레벨과 내장지방면적을 감소시켜 체중감소 효과를 나타낸 것으로 보인다. 가바녹차음용군(Group GRGT)이 일반녹차음용군(Group GT)에 비해 체중의 감소경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

Table 6-10. The change of body composition in the subjects.

Group(wk)	Group GRGT			Group GT		
	0주~2주	2주~4주	0주~4주	0주~2주	2주~4주	0주~4주
Weight(kg)	-0.04±0.80 ¹⁾²⁾	0.03±0.57	-0.01±1.00	-0.36±0.76	0.24±0.70	-0.11±0.59
BMI(kg/m ²) ³⁾	-0.31±0.65	-0.14±0.45	-0.46±0.81	-0.11±0.24	0.06±0.25	-0.06±0.18
Fat(%)	-0.25±1.03	-0.08±0.95	-0.33±1.27	-0.29±1.00	-0.21±0.86	-0.50±0.96
Fat(kg)	-0.23±0.72	-0.01±0.80	-0.24±0.92	-0.33±0.79	-0.07±0.76	-0.40±0.63
Muscle(kg)	0.19±1.08	0.06±0.47	0.24±1.24	0.00±0.80	0.37±0.52	0.37±0.66
Cell(kg)	0.19±0.84	0.03±0.17	0.21±0.90	0.01±0.55	0.17±0.33	0.19±0.55
Visceral fat(kg)	-0.29±0.49	0.00±0.56	-0.29±0.76	-0.43±0.78	0.14±0.90	-0.29±0.76
VFA ⁴⁾	-2.71±8.05	0.71±7.65	-2.00±10.34	-2.71±9.16	-3.14±10.98	-5.86±7.80
WHR ⁵⁾	0.04±0.12	-0.01±0.04	0.03±0.13	-0.00±0.03	0.00±0.02	0.00±0.03
Lean body mass (%)	0.24±1.02	0.09±0.95	0.33±1.27	0.29±1.00	0.21±0.86	0.50±0.96
Muscle(%)	0.31±0.95	0.06±0.96	0.37±1.26	0.31±0.93	0.25±0.94	0.56±0.87
Body fluid(%)	0.14±0.72	0.06±0.66	0.20±0.89	0.21±0.71	0.19±0.64	0.40±0.70
ECF(kg) ⁶⁾	0.13±0.58	-0.06±0.13	0.07±0.62	0.00±0.38	0.10±0.20	0.10±0.40
EIF(kg) ⁷⁾	-0.01±0.28	0.06±0.31	0.04±0.39	0.01±0.28	0.14±0.24	0.13±0.17
Edema Index	-0.00±0.01	0.00±0.06	0.00±0.00	0.00±0.01	0.14±0.24	0.00±0.01
Mineral (%)	-0.01±0.07	0.00±0.06	-0.01±0.07	0.01±0.13	-0.03±0.08	-0.01±0.13
Protein (%)	0.06±0.30	0.03±0.28	0.09±0.37	0.09±0.24	0.06±0.31	0.14±0.26

1) Mean ±SD

2) NS : Not significant at p <0.05

3) BMI : Body mass index(kg/m²)

4) VFA :Visceral fat area(cm²)

5) WHR: Waist-hip ratio

6) ECF : Extracellular Fluid

7) ICF : Intracellular Fluid

3. 요약

최근 wellbeing시대에 식생활 수준이 높아짐에 따라서 기호성 식품, 드링크제품 및 건강기능식품의 소비가 계속 증가하고 있다. 최근 생리활성을 가지는 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있는 가운데 기호음료로써 오랜 역사를 가진 녹차가 관상동맥 질환의 위험이 감소된다는 보고가 있다.

비만은 생활습관이 중요한 병이며 비만을 초래한 식습관, 신체활동습관등과 음주, 흡연, 스트레스는 맞물려 있다. 비만은 총체적인 환자 접근이 필요한 질환이므로 치료를 위해 음주, 흡연, 스트레스 관리는 필수요소이다. 또 비만한 사람은 정상인에 비해 사망률이 높는데, 이는 비만으로 인해 당뇨병, 심장순환기계, 암 등이 발생할 확률이 높은 것으로 알려져 있다. 실험대상자들은 1단계 비만(과체중)으로 정상인보다 중성지방 및 콜레스테롤 수치가 높은 고지혈증을 유발할 가능성이 증가한다. 실험 4기간 동안 가바강화녹차와 일반녹차를 음용한 대상자에서 혈중 중성지방과 콜레스테롤을 감소하는 경향을 보였고 내장지방과 피하 지방량도 감소하는 경향을 보였다.

적절한 알코올 섭취(moderate alcohol consumption)가 심장보호가 있다고도 하나 알코올은 체중증가가 비만을 촉진하여 심혈관질환의 위험도를 높이기도 한다. 본 연구의 조사대상자는 모두 알코올을 섭취하였고, 이들 모두 높은 동맥경화지수(Atherogenic index:AI)와 심장위험지수(Cardiac risk factor, C,R,F) 및 혈중지질농도를 나타내었다.

제 7 장 가바차 주요 특성

제 1 절 서 론

다원에서 자외선과 메칠자스모네이트 조합처리, 채엽한 잎 험기와 호기처리 후 덩음차 제다공정으로 가바차를 제다하였다. 가바차 주요특성을 밝히기 위해 가바차와 추출물에서 주요성분과 기능성을 분석하였다.

제 2 절 재료 및 방법

본 시험에 사용한 차는 보성차시험장에 식재된 재래종 포장에서 '07년 5월 10일 수확하였다. 수확한 1심 2엽차는 수확, 위조후 덩음차 제다 공정을 거쳐 녹차를 가공하였다. 가바차는 포장에서 수확전 30일부터 자외선 65W를 2시간 조사시킨 다음 1심2엽차를 수확하였다. 수확한 차는 20L 밀폐된 플라스틱 용기에 70% 정도 넣어 통기성을 확보한 다음 100% N₂ 개스 300mL·분⁻¹를 5분간 흘러 보낸 다음 밀폐시켰다. 개스가 주입된 플라스틱박스는 20℃에서 12시간 험기처리한 다음 꺼내 녹차 제다와 같은 방법으로 가바차를 가공하였다. 반면, 대조구로 사용한 녹차는 다원에서 수확한 다음 덩음차 제다 공정으로 제다하였다.

수분함량 조사는 건조전 차 무게를 단 다음 80℃ 드라이오븐에서 24시간 건조시킨 다음 무게를 달았다. 건조후 무게에서 건조전 무게를 뺀 다음 100을 곱해 퍼센트로 나타냈다. 비타민 C는 분말 시료 1g과 6% HPO₃ 용액 100mL을 플라스크에 넣어 80℃ 수조에서 2시간 추출한 후 millipore filter (0.45um) 여과한 다음 HPLC (Waters, USA)로 측정하였다. HPLC에서 칼럼은 30cm × 4.6mm, C₁₈이었고, 용매는 tridecylammonium이 함유된 methanol

(220mg/600mL MeOH+증류수 400mL+Formic acid 0.05mL)로 유출 속도는 $1.5\text{mL}\cdot\text{분}^{-1}$, 흡광도는 UV 254nm였다.

전질소는 비색법으로 측정하였는데, 시험관에 혼합시약 (alkaline phenolate 50mL+Na nitroprusside 100mL+4% EDTA 5mL) 3mL에 분말시료 1g을 넣고 37°C 수조에 5분간 넣어 둔 다음 발색시약 (인산완충용액 200mL+Na hypochlorite 50mL) 5mL를 가해 잘 혼합시켰다. 상온에서 20분간 발색시켜 분광분석기(Hewlett Packard, Model 8452A, Rockvile, USA)를 이용 665nm에서 흡광도를 측정하였다.

전아미노산은 분말 시료 1g에 증류수 100mL를 넣고 80°C 수조에서 30분간 추출하였다. 추출액 1mL와 함께 ninhydrin 0.5mL를 가해 80°C 수조에서 30분간 발색시킨 다음 냉각시켜 isopropylalcohol과 증류수 혼합액(1:1, v/v) 5mL를 가해 곧바로 분광분석기를 이용 570nm에서 흡광도를 측정하였다.

탄닌은 상기 분말 시료에서 추출한 추출물을 10,000g 속도로 15분간 원심분리해서 측정 하였다. 상징액 3mL에 0.016M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 1.0mL, 0.02M FeCl_3 1.0mL를 각각 넣어 잘 혼합하였다. 혼합액은 15분간 상온에서 발색시킨 다음 분광분석기를 이용 700nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용한 표준곡선으로 전 페놀함량을 결정한 다음 탄닌으로 전환하였다. Caffein은 상기 분말시료에서 추출한 추출물을 0.45um 필터로 여과해서 HPLC에서 측정하였다. 칼럼은 C_{18} 역상칼럼이었고 용매는 메탄올과 증류수 (30%:70%) 혼합액으로 분당 1.0mL 유출시켰다. 칼럼온도는 35°C로 유지시켜 주면서 UV 260nm에서 흡광도를 측정하였다.

환원당은 분말 시료 3g에 80% 에탄올 100mL를 가해 80°C 수조에서 2시간 추출하였다. 이 중 50mL를 분획플라스크에 넣은 다음 hexan 20mL를 가해 진탕해서 색소와 지방층이 제거된 상층은 버리고 하층을 받아 rotary evaporator에서 감압농축시켰다. 농축액 0.2mL에 3,5-Dinitrosalicylic acid 혼합액 (3,5-Dinitrosalicylic acid 0.5g+2N NaOH 20mL+로첼염 30g/1,000mL) 0.4mL를 가해 100°C 수조에서 5분간 끓인 다음 식혀 증류수 1.8mL를 가해

분광분석기에서 흡광도 (525nm)를 측정하였다.

크로로필함량은 분말 시료 0.5g과 함께 칼슘카보네이트 3g을 85% 아세톤 50mL에 넣어 냉암소에서 24시간 추출하였다. 추출액은 여과해서 분광분석기에서 흡광도 (660nm와 642nm)를 측정하였다. 잎 색도는 칼라메타 (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta, Japan)을 이용 측정한 다음 Hunter 'L' (+L=흰색, -L=검은색) 및 'a' (+a=빨강, -a=녹색)값으로 나타냈다.

카테킨은 분쇄한 녹차 잎 1g에 80°C 증류수 100mL를 넣고 항온수조에서 30분간 추출한 후 millipore filter로 (0.45um)여과해서 HPLC (Waters, USA)로 측정하였다. HPLC에서 칼럼은 Waters사의 30cm ×4.6mm 규격의 C₁₈이었고, 용매는 acetonitrile, ethyl acetate, 0.05% phosphoric 용액 (120:20:860, v/v/v)으로 유출 속도는 분당 1.2mL, 칼럼온도는 40°C, 흡광도는 UV 254nm 였다.

유리아미노산분석에서 차 추출액을 0°C에서 30분간 10,000g 속도로 원심 분리한 다음 상정액은 감압 농축시켰다. 여액을 여과 (0.45um)한 후 50uL를 work station에서 진공 건조시켰다. 건조된 시료에 메탄올, 물, trifluoroacetic acid (TEA)을 2:2:1로 혼합한 용액 20uL를 넣은후 건조시켰다. 건조시킨 시료에 메탄올, 물 TEA, phenylisothiocyanate를 7:1:1:1로 혼합한 용액 20uL로 넣어 실온에서 유도체화한 다음 진공 건조시켰다. 건조된 시료에 시료희석용 시약 250uL를 넣어 여과한 다음 10uL를 HPLC (Waters, USA)에 주입하였다. HPLC에서 칼럼은 Pico-Tag column (3.9×150mm, 4um)이었고 온도는 50°C 였다. 용매는 20g의 sodium acetate trihydrate와 500uLm TEA, 65mL의 CH₃CN이 함유된 용액 (A)과 60% CH₃CN 함유된 용액 (B)이었고 유출시 A용액을 11분간 최초 100%에서 0%로 낮춘후 다시 100% A용액을 10분간 유출시키면서 Uv 250nm에서 측정하였다.

항산화활성도조사를 위해 Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid), 2,2-azonobis (3-ethylbenzothiazolin-6-sulphonic acid (ABTS), potassium persulfate (K₂S₂O₈) 시약은 Sigma 사 (St. Louis, MO,

USA)에서 구입하였다. ABTS 자유기는 250mM ABTS, 40mM $K_2S_2O_8$ 와 MnO_2 상호작용으로 발생된다. 990mM ABTS 혼합용액에 phosphate buffer salin에 녹인 Trolox 표준용액 (0-20mM)을 혼합한 후 1분과 6분이 경과한 다음 분광분석기에서 흡광도값을 측정해 Trolox 표준곡선을 얻었다. 항산화도 활성은 990mM ABTS 혼합용액에 10mL 차 추출물 ($0.2mg\cdot ml^{-1}$)을 혼합한 다음 1, 6분 경과후 파장 734nm에서 흡광도를 측정해 흡광도 감소율에 Trolox식에서 얻은 상수값을 곱해 나타냈다(Miller et al., 1996; Park et al., 2006).

Angiotensin-converting 효소 억제도 조사를 위해 rabbit lung acetone powder, hippuryl-histidin-leucine peptide 혼합액은 sigma 사에서 구입하였다. 10mL 증류수에 rabbit lung acetone powder 36mg을 녹인 다음 4°C에서 10분간 12,000g 속도로 원심분리 해서 상정액을 회수하였다. 반응용액은 100mM sodium borate 완충용액 100uL, 50uL 증류수 (대조구) 또는 시료 추출물, 5mM hippuryl-histidin-leucine 용액 50uL를 혼합하였다. 5mM hippuryl-histidin-leucine 용액조제는 100mM sodium borate 완충용액 (pH=8.3) 1mL에 시약 2.15mg을 휘석하였다. 반응용액에 미리 준비한 100uL rabbit lung 아세톤파우더를 넣고 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 1N 염산 200uL를 넣어 반응을 중지시켰다. 2mL ethylacetate을 넣어 5분간 혼합시킨 다음 2,000g에서 5분간 원심분리 하였다. 상정액 1.5mL를 수조에서 20분간 가온하면서 Cl_2 개스를 제거시켰다. 1N NaCl을 첨가해서 혼합한 다음 분광 분석기를 이용 파장 228nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능은 5mL Dipenyl $-\beta$ -pycryl hydrazyl ($0.26mg\cdot ml^{-1}$, DPPH) 용액과 차 추출물 0.5mL를 혼합한 다음 3,500g 속도로 3분간 원심분리 하였다. 상정액은 상온에 10분간 두었다가 분광분석기를 이용 525nm에서 흡광도를 측정하였다.

아질산염 소거능 (nitrite scavenging activity)은 0.1N HCl 10mL에 0.1mM $NaNO_2$ 2mL와 차 추출물 1mL를 혼합한 다음 37°C 수조에서 60분간 반응

시켰다. 반응용액 1mL에 0.4mL Griess reagent [sulfanilamide와 N-(1-naphthyl)ethylenediamine]와 2% acetic acid 2mL를 혼합해서 상온에 15분간 두었다가 분광분석기를 이용 파장 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

가바차 관능평가를 위해 70, 80, 90, 100°C 물 100mL가 담겨진 다기에 차 3g을 각각 넣고 3분동안 기다렸다가 다기의 추출물을 컵에 따라 부었다. 이것이 첫 번째 추출물이고 두 번째 추출물은 첫 번째 추출하고 남은 엽에 새로운 물 100mL를 넣은 다음 3분후 새로운 컵에 옮겼다. 세 번째 추출물은 두 번째 추출물과 동일한 방법으로 추출하였다.

관능평가는 목포대학교 지역특화작목산업화센터 연구원들과 국제차문화학파에 재학중인 학생 10명이 차 추출물을 음용하면서 쓴맛, 떫은 맛, 단맛, 향기 정도에 따라 이들 값을 수치화하였다 (1=매우 나쁨, 2=나쁨, 3=보통, 4=좋음, 5=매우 좋음). 탄닌 측정을 위해 차 추출물을 10,000g 속도로 15분간 원심 분리한 다음 상징액 3.0mL를 취하였다. 차 상징액에 0.016M $K_3Fe(CN)_6$ 1.0mL, 0.02M $FeCl_3$ 1.0mL를 각각 넣고 잘 혼합하였다. 15분간 상온에서 발색시켜 분광분석기 700nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 이용한 표준곡선으로 전폐놀함량을 결정한 다음 탄닌으로 전환하였다.

카테킨함량은 차 추출물을 Whatman No. 4 필터로 여과한 다음 미리 증류수로 활성화 해 둔 Sepak C_{18} 카트리지에 흘려 보냈다. 차 추출물을 유출시켰던 카트리지에 HPLC 용매 3mL를 다시 흘려 보내서 유출된 시료는 마이크로 필터 (0.45um)로 여과하였다. 여액은 상기 언급한 방법과 같이 HPLC에서 측정하였다.

제 3 절 실험 결과 및 고찰

1. 가바차에서 주요특성

가바차 주요 특성조사에서 (Table 7-1), 전폐놀, 비타민 C, 엽록소함량은 녹차에 비해 가바차에서 유의하게 낮았으나, 수분함량, 전질소, 탄닌, 카페인,

환원당함량은 녹차와 차이가 없었다.

가바차 아미노산 변화 (Table 7-2)에서, aspartic acid와 glutamic acid는 녹차에 비해 가바차에서 현저히 감소하는 경향을 나타냈으나 gaba와 alanine 함량은 유의하게 증가하는 경향을 나타냈다. 반면, theanine, threonine, phenylalanine, tryptophan, lysine, methionine, isoleucine, leucine, valine 함량은 두 제품간 차이가 없었다. 따라서, 본 시험에서도 가바함량이 증가하면서 glutamic acid 함량이 감소하는 사실로 봐 가바차의 전구물질은 glutamic acid로 사료된다. 두 제품에서 주요 아미노산은 theanine으로 전체 아미노산 함량의 50%내외를 차지하고 있었다.

카테킨함량 변화(Table 7-3)에서, 가바차는 epicatechin(EC)과 epigallocatechin (EGC) 함량이 녹차에 비해 현저히 감소되는 경향을 보였다. 반면, epigallocatechin gallate (EGCG), 함량은 증가되는 경향을 보였다. galocatechin (GC), catechin (C), epicatechin gallate (ECG), catechin gallate (CG)는 제품간 차이가 없었다. 차류에서 카테킨함량은 발효차에서 감소하는 경향을 나타내는데 본 시험에서, 가바차도 혐기처리 과정에서 어느 정도 발효가 진행되어 페놀대사에 영향을 미치는 것으로 추정된다.

미량요소 변화 (Table 7-4)에서, 가바차는 녹차에 비해 Mg 함량이 유의하게 감소하였으나 Fe, Mn과 Cu는 차이가 없었다. 가바차에서 Mg 함량이 감소되었다는 사실은 매우 이례적인 사실로 받아지고 있는데 이는 효소 활성과정에서 이 물질이 전자전달 기능을 하는 것으로 추정되는데 앞으로 좀 더 조사가 필요하다.

생리활성 비교 (Table 7-5)에서, 가바차는 ACE 저해제 활성이 녹차에 비해 현저히 높았으나 항산화도, 전자공여능, 아질산소거능은 별 다른 차이를 나타내지 않았다.

Table 7-1. Physicochemical properties of gaba tea and green tea.

Properties	Content (g·100g ⁻¹ D wt)	
	Green tea	Gaba tea
Moisture	5.64±0.55 a ^z	5.52±0.50 a
Ascorbic acid	0.58±0.08 a	0.32±0.08 b
Total free amino acids	2.76±0.34 a	2.60±0.32 a
Total nitrogen	5.15±0.87 a	5.20±0.65 a
Tannin	13.40±0.24 a	13.00±0.40 a
Caffein	1.90±0.24 a	1.80±0.30 a
Total phenolic	4.50±1.00 a	3.80±0.80 b
Reducing sugar	1.65±0.38 a	1.50±0.30 a
Chlorophyll	0.36±0.06 a	0.21±0.06 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-2. Comparison of gaba and free amino acids contents between gaba and green tea extracts.

Amino acids	Content (mg·100g ⁻¹ D wt)	
	Green tea	Gaba tea
Aspartic acid	110.44±22.55 a ^z	54.20±16.80 b
Glutamic acid	148.80±44.36 a	74.20±21.24 b
Gaba	8.16±0.24 b	120.40±30.50 a
Alanine	218.24±44.67 b	240.20±40.80 a
Theanine	968.25±240.38 a	912.60±184.80 a
Threonine	11.20±3.20 a	15.40±3.60 a
Phenylalanine	15.56±4.00 a	11.78±3.40 a
Tryptophan	13.23±4.10 a	10.12±2.60 a
Lysine	8.80±2.60 a	14.20±4.40 a
Methionine	0.14±0.04 a	0.20±0.03 a
Isoleucine	8.10±3.36 a	11.40±3.20 a
Leucine	10.30±3.10 a	14.80±4.20 a
Valine	52.20±8.4 a	48.60±8.00 a

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-3. Comparison of catechins contents between gaba and green tea extracts.

Compounds ^z	Content (g·100g ⁻¹ D wt)	
	Green tea	Gaba tea
GC	0.59±0.18 a ^y	0.88±0.46 a
C	0.16±0.04 a	0.14±0.04 a
EC	0.76±0.20 a	0.40±0.12 b
ECG	0.95±0.27 a	0.80±0.15 a
EGC	1.65±0.28 a	1.18±0.26 b
EGCG	0.84±0.03 b	0.98±0.08 a
GCG	0.12±0.02 a	0.11±0.02 a
CG	0.03±0.01 a	0.03±0.01 a

^zGC=gallocatechin, C=catechin, EC=epicatechin, ECG=epicatechin gallate, EGC=epigallocatechin, EGCG=epigallocatechin gallate, GCG=gallocatechin gallate, CG=catechin gallate.

^yMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-4. Changes in mineral contents between gaba tea and green tea extracts.

Mineral ^z	Content (g·100g ⁻¹ D wt)	
	Green tea	Gaba tea
Fe	0.59±0.18 a ^y	0.88±0.46 a
Mn	0.16±0.04 a	0.14±0.04 a
Mg	0.76±0.20 a	0.40±0.12 b
Cu	0.95±0.27 a	0.80±0.15 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

Table 7-5. Changes in bioactive compounds activities between gaba and green tea extracts.

Bioactive substance activity	Green tea	Gaba tea
Antioxidant activity(mM TE·g ⁻¹ F wt)	40.42±5.12 a ^z	35.42±4.88 a
ACE inhibition activity (%)	25.79±4.28 b	33.79±4.14 a
Electron donating ability (%)	72.32±11.42 a	82.32±10.24 a
Nitrite scavenging activity (%)	40.30±5.62 a	44.30±5.20 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

2. 차 추출물에서 주요 특성

가바차 추출온도와 추출횟수에 따른 관능평가에서(Table 7-6), 녹차와 함께 온도가 높을수록 떫은맛과 쓴맛 증가로 식미가 저하되는 경향을 보여 주었다. 반면, 온도가 낮으면 단맛과 향 저하로 식미가 저하되는 경향을 나타냈다. 추출회수를 1, 2, 3회로 증가시킬수록 추출온도에 관계없이 식미가 저하되는 경향을 나타냈다. 떫은맛, 쓴맛, 단맛과 풍미를 종합해 볼때 가바차 최적 추출온도는 90℃로 나타났다. 녹차와 품질비교에서도 별다른 차이점을 나타내지 않아 혐기처리한 가바차도 처리조건만 준수한다면 품질저하는 발생하지 않을 것으로 판단되었다.

추출물에서 가바함량은 6.11-10.04mg·100mL⁻¹으로(Table 7-7) 추출 온도가 높을수록 증가하는 경향을 나타냈다. 그러나, 70℃나 80℃에서도 높은 량의 가바가 함유되어 있어 물에서 쉽게 추출되는 것으로 사료된다. 전 페놀함량은 추출온도가 증가할수록 크게 증가하였는데 특히 100℃에서 현저히 높았다. 가바차와 녹차에서 전 페놀함량은 차이가 없었다.

탄닌과 카테킨함량에서(Table 7-8~9), 탄닌은 추출온도가 높을수록 크게 증가하는 경향을 나타냈다. 녹차에서 이들 함량은 차이를 나타내지 않아 혐기처리하는 탄닌함량에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 카테킨

에서 주요 물질은 녹차에서와 같이 EGC로 나타났고 추출온도가 높을수록 추출되는 카테킨함량은 크게 증가하는 경향을 나타냈다. 가바차에서 카테킨 함량은 녹차에 비해 다소 차이를 나타냈으나 추출물에서는 별 다른 차이를 나타내지 않았다.

추출온도에 따른 가바차 특성에서 가바는 비교적 낮은 물 온도에서 잘 추출되는 경향을 나타냈다. 가바차도 녹차에서와 같이 추출온도가 높아질수록 쓴맛과 떫은맛이 증가함으로 최적조건은 90℃로 나타났다.

Table 7-6. Sensory evaluation of tea extracts in green and gaba teas by extracting temperature and its times.

Treatment		Sensory evaluation ^z								Mean	
Extracting temp (°C)	Extracting times	Bitterness		Astringency		Sweetness		Flavour		Green tea	Gaba tea
		Green tea	Gaba tea	Green tea	Gaba tea	Green tea	Gaba tea	Green tea	Gaba tea		
70	First	4.36	3.37	3.40	3.75	2.20	3.50	2.50	4.39	3.24	3.75
	Second	4.20	3.63	3.54	3.00	2.10	3.25	2.60	3.63	3.39	3.37
	Third	4.70	3.13	3.52	2.87	2.40	3.13	2.65	3.12	3.46	3.21
80	First	4.10	3.75	3.30	3.87	3.54	3.88	3.80	4.00	3.84	3.87
	Second	3.92	3.13	3.48	3.50	3.70	3.23	3.80	3.37	3.82	3.28
	Third	4.00	3.38	4.10	3.38	3.50	3.12	3.20	3.50	3.83	3.37
90	First	4.16	4.00	4.24	3.87	4.20	3.62	3.60	4.25	4.05	3.94
	Second	4.22	4.38	3.90	4.0	4.30	3.75	3.30	4.25	3.95	4.07
	Third	4.40	3.13	3.80	3.25	3.80	3.81	3.14	3.63	3.90	3.34
100	First	3.40	3.75	3.40	4.00	3.82	3.87	3.34	4.25	3.47	3.97
	Second	3.80	3.75	3.40	3.50	3.62	3.13	3.30	3.75	3.55	3.47
	Third	3.30	3.37	3.30	3.00	3.58	3.00	3.20	2.88	3.57	3.03

^z1=severely bad, 2= bad, 3= moderate, 4= good, 5= excellent

Table 7-7. Changes in gaba and total phenolic compound contents of tea extracts in green and gaba teas by extracting temperature and its times.

Treatment		Gaba (mg·100mL ⁻¹)		Total phenolic compound (mg·100mL ⁻¹)	
Extracting temp (°C)	Extracting times	Green tea	Gaba tea	Green tea	Gaba tea
70	First	2.06±0.32	8.19±1.84	71.52±8.40	73.32±10.40
	Second	2.28±0.34	7.85±1.04	60.30±8.22	65.35±8.82
	Third	1.07±0.14	7.05±0.92	50.52±6.60	45.32±5.20
80	First	1.84±0.20	9.95±1.64	80.30±10.04	82.35±10.84
	Second	1.19±0.24	8.92±1.78	63.61±7.24	68.68±8.14
	Third	2.11±0.32	6.13±0.80	41.25±5.10	46.35±5.60
90	First	2.39±0.24	8.96±1.80	105.31±21.60	110.31±22.60
	Second	2.89±0.26	7.25±1.20	86.68±14.83	80.68±16.23
	Third	1.54±0.18	5.54±0.88	66.45±12.06	58.45±14.02
100	First	1.94±0.20	10.42±2.00	100.53±15.42	110.53±14.45
	Second	2.20±0.30	9.86±1.84	85.68±11.40	81.68±10.40
	Third	1.27±0.18	6.27±1.40	70.65±8.40	72.45±9.80

Table 7-8. Changes in tannin content of tea extracts in green and gaba teas by extracting temperature and its times.

Treatment		Tannin (mg·100mL ⁻¹)	
Extracting temp (°C)	Extracting times	Green tea	Gaba tea
70	First	80.15±9.20	90.17±8.42
	Second	88.95±10.14	84.70±11.40
	Third	65.57±5.44	60.05±6.62
80	First	112.71±10.20	103.12±16.40
	Second	103.75±8.34	91.02±7.88
	Third	70.19±7.20	68.13±8.80
90	First	120.15±19.64	113.96±18.40
	Second	88.64±11.86	77.65±12.40
	Third	74.87±10.88	70.44±8.88
100	First	130.54±22.20	145.42±20.00
	Second	94.60±13.00	94.86±16.84
	Third	82.30±10.88	79.27±14.40

Table 7-9. Changes in catechins content of tea extracts in green tea by extracting temperature and its times.

Treatment		Catechins content (mg g ⁻¹ D wt)								
Extract Temp.(°C)	Extract Times	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	Total
Green tea										
70	First	nd ^z	3.34±0.27	nd	1.30±0.09	0.64±0.04	2.13±0.17	7.08±0.42	nd	14.49±0.20
	Second	0.22±0.01	11.34±0.68	nd	nd	nd	1.47±0.09	0.08±0.01	nd	13.11±0.92
	Third	0.60±0.04	0.60±0.04	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.20±0.08
80	First	4.17±0.33	47.86±2.87	nd	5.30±0.48	0.08±0.01	5.40±0.43	2.08±0.15	nd	64.89±0.71
	Second	0.41±0.03	12.43±0.75	nd	1.03±0.08	nd	0.78±0.05	0.05±0.06	nd	13.93±0.98
	Third	0.17±0.01	4.69±0.33	nd	0.16±0.01	0.77±0.05	nd	0.84±0.08	nd	5.83±0.10
90	First	2.07±0.12	28.60±1.72	9.68±0.68	10.88±0.65	8.30±0.49	0.60±0.05	5.54±0.39	nd	65.67±0.59
	Second	3.35±0.23	12.01±0.96	1.30±0.08	1.84±0.13	nd	4.77±0.29	4.70±0.33	7.94±0.64	35.91±0.38
	Third	3.32±0.23	1.23±0.10	nd	0.58±0.05	nd	3.10±0.25	2.74±0.17	nd	10.97±0.16
100	First	6.15±0.37	22.93±1.61	7.67±0.53	7.20±0.58	10.97±0.77	5.75±0.40	12.44±0.99	1.62±0.11	73.15±0.67
	Second	2.40±0.17	20.77±1.66	0.45±0.03	1.81±0.11	14.68±1.17	4.51±0.36	0.27±0.02	nd	44.51±0.50
	Third	0.66±0.05	0.33±0.02	nd	0.74±0.07	nd	5.20±0.36	1.17±0.08	nd	8.10±0.49

Treatment		Catechins content (mg g ⁻¹ D wt)								
Extract Temp.(°C)	Extract Times	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG	Total
GABA tea										
70	First	nd	4.65±0.32	nd	nd	nd	nd	0.29±0.02	nd	4.94±0.17
	Second	nd	2.48±0.17	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2.48±0.17
	Third	0.44±0.04	1.25±0.10	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.67±0.07
80	First	0.56±0.04	7.35±0.51	1.35±0.11	1.89±0.13	nd	nd	2.35±0.16	nd	13.50±0.19
	Second	2.55±0.18	6.05±0.36	0.34±0.03	nd	0.09±0.01	nd	6.03±0.42	nd	15.06±0.20
	Third	0.52±0.05	7.51±0.52	1.37±0.11	nd	nd	nd	4.13±0.29	nd	13.53±0.97
90	First	1.17±0.09	11.70±0.94	14.94±1.05	4.05±0.52	4.37±0.35	3.59±0.29	17.23±1.21	3.16±0.22	62.21±0.59
	Second	1.66±0.12	12.21±0.85	6.35±0.44	4.20±0.29	2.32±0.16	3.68±0.27	10.93±0.76	nd	41.03±0.41
	Third	1.01±0.07	10.14±0.81	3.59±0.25	0.87±0.05	0.60±0.04	nd	7.61±0.61	nd	23.82±0.31
100	First	5.06±0.46	21.46±1.50	21.55±1.51	9.34±0.75	2.99±0.24	9.51±0.71	20.51±1.61	0.29±0.02	90.71±0.85
	Second	nd	5.26±0.37	nd	nd	nd	nd	4.11±0.33	nd	9.37±0.35
	Third	nd	3.22±0.19	nd	nd	nd	nd	3.99±0.28	nd	7.21±0.24

^zGC=gallocatechin, EGC=epigallocatechin, C=catechin, EC=epicatechin, EGCG= epigallocatechin-3-gallate, GCG=gallocatechingallate, ECG=epicatechingallate, CG=catechin gallate.

^yNot detected

제 8 장 가바차 유통중 품질 변화

제 1 절 서 론

차는 제다 과정을 거친 다음 폴리에틸렌 용기에 넣고 밀봉해서 제품을 생산한다. 건조과정을 거쳐 수분함량이 상대적으로 낮기 때문에 주로 상온에서 저장하거나 유통 한다. 차 음용을 시작하게 되면 밀봉된 용기는 열개해야 한다. 맛있는 차를 마시기 위해서는 유통중 차의 신선도가 유지되어야 한다. 이를 위해서는 저온과 상온에서 가바차 유통기간을 밝히는 것이 중요하다.

제 2 절 재료 및 방법

채엽한 찻잎은 제8장 제다공정으로 제다한 가바차였다. 가바차 50g을 폴리에틸렌 재질에 넣고 용기를 밀봉한 것, 열개후 문구용 크립으로 집어 용기를 담은 것, 크립으로 닫기전 실리카겔을 넣은 것으로 구분하였다. 이들 시료는 각각 12개월간 상온저장과 저온저장하면서 시료를 채취하였다.

차 추출후 관능평가, 탄닌과 카테킨, 가바, PPO 활성 등은 제7장 2절 방법과 같은 방법으로 조사하였다.

제 3 절 실험 결과

가바차 상온과 0℃에서 포장을 달리해(밀봉, 열 개후 크립으로 닫음, 열 개후 실리카겔 넣고 크립으로 닫음)서 저장중 추출물 관능평가(Table 8-1)에서, 상온에서 맞은 밀봉시 6개월, 크립과 크립+실리카겔 처리시 4개월까지

우수한 경향을 나타냈으나 그 이후부터 저장기간 경과와 함께 맛이 심하게 감소하였다.

0℃에서 맛은 밀봉시 8개월, 크립, 크립+실리카겔 처리시 6개월까지 우수한 맛을 유지하였으나 그 이후부터는 크게 감소하는 경향을 나타냈다.

차는 제다 과정에서 잎을 건조하기 때문에 신선 농산물에 비해 저장온도나 상대습도에 비교적 둔감하나 본 실험에서 저장온도와 함께 밀봉해서 저장시 저장기간이 현저히 연장되었다.

가바차는 밀봉상태에서 상온과 저온저장시 저장기간은 각각 6, 8개월로 나타났으나 포장지를 열 개한 경우 각각 4, 6개월로 짧아지는 경향을 나타냈고 포장지내 실리카겔처리 효과는 없는 것으로 판단된다.

Table 8-1. Changes in sensory qualities in gaba tea extract as influenced by storage conditions.

Storage condition		Months in storage						
Temp (℃)	Packing status	0	2	4	6	8	10	12
	Sealed	4.60±0.30	4.80±0.20	4.60±0.30	3.50±0.30	3.90±0.20	3.40±0.30	
Ambient	Close with clip	4.80±0.24	4.80±0.24	3.80±0.24	3.60±0.26	3.00±0.22	3.20±0.24	
temp	Clip+silica gel	4.80±0.20	4.80±0.24	3.80±0.20	3.10±0.20	2.80±0.20	3.10±0.20	
		4.80±0.20						
	Sealed	4.60±0.30	4.70±0.33	4.80±0.20	4.40±0.30	3.80±0.30	3.60±0.20	
0℃	Close with clip	4.80±0.24	4.70±0.24	4.00±0.24	3.60±0.24	3.80±0.20	3.40±0.20	
	Clip+silica gel	4.80±0.20	4.70±0.20	4.20±0.20	3.80±0.20	3.40±0.20	3.40±0.20	

²1=severly bad, 2=bad, 3=moderate, 4=good, 5=excellent.

가바차 저장중 탄닌함량 변화(Table 8-2)에서, 저장초기 186.7mg·100mL⁻¹ 였으나 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈는데 저온저장

보다는 상온저장에서 심하게 감소하였다.

포장방법에서, 크립과 크립+실리카겔 처리는 밀봉처리에 비해 탄닌함량이 현저히 감소하였다.

저장 12개월후 탄닌함량은 상온저장에서 134-150.0mg, 저온저장에서 153.4-178.6mg·100mL⁻¹ 으로 저장온도와 함께 포장지 열 개 정도에 따라서도 큰 차이를 나타냈다.

카테킨 함량 변화 (Table 8-3)에서, 저장전 124.8mg·100mL⁻¹. 이었으나 저장기간이 경과함에 따라 감소하였다. 처리별로는, 저온저장 보다는 상온저장에서, 밀봉 보다는 크립, 크립+실리카겔 처리에서 현저히 감소하는 경향을 나타냈다. 차 추출물 맛은 저장기간이 경과함에 따라 감소하는데 이는 수용성 탄닌함량 감소와 함께 카테킨 함량 감소와 밀접한 관련성이 있는 것으로 사료된다.

Table 8-2. Changes in tannin content of gaba tea extracts as influenced by storage conditions. Tannin content is expressed as mg·100mL⁻¹.

Storage condition		Months in storage						
Temp (°C)	Packing status	0	2	4	6	8	10	12
Ambient temp	Sealed	190.7±20.3	199.8±22.0	184.4±19.3	170.0±12.0	162.4±16.2	150.0±18.0	
	Close with clip	193.9±26.4	186.0±19.0	178.6±18.8	162.0±17.8	145.4±17.2	130.2±17.4	
	Clip+silica gel	198.4±22.0	190.3±19.4	180.0±14.2	155.8±17.2	148.0±16.0	134.0±16.6	
0°C		186.7±16.2						
	Sealed	192.7±21.0	190.3±23.3	188.0±10.8	184.0±12.6	180.8±18.3	178.6±17.4	
	Close with clip	187.0±19.4	191.4±18.8	184.0±19.6	171.6±16.2	168.0±19.4	154.0±16.5	
	Clip+silica gel	189.7±23.2	187.7±19.2	182.4±19.2	170.8±9.8	164.0±17.0	153.4±18.0	

Table 8-3. Changes in catechins content of gaba tea extracts as influenced by storage conditions. Catechins content is expressed as $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$.

Storage condition		Months in storage						
Temp ($^{\circ}\text{C}$)	Packing status	0	2	4	6	8	10	12
Ambient temp	Sealed	118.7 \pm 10.3	109.8 \pm 12.6	104.4 \pm 10.3	98.0 \pm 12.0	92.4 \pm 10.2	90.0 \pm 10.6	
	Close with clip	113.9 \pm 16.4	100.0 \pm 19.4	90.6 \pm 8.1	86.0 \pm 9.8	84.4 \pm 10.2	80.2 \pm 9.4	
	Clip+silica gel	110.4 \pm 12.0	99.3 \pm 19.0	92.0 \pm 9.2	82.8 \pm 8.2	80.0 \pm 9.8	84.0 \pm 8.8	
		124.8 \pm 14.4						
0 $^{\circ}\text{C}$	Sealed	120.7 \pm 14.0	115.3 \pm 13.0	110.0 \pm 10.8	109.0 \pm 12.1	110.8 \pm 10.8	108.6 \pm 10.4	
	Close with clip	117.0 \pm 13.6	106.4 \pm 11.2	100.0 \pm 10.0	96.6 \pm 10.2	98.0 \pm 11.4	91.0 \pm 9.5	
	Clip+silica gel	111.7 \pm 13.4	107.7 \pm 9.6	102.4 \pm 10.2	98.8 \pm 9.4	94.0 \pm 10.6	90.1 \pm 8.0	

가바함량(Table 8-4)에서, 상온과 저온저장에서 가바함량은 저장기간 경과와 함께 감소하였는데 저장 12주 상온에서 밀봉, 크립, 크립+실리카겔 처리에서 가바 함량은 각각 5.6, 5.2, 5.0 $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ 으로 밀봉처리시 다소 높은 경향을 보였으나 처리간 유의차는 없었다. 저온처리에서도 처리별 가바함량은 6.6, 6.0, 6.1 $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ 으로 밀봉처리시 다소 높은 경향을 나타냈다. 저장온도에서, 상온 보다는 저온에서 가바함량이 현저히 높은 경향을 나타냈다.

Table 8-4. Changes in gaba content of gaba tea extract as influenced by storage conditions. Gaba contents are expressed as $\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}\cdot \text{mg}$.

Storage condition		Months in storage						
Temp (°C)	Packing status	0	2	4	6	8	10	12
Ambient temp	Sealed		7.7±10.3	7.3±12.6	6.94±10.3	6.0±12.0	5.9±10.2	5.6±10.6
	Close with clip		7.9±16.4	7.0±19.4	6.6.6±8.1	5.8.0±9.8	5.4.±10.2	5.2±9.4
	Clip+silica gel		7.4±12.0	7.1±19.0	6.8±9.2	6.0±8.2	5.6±9.8	5.0±8.8
			7.4±0.8					
0°C	Sealed		7.5±14.0	7.3±13.0	7.0±10.8	6.6±12.1	6.5±10.8	6.6±10.4
	Close with clip		7.4±13.6	7.4±11.2	6.8±10.0	6.1±10.2	6.0±11.4	6.0±9.5
	Clip+silica gel		7.6±13.4	7.7±9.6	6.4±10.2	6.5±9.4	6.2±10.6	6.1±8.0

가바차 저장중 PPO 활성 (Table 8-5)에서, 상온에서 처리별 효소활성은 저장 6개월에 최대치를 나타낸 다음 저장기간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타냈다. 저온에서도 효소 활성은 저장 8개월에 최대치를 나타낸 다음 감소하는 경향을 나타냈다. 저장중 찻잎이 변색되거나 주요 영양소함량이 감소하는 것은 PPO 활성에 의한 산화 결과로 알려져 있는데 저장중 온도를 낮추거나 밀봉 포장은 PPO 활성 억제로 찻잎의 신선도를 높여 줄 것으로 사료된다.

Table 8–5. Changes in PPO activity of gaba tea extracts as influenced by storage conditions. PPO activities are expressed as unit per minute.

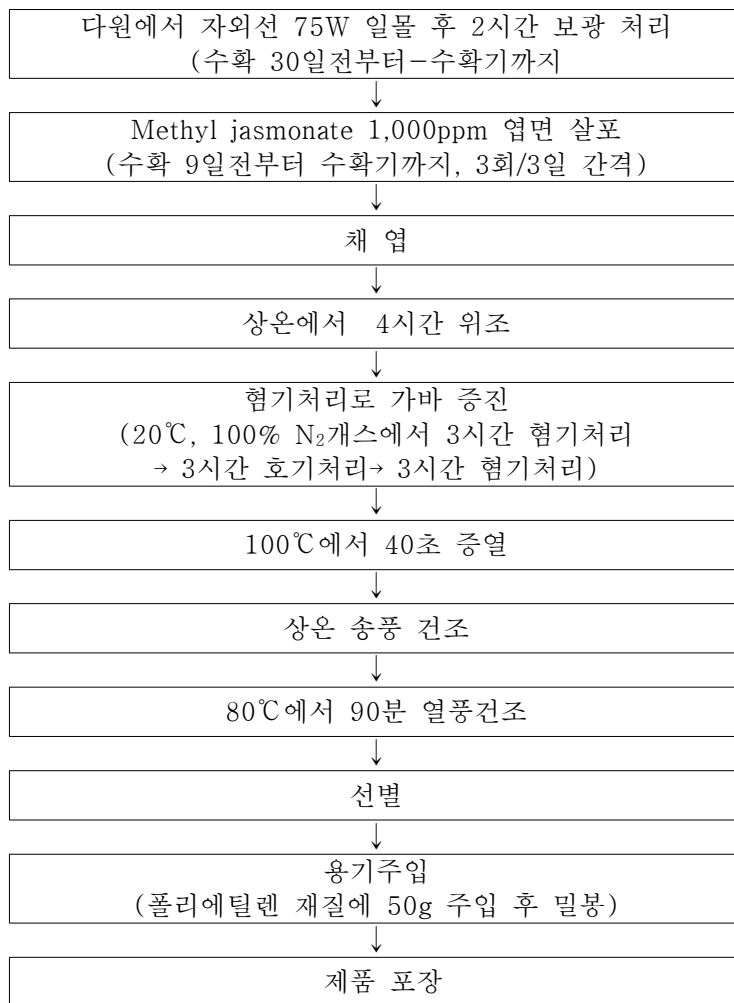
Storage condition		Months in storage						
Temp (°C)	Packing status	0	2	4	6	8	10	12
Ambient temp	Sealed	0.93±0.13	1.03±0.13	1.12±0.14	1.00±0.10	0.88±0.09	0.68±0.06	
	Close with clip	0.81±0.08	0.90±0.09	1.40±0.10	1.30±0.16	1.04±0.09	0.72±0.06	
	Clip+silica gel	0.96±0.09	0.87±0.09	1.48±0.12	1.32±0.12	1.06±0.08	0.88±0.08	
0°C		0.86±0.09						
	Sealed	0.61±0.07	0.73±0.08	0.80±0.08	0.90±0.10	0.80±0.08	0.56±0.04	
	Close with clip	0.56±0.06	0.65±0.08	0.94±0.09	1.22±0.11	0.90±0.08	0.86±0.05	
	Clip+silica gel	0.76±0.08	0.80±0.06	0.88±0.8	1.25±0.14	1.12±0.06	0.91±0.08	

제 9 장 가바차 시제품 생산 및 유통

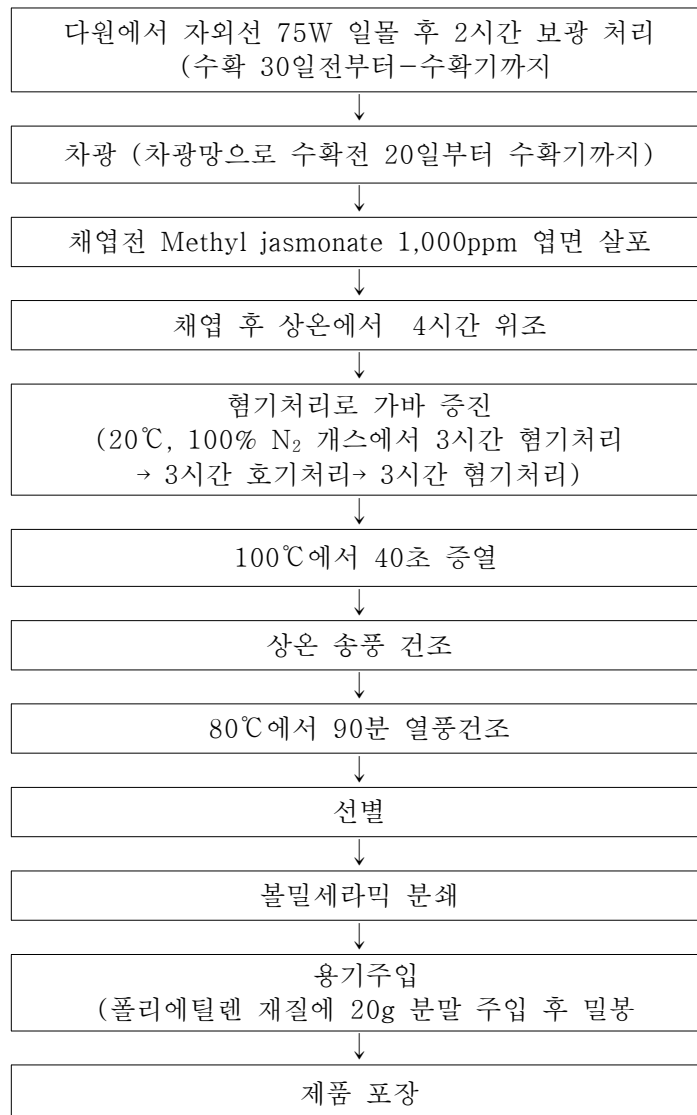
제 1 절 시제품 생산 공정 개발

다원과 제다전 혐기처리를 통한 가바증진 체계를 구축한 다음 가바차 시제품 개발을 위한 제다 공정을 요약해서 도식으로 나타내면 다음과 같다.

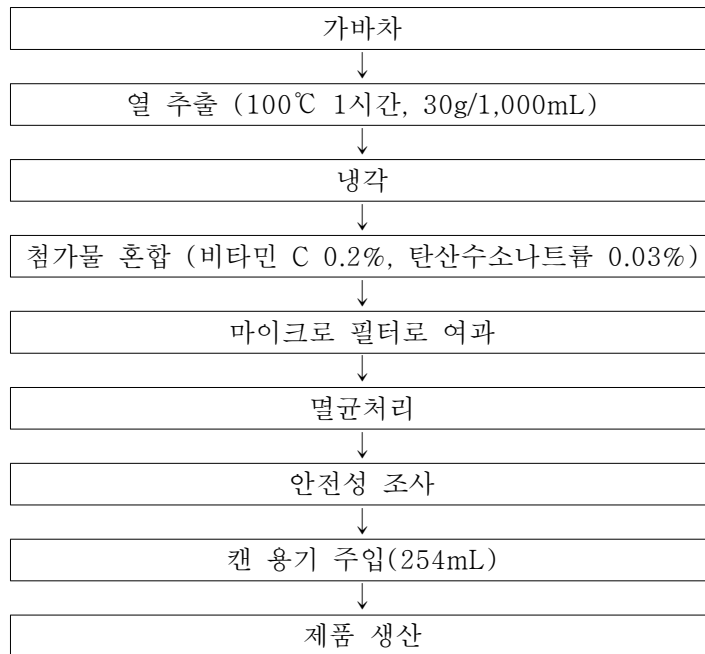
□ 가바차 및 티백 제다공정



□ 가바가루차 체다 공정



□ 가바음료 생산 공정



가바차 음료 제조시 차 투입량 결정을 위해 차를 10, 15, 25, 30, 35, 40g/L 넣고 100℃에서 3분간 추출한 다음 주요특성과 맛을 조사하였다. 차투여량이 많을수록 pH와 Hunter 'L'값은 낮아지는 경향을 보였으나 산도와 당도는 크게 높아지는 경향을 나타냈다. 맛에서도 차투여량이 적거나 지나치게 많은 경우 쓴맛, 단맛, 짠맛, 향 불균형으로 맛이 나빠지는 경향을 나타냈는데 가장 좋은 맛은 30g/L 이었다.

제 2 절 시제품 생산

가바차 제조공정을 확립해서 생산한 시제품은 Fig. 9-1에 나타냈다. 가바차는 용량이 50g이었고 가바 가루차는 20g이었다. 가바 티백은 1.5g 용량으로 해서 25개를 소형 상자에 넣고 포장하였다. 가바 음료는 275mL로 해서 캔음료로

생산하였다. 용기와 시장에서 유통되고 있는 것을 사용하였고 디자인은 차 특성에 맞게 개발하였다. 생산한 가바차 주요 영양소 (Table 9-1) 함량에서, 칼로리, 나트륨, 지방은 함유되어 있지 않았고 전 페놀함량은 38mg, 가바함량은 8.6mgg^{-1} D wt로 나타났다. 가바차가 상품화된 일본에서도 지금까지 가바함량에 대한 기준이 설정되어 있지 않는데 우리나라에서도 조만간 가바차의 가바함량에 대한 기준설정이 필요하다. 이러한 기준이 설정 될 때 기능성 가바차 상품화가 조기에 실현될 것으로 판단된다.



Gaba Tea



Gaba Tea bag



Gaba Powder



Gaba Can & Drink

Fig. 9-1. Representation of various kind of gaba tea products such as gaba tea, tea bag, gaba tea powder and drink from left to right.

Table 9-1. Nutrition facts of gaba tea and gaba drink.

Nutrition facts	Gaba tea	Gaba drink
	Content (mg·g ⁻¹ D wt)	Content (mg·100mL ⁻¹)
Calorie	0	0
Na	0	0
Fat	0	0
Total phenolics	38.0	45.2
Gaba	8.6	12.1

제 3 절 경제성분석

기능성 가바차를 생산하기 위해서는 다원에서 광 처리 시설과 함께 제다전 혐기처리가 필요한데 여기에는 시설비가 투자된다. 가바차는 부가가치가 높지만 상품화를 위해서는 이러한 제반 시설비를 포함한 경제성분석이 필요하다.

다원에서 녹차와 가바차 생엽 수량은 각각 588와 576kg 10a¹로 차이를 나타내지 않았다 (Table 9-2). 생엽 판매에 따른 조수입 (Table 9-3)은 1,470천원, 2,304천원/10a 으로 녹차 보다는 가바차에서 64% 더 높았다. 이는 일반 녹차 생엽가격이 2,500원/kg 수준인데 비해 기능성이 가미된 가바차 생엽가격이 4,000원/kg으로 높았기 때문이다. 경영비(Table9-4)에서 녹차는 740천원/10a 이었으나 가바차는 광 처리시설과 신호전달물질처리, 전기료가 추가로 부과되어 1,400천원/10a으로 높았다.

조수입에서 경영비를 뺀 소득은 녹차가 730천원/10a인데 비해 가바차는 904천원/10a 으로 가바차가 녹차에 비해 24% 높게 나타났다. 따라서, 녹차 생산 과잉으로 판로를 찾지 못하고 재고가 매년 큰 폭으로 누적되고 있는 이때 판매처를 안정적으로 확보하면서 부가가치가 높은 가바차를 생산해서 판매시 농가소득 증대에 크게 기여하리라 본다.

Table 9-2. Comparison of leaves production amount between green tea and gaba tea.

Item	Green tea	Gaba tea
Leaves production (kg/10a)	588	576
Index	100	98

Table 9-3. Comparison of total farmer income between green tea and gaba tea.

Item	Green tea	Gaba tea	Reference
Total income (1,000won/10a)	1,470	2,304	Retail price
Index	100	164	

Table 9-4. Comparison of input expense between green tea and gaba tea farm.

	Item	Green tea	Gaba tea
Input expense (1,000won/10a)	Labor cost	300	300
	Material cost	440	490
	Instrument cost	0	550
	Electric expense	0	60
	Total	740	1,400
Index		100	190

제 4 절 시제품 개발 설명회 및 소비자기호도

가바차와 가바 음료 생산 공정을 확립해서 이들 시제품을 생산한 다음 신제품 개발 세미나와 함께 시음회를 개최하였다(Fig. 9-2). 참여기업, 차 관련 산업체 종사자, 차 문화원과 교육기관, 식품 전문가 등이 참석한 가운데 가바차 연구 결과 발표회와 함께 가바차 상품화방안에 대해 진지한 토론과 질의 응답이 있었다. 세미나 후 개발된 가바차, 말차, 티백, 가바 음료 시음회와 함께 관능 평가도 실시하였다.

참석자들은 녹차 생엽값이 폭락하고 있는 상황에서 기능성 차 개발은 시기적으로 적절하고 차 부가가치를 높일수 있는 기술이라 사료되어 지대한 관심을 가졌다. 가바차는 제다전 험기처리를 하고 이 과정에서 이취가 발생하는 경향이 있는데 이번에 개발된 제품은 맛과 외관에서 녹차와 차이가 없는 것으로 평가되었다.

차 재배농가와 참여업체 담당자는 차 소비가 기능성을 중심으로 증가하고 있기 때문에, 차가 흔히 말하는 만병통치에 효과가 있다고 하기 보다는 1-2가지 기능성에 초점을 맞추어 연구해 주기를 바랐다.

차는 채엽시기에 따라 첫물, 두물, 세물차로 구분하고 차 품질과 가격은 채엽시기에 따라 큰 차이를 나타낸다. 오늘날 차 과일 생산으로 두물과 세물차는 생산량의 10-50% 정도만 유통되고 나머지는 가격이 맞지 않아 유통되지 못하고 재고 물량으로 남는다. 가바차는 기능성을 지닌 차이기 때문에 첫물차 보다는 두물이나 세물차를 활용해서 상품화 함으로써 차 활용 면에서 이용 가치가 높고 부가가치도 그 만큼 더 높일 수 있다.

소비자 기호도조사에서, 앞으로 개발할 가바차는 기능성을 지닌 고급차와 간편성을 갖춘 티백제품으로 고급화 해 줄것을 가장 많이 바라고 있었다. 그 다음으로는 가바음료, 가바 가루차순이었다(Table 9-5).

가바차 용량은 차 소비추세 다양화와 함께 핵가족인 점을 고려 50g 용량으로 하는 것이 바람직하다는 의견이 많았고 가격은 35,000-40,000원 내외가

적당한 것으로 조사되었다(Table 9-6). 이 정도 가격이면 일반 녹차 가격이 전연 없거나 20,000원 내외인 점을 고려하면 농가 소득 증대에 크게 기여하리라 본다.

소비자 구매도 조사에서, 가바차가 시판되면 즉시 구입하겠다는 소비자가 50%로 매우 높게 나타났고 구입을 고려 해 보겠다는 소비자도 30%를 나타내 가바차 소비 전망은 매우 높게 나타났다.

참여기업과 함께 생산한 가바 티백은 간편성과 함께 맛이 우수해 향후 상품화를 위해 기존 제다공정에 혐기처리시설을 설치하는 방안에 대해 적극 검토키로 하였다. 기능성 차에 맞는 새로운 디자인과 상표 개발의 필요성도 제기되었다.

가바함유 음료는 가바가 갖고 있는 학습능력 향상과 간편성 증진으로 일상 생활이 바쁘고 스트레스가 많은 수험생을 위해 상품화하는 것이 바람직하다는 의견이 많이 제시되었다. 앞으로 제품 상품화를 위해 기술이전 협약 업체를 적극 물색해서 상품화할 계획이다.

가바말차는 분말 가루를 그대로 마시기 때문에 가바 섭취를 위해 아주 효과적인 제품이다. 제다진 혐기 처리를 최적 조건에서 실시하기 때문에 외관이 나쁘거나 이취가 발생하는 등의 문제점은 없었다. 따라서, 이들 차도 조만간 상품화 희망 업체를 물색해서 기술이전을 통해 제품을 생산, 상품화할 계획이다.



Fig. 9-2. Presentation of gaba tea seminar held in Mokpo National University and panel test of those teas by consumer.

Table. 9-5. Favorite score of different gaba tea commodities by consumer.

Kind of Product	Consumer favorite (%)
Gaba tea	36
Tea bag	32
Powder tea	12
Gaba drink	20

Table 9-6. Expectation of retail prices of gaba tea by consumer.

Price range (won)/50g	Consumer favorite(%)
25,000-30,000	10
30,000-35,000	18
35,000-40,000	44
40,000-45,000	22
45,000-50,000	6

참고자료 및 인용 문헌

- Banerji, M.A., N. Faridi, R. Atluri, R.L. Chailken, and H.E. Lebovitz. (1999). Body composition, visceral fat, leptin, and insulin resistance in Asian men. *J Clin Endocrinol Metab.* 84:137-144.
- Bronneer, W.E., and G.R. Beecher. (1998). Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. *J Chromatog.* 805:137-142.
- Choo, J.J. (2000). Anti-obesity of Kochujang in rats fed on a high-fat diet. *Korean Nutrition Society* 33:787-793
- Daniel, G. R., F. Manfred, V.L. Schlachter, and P. Weber. (2003). Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rat. *Nutritional Biochemistry.* 14:326-332.
- Despres, J.P. (1993). Abdominal obesity as important component of insulin-resistant syndrome. *Nutrition.* 19:452-459.
- Dobiasova, M. (2004). Atherogenic index of plasma [log(triglycerides /HDL-cholesterol)]: theoretical and practical implications. *Clin Chem.* 50:11113-11115.
- Fenster, L., B. Eskenazi, G.C. Windham, and S.H Swan. (1991). Caffeine consumption during pregnancy and fetal growth. *Am. J. Pub. Health.* 81:458-461
- Friedewald W.T., R.I. Levy, D.S. Fredrickson. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 18:499-502.
- Frohlich J., and M. Dobiasov .(2004). Fractional esterification rate of cholesterol and ratio of triglycerides to HDL-cholesterol are powerful predictors of positive findings on coronary angiography. *Cln.*

- Chem. 50:1113–1115.
- Goldsteine, A., R. Warren, and S. Kaizer. (1965). Psychotropic effects of coffee I. Individual difference in sensitivity of caffeine-induced wakefulness. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 419: 156–159.
- Graham, H.N. (1992). Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Preventive Medic.* 21:334.
- Haglund O., R. Loustarinen, R. Wallin, I. Wibell, and T. Saldeen (1991). The effect of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin. *Eur J Nutr.* 121:165–172.
- Jin, H.H., J.L. Yang, J.H. Chung, and Y.H. Kim. (2004). Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fad rats. *Korean Soc Food Sci Nutr.* 33:47–51.
- John, G.S. and J. F. Thompson. (1972a). Anaerobic accumulation of aminobutric acid and alanine in radish leaves. *Plant Physiol.* 49:572–578.
- John, G.S. and J. F. Thompson. (1972b). In vivo and in vitro studies on aminobutyric acid metabolism with the radish plant. *Plant Physiol.* 49:579–584.
- Choo. J.J. (2003). Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through β -adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose. *Nutritional Biochemistry.* 11:671–676
- Jeon. J.R., J.Y. Kim, K.M. Lee, and D.H. Cho. (2005). Anti-obese effects of mixture contained pine needle, black tea and green tea extracts. *Korean Appl. Biol. Chem.* 48:375–381.
- Khokhar, S., D. Venema, P.C.H. Hollman, M. Dekker, and W. Jongen.

- (1997). A RP-HPLC method for the determination of tea catechins. *Cancer Letters*. 114:171-172.
- Khokhar, S., and S.G.M. Magnusdottir. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J. Agric. Food Chem.* 50: 565-570.
- 김상희, 한대석, 박종대. (2004). 보성산 녹차의 채엽시기에 따른 화학성분 변화. *한식지*. 36:542-546.
- Lee E.H, I.S. Kim. (2000). The study of associations among serum lipids, anthropometric measurements, food intake frequency and nutrient intake in healthy adults. *Kor J. Com. Nutr.* 5:642-653.
- Lee, M.K. and Y.S. Park. (2007a). Changes in taste quality and catechins content in tea extracts according to elapsed time an ambient temperature. *Kor. Soc. for Hort. Sci.* 48:298-302.
- Lee, M.K. and Y.S. Park. (2007b). Changes in sensory quality and catechins content as influenced by infusion temperatures and times. *Kor. Soc. for Hort. Sci.* 48:422-428.
- Lee, S.C., H.G. Kim., G.S. Kim, S.P. Lyu, G.U. Jeong, and D.S. Jo., Effect of green-tea polyphenol and vitamin complex on antioxidative enzyme activity during exercise in rats. *The Korea Journal of Exercise Nutrition*. 16:285-289.
- Lee, S.E, J.H. Kim. (2004). Comparison of dietary intakes and plasma lipids levels in diabetes and cholesterol elderly, *Kor J. Community Nutr.* 9:98-112
- Lin, J. K., C.L. Lin, Y.C. Liang, S.Y. Lin-Shiau., and I.M. Juan. 1998. Survey of catechins, gallic acid, and methyl xanthines in green, oolong, and black teas. *J. Agric. Food Chem.* 46:3635-3642.
- Narayan, V.S., and P.M. Nair. (1990). Metabolism, enzymology and

- possible role of 4-aminobutyrate in higher plant. *Phytochemistry*. 29:367-375.
- Noriko, K., K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu, and T. Kimura. (2007). Effect of soaking and gaseous treatment on gaba content in germinated brown rice. *J. Food Engineering*. 78:556-560.
- Nakagawa, M. (1975). Contribution of green tea constituents to the intensity of taste element of brew. *Japan Shokuhin Kogyo Gakkaishi Rep.* 22: 59-64.
- Pasha, C. and G. Reddy. (2005). Nutritional and medicinal improvement of black tea by yeast fermentation. *Food Chemistry*. 89:449-453.
- Park, Y.S. (1999). Carbon dioxide-induced flesh browning development as related to phenolic metabolism in 'Niitaka' pear during storage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:567-570.
- 박장현, 한성희, 신미경, 박근형, 임근창. (2001). 혐기처리 조건에 따른 녹차의 주요성분 변화. *한약잡지*. 9:275-279.
- 박장현, 한성희, 신미경, 박근형, 임근철. (2002). 기능성 Gaba 차 고혈압 강하효과. *한잡지*. 10:37-40.
- Price, K.R., M.J.C. Rhodes and K.A. Barnes. (1988). Flavonol glycoside content and composition of tea infusions made from commercially available teas and tea products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2547-2522.
- Price, M.L., and L.G. Butler. (1997). Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Food Chem.* 25:1268-1277.
- Regestine, Q,R (1981). Pathological sleepiness induced by caffeine. *Am. Med.* 588:425-249.
- Rosenfeld, L. (1989). Lipoprotein analysis. *Arch Pathol. Lab. Med.* 113:1101-1110.
- Seidell, J.C., L. Perusse, J.P. Despres, C. Bouchard. (2001). Waist and hip

- circumferences have independent and opposite effects on cardiovascular disease risk factors: the Quebec Family Study. *Am J Clinl Nutr.* 74:315–321.
- Sharma, V., A. Gulati, S.D. Ravindranath. (2005). Extractability of tea catechins as a function of manufacture procedure and temperature of infusion. *Food Chem.* 93:141–148.
- Sok, S.R.(2007). An analytic study on influencing factor for the number of smoking cigarette per day in adult me. *J Koren Acad Mental Health Nurs.* 6:113–120.
- Song N.B., L.Y. Jeong, H.J. Hyun, and Y.H. Kim. (2002). Effects of green tea consumption on serum lipid profiles, *The korea Nutrition Society.* 35:854–862.
- Suematsu, S., Y. Hisanobu, H. Saigo, R. Matsuda, and Y. Komatsu. (1995). A new extraction procedure for determination of caffeine and catechins in green tea. *Japan Shokuhin Kagaku Kaishi. Rep.* 42:419–424.
- Terada, S., Y. Maeda, T. Masui, Y. Suzuki, and K. Ina. (1987). Comparison of caffeine and catechin components in infusion of various tea (green, oolong, and black teas) and tea drinks. *Japan Shokuhin Kogyo Gakaishi. Rep.* 34:20–27.
- Tonychou, M.D. (1981). Wake up and smell the coffee—caffeine, coffee and the medical consequences. *West J. Med.* 157:533–544.
- Xinguo, S., J. Duan, Y. Jiang, J. Shi, and Y. Kakuda. (2006). Effects of soaking conditions on antioxidant potentials of oolong tea. *J. Food Composition and Analysis.* 19:348–353.
- Wang H.F. and K. Helliwell. (2000). Determination of flavonols in green tea and black tea leaves and green tea infusions by liquid

- chromatography. *Inter. Food Res.* 34:223–227.
- Wang, H.F., Y.S. Tsai, M.L. Lin, A.S. Ou. (2006). Comparison of bioactive omponents in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chem.* 96:648–653.
- Wang, L.F., D.M. Kim, and C.Y. Lee. (2000). Effect of heat processing and storage on flavonols and sensory qualities of green tea beverage. *J. Agric. Food Chem.* 48:4227–4232.
- Yuanyuan, H., J. Sheng, F. Yang, and Q. Hu. (2007). Effect of enzyme inactivation by micriwave and oven heating on preservation quality of green tea. *J. Food engineering.* 78:687–692.
- Yu, Z., K. Chen, S. Zang, and I Ferguson. (2003). The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biolog&Technol.* 28:67–74.