국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발

The Development of Nutraceutical Tea by Native Camellia(*Camellia japonica*) in Korea

동 신 대 학 교

농 림 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003. 8. 22.

주관연구기관명 : 동신대학교
총괄연구책임자 : 이 숙 영
세부연구책임자 : 이 숙 영
세부연구책임자 : 조 수 인
연 구 원 : 차 영 주
연 구 원 : 박 민 희
연 구 원 : 이 장 원
연 구 원 : 부 희 옥
연 구 원 : 황 은 주
연 구 원 : 권 수 정
연 구 원 : 백 종 오
연 구 원 : 문 명 님
협동연구기관명 : 전남 농업기술원 차시험장
협동연구책임자 : 김 주 희
참 여 기 업 : 보성녹차 영농조합법인
참여기업책임자 : 임 화 춘

요 약 문

Ⅰ. 제 목

국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

동백속 식물(Camelliae)은 동백나무과에 속하는 상록교목으로 그 중, 동백나무(*Camellia japonica*)는 우리나라의 온대 남부의 해안 도서인 고창, 완도, 강진, 나주, 여수 등의 전남지역을 중심으로 충남, 제주지역에 자생·식재되어 있으며, 특히 전남지역이 전국 식재 면적의 67%를 차지하고 있다. 그 동안 동백나무는 주로 관상수와 같은 원예자원으로 이용되어 왔고, 부위별로는 고품질 지방이 함유되어 있는 종실이 전통적으로 식용유와 화장유의 자원으로, 그리고 줄기는 고급 숯의 원료로 활용되어 왔다. 화전으로 식용되고 있는 꽃은 한의학에서의 약물학 서적인 「본초강목」에서 약재명으로 山茶花로 표기하고 있으며 凉血·止血·散瘀·消腫 등의 효능이 있어 吐血·鼻出血·血崩·腸風下血·血痢·血淋·打撲傷·火傷 등을 치료하는데 사용되어지고 있다. 최근의 보고된 연구 결과에 의하면 동백엽과 과피 등도 항원충작용 및 진경작용, 치석형성 억제효과, 알콜 흡수 억제, 미백 작용, 소염작용과 HIV-1 protease 억제활성 등과 같은 약리활성이 있고, 이러한 생리활성이 있는 잎 부위는 한국과 일본 등지에서 예로부터 어린 엽을 차의 재료로 사용하기도 하였다.

동백나무속에 속하는 식물들 중에서 보고된 약효 성분들 중 중요한 것들로는 purine base인 caffeine, theobromine, theophylline 등과, saponin glycoside, flavonoid, tannin 등이 알려져 있다. 동백나무의 경우 꽃에는 leucoanthocyanin, anthocyanin 등이 함유되어 있다. 과실에는 지방유, camellin, tsubaki-saponin 및 tsubaki-saponin의 aglycon인 camelliagenin A·B·C가 함유되어 있고 잎에는 l-epicatechol, d-catechol 등이 함유되어 있다. 이상과 같이 동백은 주요 약효성분을 다량 함유하고 있고 생리·약리활성이 다양하지만, 부위별로 이를 식용화하기 위한 연구는 국내·외를 막론하고 거의 이루어지지 않은 실정이다. 그러나, 동일속

인 차나무(*Camellia sinensis*)는 기능성 면이나 제다 방법에서 많은 연구보고가 이루어져 있고 제품 또한 다양하게 개발되어 있다.

본 연구의 수행에 관한 기술적 측면에서의 중요성과 필요성에 관하여 논하자면 본 연구를 통하여 동백나무의 제다에 알맞은 신초부위 스크리닝 및 잎의 적정 제다 시기 구명, 동백나무의 부위별 제다 활용 가능성 검토, 동백 엽과 꽃을 이용한 제다공법(발효차, 불발효차)의 확립 및 약리·생리활성 검색을 통한 기능성 구명이 가능하다는 것이다. 또 경제·산업적 측면에서 동백차액 추출물 제조 가능성 연구, 동백차의 대규모 생산가능성 연구, 신차(동백엽차, 화차) 개발에 의한 차문화 다양화에 기여, 동백속 식물의 차 자원화를 통한 재배 농가의 생산성, 수익성 향상에 기여 및 미개발된 지역의 자생식물 중, 동백속을 생약 유전자원 및 유용물질자원으로 발굴이 가능하다. 이러한 연구는 미개발된 지역특산 식물의 자원화에 관한 연구 경쟁력을 높이고 이와 함께 지역 경제를 활성화할 수 있는 방안의 모색이 필요하다. 향후 동백에 관한 연구 결과의 Data base 구축 및 지역 업체에 의한 식용 상품화, 나아가 약물 자원으로 개발이 된다면 지역 경제의 발전은 물론 자원활용으로 인한 국가 경쟁력이 높아질 것이다. 마지막으로 사회·문화적 측면에서 본다면 도화의 자원화를 통하여 도화에 대한 지역주민의 관심을 고조시켜 결과적으로 재배농가의 의식 고취에 기여하게 될 것이다. 또한 국내외적인 식물문화의 다변화와 식물자원의 Nationalism 및 국제무역 환경의 변화에 부응할 필요성을 재인식시킬 수 있다.

사회적으로 관상용으로만 여겨져 기타의 자원화가 진행되지 못했던 동백이 유용한 식용자원으로서 효과적으로 이용된다면 道花·市花 등으로 지정한 행정 구역에서의 관심이 증대될 뿐만 아니라 상품화를 위한 재배단지 등의 조성이 활성화 될 것이며, 이를 바탕으로 동백을 주제로 한 각종 이벤트 사업을 창출하게 되고, 소비자의 취향에 맞는 다양한 차 제품을 생산 보급하여 국민의 정서함양과 건강식품으로서 소비촉진과 농가 소득증대에 기여하리라 사료된다.

따라서 이와 같은 목표와 기대감으로 본 연구에서는 1년중 봄가지와 여름가지에서 3~4회씩 신초를 수확할 수 있는 동백엽과 한약재로 이용되고 있는 산다화(꽃봉오리)를 개화시기별로 채취하여 유효성분과 생리·약리활성을 검색하여 그 기능성에 적합한 차로서의 개발 가능성을 검토하고자 실시하였다.

또한, 기존의 한의학 서적을 바탕으로 병리적인 상태를 개선하는 효능이 있고,

성미(性味)가 동백과 적합한 한약재들을 수종 선정하여 동백엽차 및 화차와의 혼합조건을 확립하고 그 기능성을 검증하여 녹차 혼합형 동백차와 생약 혼합형 동백차 개발에 목적을 두고 본 연구를 수행하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

구분	연구개발목표	연구개발 내용 및 범위
1 차 년도 (2001)	1. 동백엽차와 화차의 주요성분분석	◉ 일반 성분의 분석 ◉ 카페인・탄닌・Catechin・비타민 C 등의 정량 ◉ 유리아미노산 분석 ◉ 핵산 관련물질의 정량 ◉ 유리당의 정량
	2. 생리・약리활성 탐색	❀ 항미생물 활성 테스트 ❀ 세포독성테스트 ❀ Chemosensitizing effect ❀ 혈전용해 테스트, 항산화활성 테스트 ❀ 간기능 장애에 미치는 영향 ❀ HL-60에 대한 Anti-proliferate effect ❀ 안전성 테스트
	3. 차 제조를 위한 적합 조건 확립 및 관능 테스트	◉ 부위별 적정제다시기 및 품질 특성 규명 ◉ 동백차 및 화차의 제조공정 확립 ◉ 가루차 제조를 위한 차광 및 제다 ◉ 관능검사
2 차 년도 (2002)	1. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발	• 녹차를 이용한 혼합제다 조건 확립 -적정 배합비율 검토 -최적 혼합제다 조건 확립 • 생약을 이용한 혼합제다 조건 확립 -최적 혼합제다 조건 확립 • 유형별 동백차 제다 및 제품화 -용기(캔타입)형, 티백형, 분말형 차 제조 • 품질평가 및 관능테스트
	2. 혼합차의 주요성분 분석 및 생리활성 검색	• 일반성분의 분석 • 카페인・탄닌・Catechin・비타민 C 등의 주요성분분석 • 항산화 활성의 검증 • Chemosensitizing effect • 혈전용해 효과 • 세포독성테스트 • 항미생물활성
	3. 생약을 이용한 혼합 조건 확립 및 기능성 검증	• 적정 배합생약 및 배합비율 검토 • 혈청 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향 • 뇌혈류량에 미치는 영향 • 차추출물이 뇌세포에 미치는 영향 • 혈관에 미치는 영향

Ⅳ. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 동백차의 주요성분분석, 효능탐색 및 제다조건 확립

가. 동백엽차와 화차의 주요성분분석

1) 일반성분 분석을 실시한 결과 덖음화차를 제외하고 6%이하의 수분 함유량을 보여 차 제조를 위한 기본 조건을 충족시키고 있다고 사료된다. 조단백은 신엽덖음차에, 조지방은 성엽덖음차에, 조회분은 신엽발효차에 다량 함유되어 있었다.

2) 카페인 함량은 성엽덖음차(0.38%)에서 가장 낮게 나타났으며 성엽찐차가 5.18%로 가장 많았으나 전체적으로 볼 때 카페인의 함량은 녹차에 비해 낮았다.

3) 카테킨은 제다된 모든 차에 다량으로 함유되어 있었고 특히 신엽발효차에 28.6%가 함유되어 있었다.

4) 차의 맛과 색, 향의 결정적 요인인 탄닌은 신엽덖음차에 9.57%로 가장 높게, 성엽덖음차에 4.61%로 가장 낮게 함유되어 있었다.

5) 테아닌은 덖음화차에 1074mg/100g으로 다량 함유되어 있었으며 그 양은 신엽덖음차와 신엽발효차의 약 2배 정도였다.

6) 비타민 C는 화차에 227.7㎎/100g으로 가장 많은 양이 함유되어 있었다.

7) 유리아미노산은 성엽찐차와 성엽덖음차에 glutamic acid와 aspartic acid가, 신엽덖음차와 신엽발효차에는 asparagine이 다량 함유되어 있어 차맛의 증진에 기여할 것으로 사료된다.

8) 신엽덖음차와 신엽발효차에 6종의 핵산물질이 함유되어 있었고, 그 중 신엽덖음차에 GMP(7.86μmol/g)와 Hypoxanthine(8.57μmol/g), AMP(12.67μmol/g)이 다량으로 나타났다.

9) 유리당은 모든 차에서 4종(Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose)이 검출되었으며 특히 덖음화차에 다량의 Glucose(65.5unit)와 Fructose(59.6unit)가 함유되어 있었다.

나. 생리· 약리 활성 탐색

1) 2종의 박테리아와 2종의 진균에 대하여 항미생물 활성을 테스트한 결과, 동백의 경우 신엽덖음차가 대조군에 비하여 *P. vulgaris*에 대한 항균활성을 보였고, 성엽과 수피의 추출물은 *B. subtilis*의 생육을 완전히 억제시켰다.

애기동백의 경우에는 이 2종의 박테리아에 대해 동백추출물보다 훨씬 탁월한 항균효과를 나타내었다. 진균인 *C. albicans*와 *T. beigelii*에 대한 생육저해는 동백 신엽덖음차에서 높게 나타났으며 애기동백추출물은 강한 항균활성 외에도 2종의 진균에 대해서도 동백보다 강한 항진균활성을 보였다.

2) 동백 추출물이 암세포에 미치는 독성 효과를 살펴본 결과, 동백의 생엽, 수피 및 화차 추출물이 각각 200, 230, 320㎍/ml의 농도에서 백혈병(AML) 세포주의 증식을 억제 시켰다.

3) 백혈병 (AML) 세포주를 이용하여 동백추출물의 화학요법감작제 (Chemosenster)로서의 가능성 여부를 조사한 결과 신엽덖음차와 찐차가 내성세포주인 AML-2/D-100의 증식을 강하게 억제시켰다.

4) 혈전 용해 테스트를 실시한 결과 신엽덖음차, 신엽발효차, 덖음화차에서 매우 강한 단백질 분해활성이 나타났으나 혈전분해 활성에서는 유의할만한 활성이 나타나지 않았다.

5) 최종농도 200㎍/㎖일때 동백화차의 메탄올추출물, 덖음차와 찐차의 DW 추출물에서 AML세포에 대하여 각각 20%의 항산화 활성이 나타났다.

6) 간손상이 유발된 생쥐에 동백의 메탄올 추출물을 투여한 후, AST와 ALT의 수치를 측정한 결과 신엽발효차로 처리된 생쥐의 암컷과 수컷 모두에서 ALT수치가 감소되므로서 간 손상이 억제됨을 증명하였다.

7) 인간의 혈액암 세포인 HL-60에 대한 anti-proliferation 효과를 관찰한 결과, 동백 생엽의 메탄올 추출물이 250㎍/㎖에서 HL-60의 증식을 억제시켰으며, 아폽토시스가 일어났고 반응시간이 경과함으로서 PARP cleavage가 증가되었다.

8) 동백엽 발효차와 화차의 섭취로 인한 생체 독성 유무를 단회 투여로 인한 단기 독성과 반복 투여로 인한 장기 독성 시험으로 나누어 실시한 결과, 실험 동물인 생쥐(ICR, 25±2 g)에 추출물을 각기 100 및 400 ㎎/㎏ body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 저농도 및 고농도의 추출물 투여로 인한 단기 독성은 나타나지 않았다. 장기 독성 실험을 위해 3개월 동안 음용수에 동백 엽차와 화차 추출물

을 녹여 실험동물이 자유로이 섭취하도록 하였는데 이 실험에서도 역시 독성은 나타나지 않았다. 그러므로 동백의 추출물이 생리·약리 활성을 보이지만 독성은 없는 것으로 확인되었다.

다. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능테스트

1) 동백차의 제조

(1) 동백차 제조를 위한 제다전 생육 및 품질과 엽위별 성분 함량

(가) 제다전 동백 신초의 엽수는 평균 5.2매, 신초장은 14.9cm, 마디길이는 1.9cm로 차제조에 적합하였으며, 이보다 잎이 크면 제다 후 제품의 크기가 크고 말림성이 균일하지 못하는 원인이 된다.

(나) 엽위별 덖음차와 찐차의 제다 후 품질 및 성분함량은 제다 방법과 엽위간에 큰 차이가 없었으며, 외관과 내질은 각각 1~3엽에서 양호하였다,

(다) 엽위별 성분 함량은 총질소는 지엽(止葉)에서 4.88%, 총유리아미노산은 지엽과 줄기에서 각각 2.12, 2.27%로 가장 많았다. 카테킨은 제1엽에서 17.8%, 카페인은 지엽(止葉)에서 3%, 비타민C는 엽위가 전개 될수록 증가하는 경향이었다.

(2) 덖음차

(가) 덖음 시간이 많이 소요되며 유념시 잎이 잘 말리지 않아 제품의 균일도가 떨어졌다.

(나) 외관형태는 잎의 말림정도가 균일하지 않아 품질이 좋지 않았고 제품의 색은 갈색이 많았으며 향, 수색, 맛이 약간 저하되었다.

(3) 찐차

(가) 제다시 짧은 시간에 세포가 불활성화가 되지만, 수분의 과도한 함유가 문제가 된다. 제품의 색은 덖음차 보다 녹색에 가까웠고 내질은 수색과 맛에서 양호하였다.

(나) 총질소는 4.24%, 총유리아미노산 함량 1.01%, 카테킨 17.7%, 카페인 2.6%, 비타민C 75.7mg/ml 였다.

(4) 반발효차

(가) 잎이 잘 말아져 제품의 외형은 양호한 결과를 얻었다. 품질의 외형은 갈색이었고 맛은 양호하였다.

(나) 카페인과 비타민 C의 함량은 2.84%, 75.23mg/ml로 완전발효차 보다 높은

편이었으나 총질소와 카테킨은 4.13%, 15.33%로 낮았다.

(5) 완전발효차

(가) 동백잎을 시들게하여(발효) 차를 만듦으로서 향과 수색이 반발효차 보다 양호하였다.

(나) 총질소 함량은 4.21%로 반발효차 보다 높았고, 총유리아미노산과 비타민C의 함량은 각각 0.24%와 52.4mg/ml로서 반발효차보다 낮은 반면 카페인은 2.88%로서 많은 양이 함유되어 있었다.

2) 화차 제조

(1) 동백꽃은 여러겹 겹쳐있기 때문에 열 침투가 어려워 2등분 또는 4등분하여 제다하는 것이 바람직하였으며 덖음차 보다는 찐차에서 품질 및 수색이 좋았고 꽃잎차와 화차(미개화)에서 양호하였다.

(2) 꽃잎차가 총질소 3.33%, 총유리아미노산 3.20%, 카테킨 12.92%로 함유량이 가장 많았다. 카페인은 꽃봉오리차에서 2.66%로, 비타민 C는 꽃잎차에서 89.10mg/ml으로 가장 많았다.

3) 가루차 제조

(1) 가루차 제다를 위한 동백나무의 차광은 차광율 95%에서 10~20일 차광시 품질 인 색, 향, 맛이 가장 양호하였다.

(2) 차광 재배 엽의 성분함량을 조사한 결과 총질소는 95%, 10일 차광에서 3.68%, 총유리아미노산 함량은 차광율 95%, 20일차광에서 0.75%, 카테킨은 95% 10일 차광에서 17.01%이었고, 카페인과 비타민은 무처리에서 높았다.

2. 동백혼합차의 배합조건 확립 및 기능성 검증

가. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색

1) 혼합차의 주요성분분석

(1) 일반성분 분석을 실시한 결과 동백차와 생약이 배합된 cahemix가 동백차와 녹차가 혼합된 catemix에 비해 수분함량이 많았고 조단백과 조회분은 catemix-1에 각각 5.6 4%, 2.47%로 많은 양이 함유되어 있었으며, 조지방은 catemix-2에 3.31%로 가장 많이 함유되어 있었다.

(2) Catemix-2의 카페인 함량은 6.73%로 가장 많았고 cahemix-1, 2, 3의 함량

은 비교적 적게 나타났다.

(3) 폴리페놀류로서 차의 품질에 중요한 작용을 미치는 카테킨은 cahemix-1에 17.33%의 많은 양이 함유되어 있었고 배합조건에 따른 함량변화가 다양하게 나타났다.

(4) Cahemix-3을 제외한 혼합차가 동백차보다 탄닌 함량이 감소하는 경향이었다.

(5) 테아닌은 혼합차 중 catemix-1이 0.9mg/100g으로 가장 많은 양을 함유하였다.

(6) 비타민 C는 cahemix-1에 256.6mg/100g으로 가장 많이 함유되어 있었다. 화차에 비해 화차와 녹차의 혼합차인 catemix-3, 화차와 생약의 혼합차인 cahemix-3 모두 비타민 C의 함량이 감소하였다.

(7) 유리아미노산의 함량을 측정한 결과 catemix-1, 2 및 cahemix-3에는 proline이, catemix-3, cahemix 1, 3에는 cystein이 많이 함유되어 있었다. 또한 aspartic acid의 함량은 cartemix-1과 cahemix-2에, glutamic acid는 cahemix-2에 많이 함유되어 있었다.

(8) 핵산관련물질은 동백차에 비해 모든 혼합차에서 IMP의 함량이 높았고 GMP와 UMP의 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

(9) 전체 유리당의 함량은 cahemix-3이 14.81unit로 높았으며 catemix에는 sucrose가, cahemix에는 glucose가 다른 당류에 비해 많이 함유되어 있었다.

2) 주요생리활성 검색

(1) 항산화 활성을 조사한 결과 catemix-1과 2에서 2.07, 2.13AI의 비교적 높은 항산화 효과가 있었다.

(2) 세포독성 테스트에서 cahemix-3이 가장 강한 독성 효과를 나타냈으며 catemix는 세포 독성 효과가 거의 나타나지 않았다.

(3) 항암물질의 내성 세포주인 AML-2/100을 이용하여 실험한 결과 유의할 만한 chemosensitizing effect가 없었다.

(4) 혈전용해 테스트를 실시한 결과 모든 혼합차에서 유의 할만한 활성이 나타나지 않았다.

(5) 항미생물 활성테스트에서는 catemix-1에서 가장 강한 항세균, 항진균 효과

가 있었다.

나. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증

1) 적정 배합생약 및 배합비율

동백차의 기능성 및 관능성을 강화시키기 위하여 혼합할 생약을 조사할 목적으로 중국에서 출판되어 약차에 관한 많은 내용을 다루고 있는 「藥茶-健身益壽之寶」와 「百病中醫藥茶療法」에 수록된 여러 종류의 茶 배합 재료들을 조사하여 그 중 전남 지역에서 재배하고 있으며 현재 한의학 임상 또는 민간 요법에서 많이 이용되고 있는 약재들을 선정하였다. 각종 동백차와 생약과의 배합비율은 동백차 50, 대추 22, 오미자 10, 구기자 10, 유자파 4, 생강 2, 감초 1, 수삼 1로 배합하였다.

2) 녹차 및 생약혼합형 동백차의 기능성

(1) 차 추출물이 뇌혈류량에 미치는 여향

위의 한약재들과 동백이 배합되었을 경우 약리 활성을 띠는지 확인하기 위하여 뇌혈류량에 미치는 영향을 관찰한 결과, catemix-3의 경우 뇌혈류량의 감소를 나타내었고 기타의 다른 배합에서는 뇌혈류량을 증가시키는 결과를 보여 뇌에 혈액이 원활히 공급되는 상태를 유지할 수 있으므로 뇌의 기능을 향상시킬 수 있는 기능성을 가지고 있다고 보여진다.

(2) 차 추출물이 뇌세포에 미치는 영향

배합된 차의 뇌세포 독성에 대한 영향을 관찰한 결과 동백의 신엽 발효차 및 신엽 덖음차와 녹차의 배합에서 고농도의 경우 뇌세포의 손상을 가져오는데 비해 덖음화차와 녹차가 50:50으로 배합된 경우 뇌세포의 손상으로부터 보호효과가 있었다.

(3) 차 추출물이 흰쥐의 흉부 대동맥 혈관에 미치는 영향

흰쥐의 흉부 대동맥 혈관에 미치는 영향을 관찰한 결과 녹차 및 각종 생약이 배합된 동백차는 혈관내피세포 및 혈관 평활근에 영향을 주지 않았다. 이러한 결과를 통해 추출물들이 다른 여러 기전으로 뇌혈관 및 혈압 등에 영향을 미치지만 혈관에 직접적인 작용은 나타내지 않음을 알 수 있다.

(4) 혈청 내 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향

추출물들이 혈청 중의 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향을 조사한 결과, 혈

청 중의 glucose 함량은 동백엽 발효차와 화차 추출물의 저농도 및 고농도에서 정상 생쥐에서와 유의한 차이는 없었으나 감소의 경향을 보였으며 혈청 중 콜레스테롤 함량은 동백엽 발효차에서 정상군에서는 변화가 없었지만 화차 추출물의 고농도 투여에서는 정상 생쥐에서와 유의한 차이가 있었다. 따라서 동백 추출물이 혈중 콜레스테롤 대사의 조절에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

다. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품개발

1) 녹차 및 생약을 이용한 혼합형 동백차의 배합조건

(1) 동백차와 녹차의 혼합

동백차와 녹차의 혼합(Ctemix-1, 2, 3)은 각각의 잎 형태가 다르기 때문에 균일하지 못하였r고 색깔도 녹색에서 갈색에 이르기까지 다양하였다. 이는 동백잎이 크고 엽육이 두텁고 메끄러워 잘 말려지지 않았기 때문이었다. 동백차와 녹차류와의 혼합에서 덖음차(catemix-2) 보다 찐차에서 제품의 색깔과 모양이 양호하였다.

동백차는 탄닌 함량이 높기 때문에 기호도가 떨어졌으며 그 중에서 동백불발효차와 동백완전발효차(catemix-1)가 품질이 좋았고, 동백 반발효차는 전체적인 면에서 수색 및 맛이 좋지 않았다

(2) 동백차와 생약의 혼합

동백차와 생약제의 혼합에서 제품 외형은 전반적으로 고르지 못하였다. 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 수삼, 박하, 당귀는 수색, 맛, 향 등이 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 그러나 구기자, 산수유, 오미자, 수삼은 양호한 편이었다

2) 동백차와 녹차 및 생약을 이용한 혼합차 제조

(1) 동백차와 녹차 추출물의 혼합

동백차와 녹차(불발효차;catemix-2, 3, 반발효차, 완전발효차;catemix-1)혼합에서, 수색은 녹색과 갈색에 가까웠으며 맛은 양호하였다. 동백반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합은 전반적으로 수색, 향 및 맛이 좋지 않았다. 동백완전발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)의 혼합은 모두 수색, 맛이 양호하였다.

(2) 동백차와 녹차 추출물을 이용한 용기차 및 티백차 제조

동백차와 녹차를 혼합한 용기차를 제조한 결과 동백차는 덖음차보다는 찐차가 양호하였으며, 동백불발효차(catemix-2, 3)와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효), 동백완전발효차(catemix-1)와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)를 추출한 후 혼합하였을 때 수색 및 품질이 양호하였고 기호도가 좋았다. 단. 동백반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)추출물의 혼합시 맛, 향, 수색이 좋지 않았다.

동백차와 녹차제품의 티백제조는 차를 마시고 난 후의 찌꺼기 처리 등 불편함을 해소하기 위하여 티백을 생각하게 되었으며 동백 혼합차의 티백의 품질은 전반적으로 양호한 편이었다. 동백차의 불발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합은 양호하였다.

동백차의 반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)제품은 수색 및 맛에서 좋지 못하였다. 동백완전발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합제품은 수색, 맛, 향이 양호하였다.

(3) 동백차와 생약제 추출물의 혼합

동백차와 생약제 추출물 혼합액의 경우 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀 추출물의 혼합차는 수색, 맛, 향 등이 너무 강하거나 약하여 이질감으로 인한 기호도가 떨어져 적절하지 못하였다. 동백차와의 혼합에 적합한 생약제는 구기자, 산수유, 수삼, 오미자였다.

동백차와 녹차 및 생약제 혼합 용액의 pH는 전반적으로 산성을 나타내었고 특히 오미자 혼합(3.5전후)은 강한 산성을 나타내었으며 그 다음으로 산수유 혼합액(3.7전후)순이었다.

녹차 불발효차, 감초, 율무, 당귀 용액(5.0 이상)의 pH가 가장 높았다. 이렇듯 강한 산성을 띄는 용액을 중성쪽으로 조정하여 제품을 만드는 것이 바람직 하리라고 본다.

(4) 동백차와 생약제 추출물을 이용한 용기차 및 티백차 제조

동백차와 생약제 추출물을 혼합한 용기차를 제조한 결과 생약제인 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀의 추출물을 혼합한 용기차는 수색, 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 구기자, 산수유, 수삼, 오미자 등은 수색, 맛, 향 및 기능성에서 뛰어나고 독특한 색깔을 가지고 있어 산성의 교정만 보완한다면 충분한 보급 가치가 있다고 본다.

추출물 혼합액에서 당귀, 유자피, 율무, 감초 등은 침전물이 발생하여 품질이 떨어졌으며 이러한 현상에 대한 구체적인 원인은 확실히 밝혀지지 않았다. 침전이 없거나 일부 발생되지만 품질이 좋은 생약은 수삼, 구기자, 오미자, 산수유였다. 대추는 침전은 없었지만 품질이 좋지 않았다. 앞으로 침전물에 대한 연구가 더 진행되어야 하리라고 본다.

동백차와 생약 제품인 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀를 혼합한 티백제품은 수색, 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 수삼은 부패 변질되어 티백 제품으로는 부적절하였으며, 구기자, 산수유, 오미자 등은 수색, 맛, 향 등에서 가장 적합하였다.

3) 동백차의 분말(가루)차 제조

동백잎을 이용하여 분말차를 제조하기 위해서는 분말도가 중요하며 분말도를 높이기 위해서는 어린 차엽시 차광 밀도와 기간이 중요하다. 제조된 분말차는 엽록소 함량이 적어서 약간 녹색이 바랜 듯이 보였으나 수색, 맛, 향 등 품질은 양호하였다.

3. 활용에 대한 건의

본 연구를 통해 얻어진 연구결과는 학술적으로 이용 가능할 뿐만 아니라 상업적인 면에서도 이용 가능하다. 학술적인 면에서는 동백차 제다 연구를 통해 제다 방법을 확립함으로서 기본 제다 공정을 수립하고 동백을 이용하여 덖음차, 찐차, 반발효차 및 화차의 제조방법 확립을 가능케한다. 또한 성분분석을 실시하여 생리활성을 규명함으로서 동백속 식물의 약용자원화를 위한 기초자료로 활용할 수 있다. 본 연구결과를 바탕으로 동백나무과의 타 식물을 이용한 신차개발의 가능성을 부여하는 계기가 되며 이를 바탕으로 차 문화의 다양화를 위한 기초자료 및 동기를 부여 할 것으로 기대된다.

그리고 상업적인 면에서는 확립된 제다공정을 특허 출원하여 참여업체에 기술을 이전할 계획이다. 또한 엽차, 화차, 액상차 및 분말차 등의 형태으로 제조가 가능하므로 기존 녹차의 대용차로 대중화가 가능할 것으로 생각된다.

SUMMARY

Ⅰ. Major Composition and Optimized Conditions for Making Tea from Camellia(*Camellia japonica)* Leaves and Flowers

1. Major compositions of Camellia leaf tea and flower tea

1) Most of leaf teas, except flower tea, were considered as good materials with basic conditions for tea manufacture because water content was below 6 %. Crude protein was the greatest component in roasted young leaf tea, crude fats in roasted mature leaf tea and ashes in fermented young leaf tea.
2) Caffein were present as the highest amount(5.18%) in steamed mature leaf tea, showing less amount than greenp teas.
3) Catechin were contained as the highest amount in all kinds of teas, especially fermented young leaf tea. was the highest(9.57%).
4) Tannin, which highly related with tea quality including astringent taste, color and perfume, were present as the highest amount in fermented young leaf tea.
5) Vitamin C was highly detected in the tea from flowers(22.7mg/100g) rather than in the tea from leaves.
6) Theanine were found in flower tea by 1,074 mg/100g, and had about twofold of fermented young leaf tea and roasted young leaf tea in content.
7) Among free amino acids glutamic acid and aspartic acid were higher detected in steamed mature leaf tea and roasted mature leaf tea while asparagine was present as higher amounts in roasted young leaf tea and fermented young leaf tea, expecting these components can improve tea taste.
8) Nucleic acids and their derivatives including CMP, GMP, IMP, hypoxanthine, and AMP were also analyzed through HPLC analysis method. GMP, hypoxanthine, and AMP were detected as the higher

amounts by 7.86, 8.57, and 12.67μmol/g, respectively, however IMP content was even reduced by all manufacturing processes.

9) In all kinds of tea, sugars such as glucose, fructose, sucrose and maltose were detected, specially glucose and fructose were found as highest amount in roasted flower tea by 65.5 and 59.6 unit, respectively.

2. Screening of Physiological and Pharmacological Activites

This project was conducted to development several Camellia tea mixed herb teas having any physiological effects. Leaves of tea tree contain many compounds, such as polysaccharides, volatile oils, vitamins, minerals, purines, alkaloids(eg. caffeine) and polyphenols(catechins and flavonoids). Although all three tea types(green, oolonr and black) have antibacterial and free radical capturing(antioxidizing) activities, the efficacy decreases substantially the darker the variety of tea is. This is due to lower contents of anti-oxidizing polyphenols remaining in the leaves. Unlike tea tree(*Camellia sinensis*), the biochemical features and effects of camellia(*Camellia japonica*) are not well known.

1) Fresh mature leaf of sasanqua camellia(*C. sasanqua*), roasted young leaf tea(*C. japonica*) and fresh mature leaf and bark of camellia had high antibacterial activity against *P. vulgaris* and *B. subtilis.* In antifungal activity bioassay, young leaf roasted teas of camellia and sasanqua camellia had high activity against *C. albicans* and *T. beigelil.* Plant extracts from *Camelia japonica* had higher inhibitory activity against fungi than against bacteria.

2) In cytotoxic effect against human acute myelogenous leukaemia cell extracts including fresh leaf(200㎍/ml), bark(230㎍/ml) and flower tea (320㎍/ml)inhibited growth of AML cells.

3) Methanol extract of stamed camellia leaf tea and roasted camellia tea had a chemosentizing effect to reverse Pgp-mediated MDR. In addition, camellia flower tea of insignificant cytotoxicity, chemosensitizing effect were

increased remarkable chemosensitizing effect in mixed flower tea with some herbs.

4) In the antithrombotic test, fermented young leaf tea, roasted young leaf tea and flower tea had the strong activity in proteolytic activity. However, no significant fibrinolytic activity was observed.

5) At the final concentration of 200μg/ml, methanol extracts from camelia flower tea, and water extracts from roasted and steamed leaf teas had antioxidant activity by 20% each against AML cell lines.

6) Experiments were conducted to determine whether these camellia tea have anti-hepatotoxic effects in mice. Anti-hepatotoxic effect of camellia methanol extracts on CCl_4 induced liver dysfunction in male and female mice. Control and sample mice were treated intraperitoneally with CCl_4(1㎖/㎏ body weight) with corn oil(vehicle), and serum level of AST was measured after 7 days. Saline as vehicle to control, methanol extracts of camellia to sample were administered to mice for 5 days after CCl_4 injection. But camellia extracts showed anti-hepatotoxic effect.

7) To see the anti-proliferative effect on cancer cell, each extracts of camellia was treated to HL-60, human leukemia cell line, and the [^{3}H]-thymidine uptake was measured. The relationship of apoptosis, the presence of apoptotic cells was searched through the cell morphology observation and DNA-fragmentation test. To determine the apoptotic pathway, caspase activity and PARP cleavage were searched. After HL-60 cells were treated with methyl alcohol extract of fresh leaves for 48 hours, the microscopic observations demonstrated the apoptotic characters. And 250㎍/㎖ concentration of methanol extracted leaves treated HL-60 showed decreased proliferation activity. In these concentration, they also induced apoptosis in HL-60 cells. Treatment of these extracts induced the the activation of Caspase-3 and finally the cleavage of PARP. These results suggest that the anti-proliferative activity of fresh camellia leaf was the results of the induction of apoptosis through the cleavage of PARP.

8) Methanol extracts of fermented leaf tea and flower tea were prepared and a dose of 100 and 400㎎/㎏ was administered orally into mice. And after two weeks, changes of serum enzyme activities of creatinine, BUN and aspartate aminotransferase(ALT) were investigated to confirm the short term administration safety. Result showed no toxicity on kidney and liver within the dose of 400㎎/㎏.

Methanol extracts of fermented leaf tea and flower tea were prepared and administered ad libitum into mice. And after three months, changes of serum enzyme activities of creatinine, BUN and ALT were investigated to confirm the long term administration safety. Result showed no toxicity on kidney and liver in male and female mice.

3. Development of optimized conditions for making camellia tea from and sensory evaluation

1) Making of camellia tea

(1) Plant growth, quality and chemical composition of different leaf positions in a camellia before harvest.

① Before making of tea, the number of leaf, plant height and node length in young shoot were 5.2, 14.9cm and 1.9cm respectively. These contents caused problems in leaf rolling and uniformity.

② No significant difference in quality and comoposition of roasted and steamed were observed, external shape and internal quality, however, were good from 1st to 3rd leaf.

③ Chemical nutrition consists of leaf position. Total nitrogen content of terminal leaf was 4.88%, total free amino acid 21.12%, and caffein 3%. Vitamin C content was increased with increasing of leaf age.

(2) Roasted tea

① Making of roasted tea was required long time because camellia leaf was very hard and smoothly.

② Products had lower water color, perfume and taste.

(3) Steamed tea

① Internal quality of tea was good in water color and taste.

② The contents of total nitrogen, total free amino acid, catechin, caffeine and vitamin C were 4.24%, 1.01, 17.7%, 2.6% and 75.7mg/ml.

(4) Semi-fermented tea

① External shape of tea was good at condition of tea rolling. It's color was green and taste good.

② The contents of caffein and vitamin C was high as 2.84% and 75.23mg/ml. However, total nitrogen and catechin was low contents(4.13% and 15.33%).

(5) Fermented tea

① External shape and internal quality were better than semi fermented tea in perfume and taste. Also total nitrogen contents was higher than was semi-fermented tea.

② The contents of free amino acid ,vitamin C and caffeine were 0.24%, 52.4 mg/ml and 2.88%.

2) Making procedure of flower tea

(1) The contents of total nitrogen, total free amino acid and catechin were 3.33%, 3.20mg/ml and 12.92%. The caffein content was high as 2.66% in flower-bud tea.

(2) The contents of vitamic C was high as 89.1mg/ml. in fetal tea. Steamed tea was better than roasted tea in quality and water color.

3) Making procedure of powder tea

(1) The powder tea was good at the shading ratio 75~95% for 10-20 days.

(2) The products had higher tea quality, water color, perfume and taste.

Ⅱ. Establishment of Mixture Ratios by Green Tea and Several Herbs and Physiological Activities of Mixed Camellia Tea

1. Major compositions of the mixed camellia teas and their physiological activities

1) Major compositions of the mixed camellia teas

(1) Cahemix mixed with camellia tea and herbs had more water content than did catemix nixed camellia tea and green tea. Catemix contained crude protein and crude ashes by 5.64 and 2.47%, respectively. Catemix-2(mixed fermented young leaf tea of camellia with green tea), however, had 3.32% crude fats as the highest amount.

(2) Catemix-2 contained caffein as the highest amount(6.73%) while cahemix-1(mixed, fermented young leaf tea of camellia with herbs), 2(mixed, roasted young leaf tea of camellia with herbs), 3(mixed, roasted flower tea of camellia with herbs) had lower contents in caffeine.

(3) Catechin as a polyphenol compound, which affected tea quality, were present in cahemix-1 as the highest amount(17.33%), however the contents exhibited differently depending on tea materials.

(4) Mixed teas, excepted for Cahemix-3, had less amount of tannin than single camelia tea

(5) Of the mixed teas, catemix-1 had theanine as the highest amount by 0.9mg/100g.

(6) Vitamin C was highly detected in cahemix-1 by 256.6 mg/100g, and found less amount of vitamin C in catemix-3(mixed, roasted flower tea of camellia with green tea) and cahemix-3 compared with flower teas.

(7) In quantification of free amino acids, catemix-1, 2 and cahemix-3 contained proline as the higher amount; catemix-3 and cahemix-1,3 had more cystein; catemix-1 and cahemix-2 aspartic acid; cahemix-2 glutamic acid.

(8) In analysis of substances related with nuclear acid, IMP was present in

mixed teas as higher amount than in single Camelia tea while contents of GMP and UMP were low amount.

(9) Total sugar was present in a cahemix-3 by 14.81 unit; sucrose was the highest in catemix and glucose in cahemix.

2) Examination of physiological activitves

(1) In measurement of antioxidant activity through Rancimat method oxidative stability indices in catemix-1 and catemix-2 were 2.07 and 2.13AI, respectively, showing high antioxidative effect.

(2) Cahemix-3 showed the highest cytotoxic effect while all catemixes had no activity.

(3) (4) No significant activities in chemosensitizing effect and antithrombotic effect by using AML-2/100 cells were observed.

(5) Catemix-1 had the highest antifungal and antibacterial activites against tested fungi and bacteria.

2. Mixture conditions for camellia tea with several herbs and pharmaceutical activities

1) Optimized mixed herbs and mixture ration

To identify and search functional herb tea mixture, several tea mixture candidates were selected. Among various kinds of oriental herb teas, well investigated, non toxic and regional autogenous herbs were selected, and ideal mixture were established.

Yooza peel(*Citrus junos*), Glycyrrhizae Radix(*Glycyrrhiza uralensis)*, Jujubae Fructus(*Zizyphus jujuba* Mill. var. *inermis* Rehder), Ginseng Radix(*Panax ginseng*), Lycii Fructus(*Lycium chinense*), Schizandrae Fructus(*Schizandra chinensis*) and Zingiberis Rhizoma Recens(*Zingiber officinale*) were selected to make mixture teas with camellia originated teas.

2) The function of camellia tea mixed with green tea and herbs

(1) Effect of camellia tea on the serum level of glucose and cholesterol

Effect of fermented camellia leaf tea and camellia flower tea on the serum level of glucose and cholesterol in mice were investigated. Serum level of glucose showed no changes in 100 and 400㎎/㎏ extract concentrations. But in Camellia flower tea with the concentration of 400㎎/㎏ extract showed statistically significant decrease when compared with normal group.

(2) Effect of mixed camellia tea on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system

Effect of camellia tea and herb mixures on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system were investigated. Control groups were vehicle injected for 30 minutes, and experimental groups were injected 0.01～1.0 ㎎/㎏ mixture for 30 minutes. rCBF, regional cerebral blood flow decreased in roasted flower of Camellia japonica mixed with leaf of green tea extract. Another groups showed the opposite result. Mean arterial blood pressure showed no significant change.

(3) Effect of mixed camellia tea on the LDH release from cerebral cells

And effect of tea mixtures on the LDH release from cerebral cells were investigated. Mixtures were treated with the dose of 1～100㎍/㎖, and control was vehicle treated group. LDH release from cerebral cells decreased in roasted flower tea of camellia mixed with green tea extract. It shows some tea mixtures can protect injures from cerebral cell damages.

(4) Relaxational response of camellia tea mixtures on thoracic aorta

Relaxational response to the tea mixtures in isolated thoracic aorta from sprague dawley rats. Aorta were investigated in vessel segments suspended for isometric tension recording by polygraph. Result showed no significant change in vasorelaxation.

Camellia japonica is an antipyretic and anti-inflammatory herb of Asian folk medicine including Korea, and is an important ornamental shrub used as a potted plant and in landscape plantings. But it was not so well utilized for drinkable materials. Through this study, *Camellia japonica* mixed herb teas have pharmaceutical effects. Threrfore, it is conceivable that *Camellia japonica*

originated teas may be a useful mixture teas for being able to improve abnormal body conditions.

3. Establishment of mixture condition and making of mixed camellia tea with green tea and several herbs

1) Mixture condition of mixed camellia tea with green tea and several herbs

(1) Mixture of camellia tea and green tea

Mixture of camellia tea and green tea did not uniform because the materials were collected from diffrent each leaf shape. In the mixture wth camellia tea and green tea, steamed tea had better shape and color than was pan fried tea. Non-fermented tea and fermented tea made from camellia had high quality while semi-fermented tea was not good in color and taste.

(2) Mixture with optimum ratio of camellia tea and some herbs

Mixture of *Camellia japonica* tea and medicinal plant was not uniform in an external shape. Mixture of camellia tea and some herbs【Yooza peel(*Citrus junos*), Chrysanthemi Flos(*Chrysanthemum morifolium*), Glycyrrhizae Radix(*Glycyrrhiza uralensis),* Jujubae Fructus(*Zizyphus jujuba* Mill. var. *inermis* Rehder), Coicis Semen(*Coix lachryma-jobi* var. *mayuen* Stapf), Ginseng Radix(*Panax ginseng*), Menthae Herba(*Mentha arvensis*), and Angelicae Gigantis Radix(*Angelica gigas*)】 were not constant in water color, taste and perfume.

However, mixture with Lycii Fructus(*Lycium chinense*), Corni Fructus(*Cornus officinalis*), and Schizandrae Fructus(*Schizandra chinensis*) were improved in water color, taste and perfume.

2) Manufacture of mixed camellia tea with green tea and herbs

(1) Mixture ratio of camellia tea and green tea

Tea mixture of *Camellia japonica* tea and green tea (non-fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea) was green or brown and had good color and taste. However, tea mixture of *Camellia japonica* semi fermented

tea and green tea (non fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea) were nor improved in water color, perfume and taste. In tea mixture of *Camellia japonica* fermented tea and green tea(non fermented tea, semi-fermented tea. fermented tea)extract, water color was brown, and perfume and taste were not good.

(2) Mixture ratio of water extract from camellia tea and several herbs

Mixture of water extract from camellia tea and herbs such as Chrysanthemi Flos, Yooza peel, Glycyrrhizae Radix, Jujubae Fructus, Coicis Semen, Menthae Herba, and Angelicae Gigantis Radix water color, perfume and taste, and smell were not good. However, mixture of water extract from camellia tea and herbs such as Lycii Fructus, Corni Fructus, Ginseng Radix, and Schizandrae Fructus were good in water color, perfume, and taste. The mixture tea was higher pH and showed acidic pH(3.5) at extracts of Schizandrae Fructus and followed by Corni Fructus.

(3) Making of can-tea with camellia tea and green tea extract

Steam tea was excellent at making can-tea of camellia tea and green tea extract when mixed with ① camellia non fermented tea and green tea(non-fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea), and ② camellia fermented tea and green tea(non fermented tea, semi fermented tea fermented tea) extract

(4) Making of can-tea with camellia tea and herbs extract.

Can-tea of camellia tea mixed with extract from some herbs such as Chrysanthemi Flos, Yooza peel, Glycyrrhizae Radix, Jujubae Fructus, Coicis Semen, Menthae Herba, and Angelicae Gigantis Radix were too strong at water color, perfume and taste, so they were not appropriate as a can-tea. However, mixture of water extract from camellia tea and herbs such as Lycii Fructus, Corni Fructus, Ginseng Radix, and Schizandrae Fructus were good in water color, perfume, and taste. When extracts of Coicis Semen, Angelicae Gigantis Radix, Yooza peel, Glycyrrhizae Radix were mixed with camellia tea extract, precipitates produced from mixed extract teas.

(5) Quality and Sensory evaluation of green tea and herbs extract.

Mixture of camellia tea and medicinal plant materials has specific scents and bad taste, however fermented tea and flower tea were specially excellent.

(6) Making of tea bag mixed camellia tea and green tea

The quality of tea bag mixed camellia tea and green tea extract was generally good. Mixture of camellia non fermented tea and green tea(non-fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea) were good, and mixture of camellia semi-fermented tea and green tea(non fermented tea, semi fermented tea fermented tea) extract were not good at water color and taste.

(7) Making of tea bag mixed *Camellia japonica* tea and medicinal plant extract.

Tea bag of camellia tea mixed with herbs such as Chrysanthemi Flos, Yooza peel, Glycyrrhizae Radix, Jujubae Fructus, Coicis Semen, Menthae Herba, and Angelicae Gigantis Radix were too strong at water color, perfume and taste, so they were not appropriate as a tea-bag. However, tea bag of camellia tea and some herbs such as Lycii Fructus, Corni Fructus, Schizandrae Fructus were good in water color, perfume and taste.

3) Making of camellia tea powder

It was thought that it is important to keep suitable shading and its period to increase degree of powder. The products manufactured had higher tea quality, water color, perfume and taste.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction ····· 41

Section 1. Objectives and significance of the project ····· 41

Section 2. Categories of the project ····· 41

Chapter 2. Literature review and case study ····· 43

Chapter 3. Major composition and optimized conditions for making tea from camellia(C*amellia japonica)* Leaves and flowers ····· 46

Section 1. Introduction ····· 46

Section 2. Materials and methods ····· 49

1. Analysis of main contents of camellia leaf tea and flower tea ····· 49
1) Materials ····· 49
2) General compositions ····· 49
3) Caffeine ····· 49
4) Catechin ····· 49
5) Tannin ····· 50
6) Theanine ····· 50
7) Vitamin C ····· 50
8) Analysis of free amino acid ····· 50
9) The analysis of nucleotides and their related compounds ····· 51
10) Analysis of free sugar contents ····· 51

2. Investigation of physiological and pharmacological activities ····· 52

1) Materials ····· 52
2) Making procedure of camellia extract ····· 52
3) Antimicrobial activities ····· 53
4) Cytotoxicity effect ····· 54
5) Chemosensitizing effect ····· 54
6) Antithrombotic effect ····· 55
7) Antioxidative effect ····· 55
8) Anti-hepatotoxic effects ····· 55
9) Anti-proliferative effect on cancer cells ····· 56
10) Confirmation of short and long term adminstration safty ····· 56

3. Developement of optimized conditions for making tea from camellia (*Camellia japonica*) and sensory evaluation ····· 58
1) Camellia leaf ····· 58
2) Place of experiment ····· 58
3) Method of experiment ····· 58
(1) Examination of camellia young shoot ····· 58
(2) Harvest of camellia young shoot and flower ····· 58
4) Making procedure of camellia tea ····· 58
(1) Roasted tea ····· 58
(2) Steamed tea ····· 59
(3) Semi-fermented tea ····· 59
(4) Frmented tea ····· 59
5) Flower tea ····· 59
6) Powder tea ····· 60
(1) Shading test ····· 60
(2) Making procedure of powder tea ····· 60
7) Grounding samples ····· 60
8) Analysis of composition and evaluation ····· 60
9) Sensory evaluation ····· 60

Section 3. Results and discussion ····· 62

1. Analysis of main contents of camellia leaf tea ····· 62
1) General compositions ····· 62
2) Caffeine ····· 62
3) Catechin ····· 63
4) Tannin ····· 64
5) Theanine ····· 64
6) Vitamin C ····· 65
7) Analysis of free amino acid ····· 65
8) The analysis of nucleotides and their related compound ····· 68
9) Analysis of free sugar contents ····· 68

2. Investigation of physiological and pharmacological activities ····· 70
1) Antimicrobial activities ····· 70
2) Cytotoxicity effect ····· 73
3) Chemosensitizing effect ····· 76
4) Antithrombotic effect ····· 76
5) Antioxidative effect ····· 78
6) Anti-hepatotoxic effects ····· 79
7) Anti-proliferative effect on cancer cells ····· 84
8) Confirmation of short and long term adminstration safty ····· 86

3. Development of optimized conditions for making tea from camellia (*Camellia japonica*) and sensory evaluation ····· 97

1) Plant growth, quality and chemical composition of different leaf positions in a camellia before harvest ····· 97
(1) Leaf growth and development at harvest ····· 97

(2) Tea quality by leaf position ····· 97
2) Making procedure of camellia tea ····· 101
(1) Roasted tea ····· 101
(2) Steamed tea ····· 103
(3) Semi-fermented tea ····· 104
(4) Fermented tea ····· 105
3) Making procedure of flower tea ····· 105
(1) Steamed tea ····· 105
(2) Roasted tea ····· 108
4) Shading effect and making procedure for powder tea ····· 109
(1) Shading of camellia tree ····· 109
(2) Making procedure of powder tea ····· 111
(3) Quality of powder tea ····· 111
(4) Change in composition of shade-treated leaves ····· 111

Section 4. Abstract ····· 113

Chapter 4. Establishment of mixture ratios and physiological function from *Camellia japonica* mixed tea ····· 118

Section 1. Introduction ····· 118

Section 2. Materials and methods ····· 120

1. Analysis of main contents and research of physiological activities from camellia mixed tea ····· 120
1) Analysis of main contents from mixed tea ····· 120
(1) Making of mixed tea ····· 120
(2) Analysis of general compositions ····· 124
(3) Caffeine ····· 124

(4) Catechin ····· 124
(5) Tannin ····· 124
(6) Theanine ····· 124
(7) Vitamin C ····· 125
(8) Free amino acid ····· 125
(9) Analysis of nucleotides and their related compounds ····· 127
(10) Free sugar contents ····· 127
2) Investigation of physiological activities ····· 127
(1) Antioxidative effect ····· 127
(2) Chemosensitizing effect ····· 127
(3) Cytotoxicity effect ····· 127
(4) Antithrombotic effect ····· 128
(5) Antimicrobial activities ····· 128

2. Investigation on mixture conditions and physiological function ····· 129
1) Establishment of ideal mixture conditions ····· 129
2) Effect on the serum level of glucose and cholesterol ····· 129
3) Effect on the cerebral blood flow and blood pressure ····· 129
4) Effect on the LDH release from cerebral cells ····· 130
5) Effect on the relaxational response in aorta ····· 131

3. Establishment of mixture ratios and product development for functional-intensified mixed tea ····· 132
1) Materials for camellia tea and herbs ····· 132
2) Experimental place ····· 133
3) Experimental methods ····· 133
(1) Making of mixed tea with camellia tea, green tea and herbs ····· 133
(2) Mixture of extract from camellia tea, green tea and herbs ····· 133
(3) Making of can-tea mixed with extract from camellia tea, green tea and herbs ····· 134

(4) Making of tea bag mixed with camellia tea, green tea and herbs ····· 134
(5) Making of camellia tea powder ····· 134
(6) Quality and sensory evaluation ····· 135

Section 3. Results and discussion ····· 136

1. Analysis of main contents and research of physiological activities from camellia mixed tea ····· 136
1) Analysis of main contents from mixed tea ····· 136
(1) Analysis of general compositions ····· 136
(2) The contents of caffeine ····· 137
(3) Catechin ····· 138
(4) Tannin ····· 138
(5) Theanine ····· 138
(6) Vitamin C ····· 139
(7) Analysis of the amino acid ····· 139
(8) Analysis of nucleotides and their related compounds ····· 142
(9) Free sugar contents ····· 142
2) Investigation of physiological activities ····· 143
(1) Antioxidative effect ····· 143
(2) Cytotoxicity effect ····· 146
(3) Chemosensitizing effect ····· 146
(4) Antithrombotic effect ····· 148
(5) Antimicrobial activities ····· 149

2. Investigation on mixture conditions and physiological function ····· 152
1) Establishment of ideal mixture conditions ····· 152
2) Effect on the serum level of glucose and cholesterol ····· 153
3) Effect on the cerebral blood flow and blood pressure ····· 157
4) Effect on the LDH release from cerebral cells ····· 166

5) Effect on the relaxational response in aorta ····· 168

3. Establishment of mixture ratios and product development for functional-intensified mixed tea ····· 169
1) Making of mixed tea with camellia tea, green tea and herbs ····· 169
2) Mixture of extract from camellia tea, green tea and herbs ····· 170
3) Making of tea bag mixed with camellia tea, green tea and herbs ····· 180
4) Making of camellia tea powder ····· 183
5) Quality and sensory evaluation ····· 183

Section 4. Abstract ····· 188

Chapter 5. The achievement degree of research goals and the degree of contribution to the related field ····· 194

Chapter 6. Plan for using research results ····· 196

1. The necessity of the additional research ····· 196

2. Application to other fields ····· 196

3. Industrialized programs ····· 197

Chapter 7. Collection of foreign technique information ····· 198

Chapter 8. References ····· 202

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 ····· 41

제1절 연구개발의 목적과 필요성 ····· 41

제2절 연구개발의 범위 ····· 41

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ····· 43

제1절 국내 ····· 43

제2절 국외 ····· 44

제 3 장 동백차의 주요성분 분석, 효능탐색 및 제다조건 확립 ····· 46

제1절 서설 ····· 46

제2절 재료 및 방법 ····· 49

1. 동백차의 주요성분 분석 ····· 49
가. 재료 ····· 49
나. 일반성분 분석 ····· 49
다. 카페인 분석 ····· 49
라. 카테킨 분석 ····· 49
마. 탄닌의 정량 ····· 50
바. 테아닌 ····· 50
사. 비타민 C ····· 50
아. 유리아미노산 분석 ····· 50
자. 핵산관련물질의 정량 ····· 51

차. 유리당의 정량 ····· 51

2. 생리·약리활성 탐색 ····· 52
가. 재료 ····· 52
나. 동백추출물의 조제 ····· 52
다. 항미생물 활성 테스트 ····· 53
라. 세포독성효과 측정 ····· 54
마. Chemosensitizing effect ····· 54
바. 혈전용해테스트 ····· 55
사. 항산화활성 검색 ····· 55
아. 간기능 장애에 미치는 영향 ····· 55
자. HL-60에 대한 Anti-proliferative effect ····· 56
차. 안전성 테스트 ····· 56

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능평가 ····· 58
가. 동백잎 재료 ····· 58
나. 시험장소 ····· 58
다. 시험방법 ····· 58
1) 동백 신초의 생육 조사 ····· 58
2) 동백차 제다전 동백 신초 및 꽃 채취 ····· 58
라. 동백차 제다 ····· 58
1) 덖음차 ····· 58
2) 찐차 ····· 59
3) 반발효차 ····· 59
4) 완전발효차 ····· 59
마. 화차 ····· 59
바. 가루차 ····· 60
1) 동백나무 차광 ····· 60
2) 가루차 제조 ····· 60
사. 시료 분쇄 ····· 60

아. 성분분석 및 평가 ····· 60
자. 관능평가 ····· 60

제3절 결과 및 고찰 ····· 62

1. 동백엽차와 화차의 주요성분분석 ····· 62
가. 일반성분 ····· 62
나. 카페인 함량 ····· 62
다. 카테킨 함량 ····· 63
라. 탄닌 ····· 64
마. 테아닌 ····· 64
바. 비타민 C ····· 65
사. 유리아미노산 분석 ····· 65
아. 핵산 관련물질의 정량 ····· 68
자. 유리당의 정량 ····· 68

2. 생리·약리활성 탐색 ····· 70
가. 항미생물 활성 테스트 ····· 70
나. 세포독성 효과 ····· 73
다. Chemosensitizing effect ····· 76
라. 혈전용해 테스트 ····· 76
마. 항산화 활성 ····· 78
바. 간기능 장애에 미치는 영향 ····· 79
사. HL-60에 대한 Anti-proliferative effect ····· 84
아. 안전성 테스트 ····· 86

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능평가 ····· 97
가. 동백차 제조를 위한 제다전 생육 및 품질과 엽위별 성분 함량 ····· 97
1) 동백엽의 수확전 생육 ····· 97
2) 엽위별 품질 ····· 97

나. 동백잎 차 제조 ····· 101
1) 덖음차 ····· 101
2) 찐차 ····· 103
3) 반발효차 ····· 104
4) 완전발효차 ····· 105
다. 화차 제조 ····· 105
1) 찐차 ····· 105
2) 덖음차 ····· 108
라. 가루차 제조를 위한 차광 및 제다 ····· 109
1) 동백나무 차광 ····· 109
2) 가루차 제다 ····· 111
3) 가루차 품질 ····· 111
4) 차광 잎의 성분함량 ····· 111

제4절 적요 ····· 113

제 4 장 동백 혼합차의 배합조건확립 및 기능성 검증 ····· 118

제1절 서설 ····· 118

제2절 재료 및 방법 ····· 120

1. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색 ····· 120
가. 혼합차의 주요성분분석 ····· 120
1) 혼합차의 제조 ····· 120
2) 일반성분 분석 ····· 124
3) 카페인 ····· 124
4) 카테킨 ····· 124
5) 탄닌 ····· 124
6) 테아닌 ····· 124

7) 비타민 C ····· 125
8) 유리아미노산 ····· 125
9) 핵산관련물질의 정량 ····· 126
10) 유리당 ····· 126
나. 생리활성 검색 ····· 127
1) 항산화 활성 ····· 127
2) Chemosensitizing effect ····· 127
3) 암세포독성테스트 ····· 127
4) 혈전용해 효과 ····· 128
5) 항미생물 활성 테스트 ····· 128

2. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증 ····· 129
가. 적정 배합생약 및 배합비율 검토 ····· 129
나. 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향 ····· 129
다. 뇌혈류량에 미치는 영향 ····· 129
라. 뇌세포 세포독성 측정 ····· 130
마. 혈관에 미치는 영향 ····· 131

3. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발 ····· 132
가. 동백차 및 생약제 재료 ····· 132
나. 시험장소 ····· 133
다. 시험방법 ····· 133
1) 동백차와 녹차 및 생약제의 배합조건 및 배합비율 ····· 133
2) 동백차와 녹차 및 생약 추출물을 이용한 음료형 혼합차 제조 ····· 133
3) 동백차와 녹차 및 생약 추출 후 용기차 제조 ····· 134
4) 동백차와 녹차 및 생약의 티백차 제조 ····· 134
5) 동백 분말(가루)차 제조 ····· 134
6) 품질 및 관능평가 ····· 135

제3절 결과 및 고찰 ····· 136

1. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색 ····· 136
가. 혼합차의 주요성분분석 ····· 136
1) 일반성분의 분석 ····· 136
2) 카페인 함량 ····· 137
3) 카테킨 ····· 138
4) 탄닌 ····· 138
5) 테아닌 ····· 138
6) 비타민 C ····· 139
7) 유리아미노산 분석 ····· 139
8) 핵산관련물질의 정량 ····· 142
9) 유리당의 정량 ····· 142
나. 생리활성 검증 ····· 143
1) 항산화 활성의 검증 ····· 143
2) 세포독성테스트 ····· 146
3) Chemosensitizing effect ····· 146
4) 혈전용해 효과 ····· 148
5) 항미생물 활성 테스트 ····· 149

2. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증 ····· 152
가. 적정 배합생약 및 배합비율 검토 ····· 152
나. 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향 ····· 153
다. 뇌혈류량에 미치는 영향 ····· 157
라. 뇌세포 세포독성 측정 ····· 166
마. 혈관에 미치는 영향 ····· 168

3. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발 ····· 169
가. 동백차와 녹차 및 생약제의 배합조건 및 배합비율 ····· 169
나. 동백차와 녹차 및 생약 추출물을 이용한 음료형 혼합차 제조 ····· 170
다. 동백차와 녹차 및 생약의 티백차 제조 ····· 180

라. 동백 분말(가루)차 제조 ····· 183
마. 품질 및 관능평가 ····· 183

제4절 적 요 ····· 188

제 5 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 ····· 194

1. 목표달성도 ····· 194

2. 관련분야에의 기여도 ····· 194

제 6 장 연구개발결과의 활용계획 ····· 196

1. 후속 연구의 필요성 ····· 196

2. 타 분야에의 응용 ····· 196

3. 기업화 추진방안 ····· 197

제 7 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 ····· 198

제 8 장 참고문헌 ····· 202

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적과 필요성

동백나무는 원예용으로 다양하게 활용되고 있을 뿐만 아니라 유용한 약효성분들을 함유하고 있는 각종 생리활성을 지닌 동백을 이용하여 제다조건을 확립하고자 한다. 동백은 전남의 도화, 시화 등으로 지정되어 있으며 옛날에는 사찰수로서 식재 된 많은 전설을 지니고 있는 나무로 여러 시, 군 등에서 동백축제를 열거나 동백 자연림을 개발 조성 중에 있거나 천연기념물 등으로 지정하는 등 많은 관심을 보이고 있다. 이렇듯 한국인의 정서에 맞는 수종으로도 인기가 많은 동백을 자원화하여 현대인의 기호에 적합한 음료문화의 창출에 기여하고자 본 연구는 1년 중 봄가지와 여름가지에서 3-4회씩 신초를 수확할 수 있는 동백엽과 한약재로 이용되고 있는 산다화(꽃봉오리)를 수집하여 유효성분과 생리·약리활성을 구명하고 기능성 강화를 위하여 녹차와의 혼합조건 및 수종 생약과의 혼합제다 조건을 확립하므로서 혼합형 동백차를 개발하기 위하여 실시하였다.

제2절 연구개발의 범위

1. 동백엽차와 화차의 주요성분 분석
   가. 일반 성분의 분석 및 카페인·카테킨·탄닌·테아닌·비타민 C의 정량
   나. 유리아미노산 분석
   다. 핵산 관련물질 및 유리당의 정량
2. 생리·약리활성 탐색
   가. 항미생물 활성 테스트 및 혈전용해 테스트
   나. Chemosensitizing effect 및 세포독성테스트
   다. 항산화효과
   라. 간기능 장애에 미치는 영향
   마. HL-60에 대한 anti-proliferation 효과
   바. 안전성 테스트

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능 평가

가. 부위별 적정제다시기 및 품질 특성 규명

나. 잎차 및 화차의 제조공정 확립

다. 가루차를 위한 차광재배 가능성 검토

라. 관능검사

4. 혼합차의 주요성분 분석 및 생리활성 검색

가. 일반성분의 분석

나. 카페인, 카테킨, 아미노산, 핵산, 유리당 등 주요성분분석

다. 항산화 활성의 검증

라. chemosensitizing effect 및 세포독성테스트

마. 혈전용해 효과 및 항미생물활성 등

5. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증

가. 적정 배합생약 및 배합비율 검토

나. 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향

다. 혈관 및 뇌혈류량에 미치는 영향

라. 뇌세포 세포독성 측정

6. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발

가. 녹차를 이용한 혼합제다 조건 확립

나. 생약을 이용한 혼합제다 조건 확립

다. 유형별 동백차 제다 및 제품제조

라. 품질 및 관능평가

제 2 장　국내외 기술개발 현황

제1절 국내

전남지역의 주요 자생식물인 동백나무는 차나무와 동일속(동백나무과 동백나무속)으로 전국 식재 면적의 67%을 차지하고 있을 뿐만 아니라 전라남도의 도화이지만 식용 및 약용자원화 하기 위한 체계적인 연구가 되어 있지 않아 이를 위한 보존·육성 개발 대책이 절실하다.

현재까지 국내에서 수행되어진 동백속의 성분분석 및 활용화에 관한 연구내용을 살펴보면, Sung 등(1996)은 동백유와 유박의 급성테스트를 통해 안전성을 확인하였으며, 유박에 함유된 성분이 알콜흡수 저해효과가 있다고 보고한 바 있다. 종실에서 분리된 hyperoside는 AIDS유발과 관련된 HIV-1 protease에 대하여 억제효과를 보였고, 씨와 과피의 추출물도 항염 및 소염활성, 줄기의 메탄올 추출물은 지질과 산화를 억제하는 것으로 나타났다(Park C. H. and Chei M. R.). 꽃에는 proline과 glutamic acid를 주된 아미노산으로 기타 미량의 유리 아미노산이 함유된 것으로 밝혀졌다.

무엇보다도 국내에서는 전통적으로 동백유를 머릿기름과 식용유로서 이용하고 있어 활용화를 위한 대부분의 연구는 동백기름을 이용한 다양한 유지가공 식품개발을 위한 기초연구분야에 주력해 왔다(Lee et al.). 그 중, 식용동백유 생산을 위한 정제공정의 개발, 마요네즈 제조, 샐러드 드레싱의 배합제로의 활용과 동백유박내에 함유된 식이섬유를 이용한 고식이섬유빵을 제조하였으며(Chei et al.), 산업용 유지로서 경화유, 스테아릴 알콜, 마아가린 유지자원, 왁스 첨가제로의 활용성도 연구된 바 있다(Ahn et al.). 또한 Han과 Park은 샴프, 린스 등과 같은 모발용 화장품, 로션과 핸드크림과 같은 피부용 화장품을 개발하여 안정성과 품질을 평가하기도 하였다.

제다 기술에 관한 국내 현황은 녹차를 일례로 증차의 경우, 몇 개의 회사가 일본에서 기계를 도입하여 제다를 하고 있으며 제다 방법은 복잡한 절차와 여러 단계(9~12단계)의 과정을 거치며 제다에 장시간이 소요된다. 덖음차는 우리 조상들이 이용하던 방법을 계승하여 지금까지 이용하고 있는 방법으로 제다 기술은 지

역에 따라 또는 제다하는 사람에 따라 각양각색이다. 제다 과정 중 덖음과 비비기 과정을 3번에서 9번에 걸쳐 실시하기 때문에 노력이 많이 들고 차 맛도 각각 다르다. 그 밖에 반발효차, 발효차, 혼합차 등에 관한 제다 기술은 다양한 제다 방법을 이용하여 차를 만들고 있다.

동신대 BIC 약용식물 종자은행에는 현재 29종의 야생종과 265종의 원예품종, 100점의 지역종을 포함하여 총 1,930점을 영양체와 종자로 수집하여 국내에서는 선두적으로 가장 많은 동백속 자원을 보존·육성하고 있으며, 국제 동백협회 아시아 지부인 큐슈대학과 협력하여 한국지부를 동신대에 유치하였고, 2000년 12월 22일에 한국 동백연구회를 창립하므로서 동백속 식물의 식용화 및 약용화에 관한 연구기반을 마련하였다.

또한 전남 농업기술원 보성 차시험장에서는 국내에서는 가장 탁월한 제다 기법을 개발하여, 찐차, 덖음차, 반발효차, 완전발효차, 분말차 등의 제조법에 관한 노하우와 최첨단의 제조시스템을 확보·구비하고 있으며 본 연구진이 동백 엽과 꽃을 재료로 한 차 제조 가능성에 관하여 식품의약품 안정청(2001. 6. 27., 문서번호 식규 65421-10647)에 검토 의뢰한 결과 긍정적인 답변을 얻은 바 있다.

그러나, 이들 제다 방식을 바탕으로 동백의 잎과 꽃을 이용한 제다의 방법에 관하여는 아직까지 보고된 바 없다. 또한 동백차를 제다한 후 녹차와 생약을 혼합한 혼합차 역시 보고된 연구가 없으므로 본 실험을 통하여 얻어진 연구결과는 국내·외를 막론하고 체계적으로 이루어진 선험적 연구결과이며, 기능성 음료의 다양화를 추구하는 현 시점에 새로운 방향을 제시하게 될 것이다.

제2절 국외

일본에서는 동백나무의 말린 꽃을 민간에서 토혈증(hematemesis)에 사용하고 있으며(Itokawa et al., 1981), 항원충작용 및 진경작용(Bhakuni et al., 1988), 치석형성 억제효과(Namba et al.,1984), 알콜 흡수 억제(Yoshikawa et al., 1994), 미백 작용(Mori and Nishimiya, 1988)작용 등이 보고되기도 하였다. 성분 연구로는 주로 일본에서 행해진 연구들이 주류를 이루는데 주로 잎과 종자 또는 꽃으로부터, triterpene, tannin, benzenoid, steroid, flavonoid phenyl propanoid 등의 group에 속하는 수 많은 화합물들이 보고 되었다(Sakata et al., 1981 ; Tsushida

and Takeo, 1984; Itoh et al., 1980; Fujita et al., 1973; Pedroso and Pais, 1994).

제다에 관한 기술개발에 있어서 찐차에 대한 연구는 일본에서 활발하게 진행되고 있으며 덖음차는 일본의 극히 일부 지방과 중국, 대만에서 제다 되고 있다. 반발효차는 대만과 중국에서 완전발효차는 스리랑카, 인도, 케냐, 대만 등에서 제다가 되고 있다. 반발효차(오룡차) 제조의 발상지는 중국 복건성에서 대만으로 전래되어 현재 약 5만톤 정도 생산되고 있으며 차 소비의 주류를 이루고 있다. 일본은 1984년 이래 켄 드링크와 테트라팩 등의 여러 가지 용기 형태로 우롱차 드링크가 생산되어 2,200억엔 이상의 시장규모를 형성하고 있다. 발효차는 중국, 스리랑카, 케냐, 인도, 실론 등 따뜻한 지방에서 많이 생산되고 있으며 기후와 지역에 따라 제조방법 등 여러 면에서 상당한 차이가 있다. 혼합차 제조법은 잡화법이라 하여 차에 조미료, 향신료 등을 섞어서 마시는 방법으로 부족된 영양분을 첨가하여 차를 만드는 것(인삼, 산수유, 오미자, 마. 구기자, 율무 등)을 목적으로 당나라 때 차에 파, 생강, 대추, 귤껍질, 박하 등을 넣어 마셨던 것이 雜和茶와 香茶의 효시가 되었다.

Taketa 등(1992)은 동백 잎으로 차를 만들어 이용가능성을 검토한바 있으나 다소 보완하여야 한다고 보고하고 있으며, 그 밖에는 동백속 식물의 특정부위를 이용한 제다에 관한 연구는 보고 된바가 없는 실정이다.

제 3 장 동백차의 주요성분 분석, 효능탐색 및 제다조건 확립

제1절 서설

관상가치가 높은 원예식물로서 개화기가 겨울에서 이른봄에 이르는 상록교목인 동백나무는 아시아 원산으로 약 200여종이 분포하고 있다(Chang, 1981). 그 중 한국에 자생하는 동백나무(*Camelia japonica* L.)는 1종으로 주로 남해안과 도서지역에 군락을 지어 분포하는 특성이 있고 서쪽으로는 대청도와 동쪽으로는 울릉도까지 분포하며 특히 전남지역이 전국 식재 면적의 67%를 차지하고 있다.

예로부터, 동백종실의 기름을 이용하여 화장유와 식용유로, 줄기는 고급 숯의 원료로 활용하여 왔다. 동백의 어린 신엽을 채취하여 차로 활용하였고 꽃은 화전으로 만들어 식용하기도 하였으며, 「본초강목」에는 〈산다화〉라 하여 경혈, 지혈, 소염 등의 효능에 대해 기록되어 있다. 일본에서는 말린 동백나무의 꽃을 산차(山茶)라 하여 민간에서 토혈증(hematemesis)에 사용하였다는 보고(Itokawa et al., 1981)가 있고, 항원충작용 및 진경작용(Bhakuni et al., 1988) 그리고 알콜흡수억제(Yoshikawa et al., 1994) 등의 작용이 보고된 바 있다. 또한, 성분연구로서는 주로 일본에서 행해진 연구가 주류를 이루어 잎, 종자 및 꽃으로부터 triterpene, tannin, benzenoid, steroid, flavonoid, phenyl propanoid 등의 많은 화합물이 존재한다고 보고 되었다(Sakata et al., 1981 ; Tsushida & Takeo, 1984 ; Itoh et al., 1980 ; Fujita et al., 1973 ; Pedrososo & Pais, 1994). 최근의 연구로서 국내에서는 동백의 종실 및 유박을 이용하여 식품으로서의 이용성에 관하여 검토함으로서 식품개발 가능성에 대한 연구(Choi et al., 1996)가 이루어진 바 있으나 동백의 잎과 꽃을 이용한 제다기술에 관한 연구는 아직 보고된 바 없으며 유전자원식물로서 동백의 효용은 다양하다.

차는 그 특유의 향과 맛을 즐길 뿐만 아니라 질병의 완화 및 치유를 목적으로도 동서양을 막론하고 널리 음용되어 왔다. 더욱이 현대에 이르러서는 건강의 유지·증진을 위한 다양한 기능성 차들이 제조·시판되고 있고 그에 따른 생리활성 및 약리효과에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

식생활의 다양화와 소비자의 건강지향적 욕구의 증대로 근자에 이르러 기능성

식품의 수요가 많아지고 그 종류도 다양해졌다. 또한 기존 재료의 응용 및 천연의 신소재를 발굴·이용한 기능성 음료는 단순한 음료의 형태에서 벗어나 건강을 유지 및 증진시키는 역할을 하고 있다.

따라서, 다양한 성분을 함유하고 있고 약리효과가 뛰어난 것으로 알려진 동백의 잎과 꽃을 이용하여 기능성 차로 개발하고자 국내자생 동백을 이용한 엽차와 화차의 주요성분분석을 실시하였고 항미생물효과, 항산화 활성, 단백질 분해작용 및 혈전분해작용, 추출물이 암세포에 미치는 영향, Chemosensitizing assay, 간기능 장애에 미치는 영향 등을 검색하여 그 기능성과 안전성에 대한 연구를 수행하였다.

그리고 제다된 차의 메탄올 추출물이 생체의 간기능에 긍정적인 영향을 미치는지를 확인하였다. 간은 당 ·단백질 ·지방 등의 물질대사의 중심이 되고 있으며, 그 밖에도 몇 가지 기능을 가지고 있는데 간이 정상적인 작용을 하기 위해서는, 간 내의 혈액순환이 정상적으로 이루어져 간세포에 충분한 산소와 영양이 공급되어야 한다. 만약 외부로부터의 물질이 생체에 영향을 미쳐 해독 등의 대사에 관여하는 간에 장애를 나타내거나 여러 원인으로 인해 단백질이 결핍되거나 기아가 계속되면 간 단백질이 줄어들어 효소의 효능은 저하되고 간의 기능도 저하하게 된다. 이러한 간 기능의 정상 여부를 확인하는 검사 방법 중의 하나로 혈청 내의 alanine aminotransferase(AST) 및 aspartate aminotransferase(ALT) 수치를 검사하는 방법이 있는데 이러한 지표들의 수치가 지나치게 높다면 간 기능의 장애를 의심해 볼 필요가 있다. 본 실험에서는 실험적으로 간 손상을 일으키는 물질인 CCl_4를 투여하여 간 손상을 유발한 다음 여기에 동백 추출물을 투여해 간 손상 억제의 경향을 보이는지를 확인하고자 하였다. 또한 인간의 혈액암 세포 중 하나인 HL-60에 대한 Anti-proliferate 효과를 관찰하였다. 액암은 혈구를 생성하는 골수의 이상증식으로 미성숙한 혈구가 다량 출현하는 것을 지칭하는데 그 대표적인 것으로 급성백혈병 등이 있으며 이의 경우 과다 생산된 백혈구가 초기에는 발열현상의 자기면역증세를 보이기도 하고, 결과적으로 적혈구가 감소하고 혈소판도 줄어들어서 지혈이 잘 안되며 면역기능을 못하는 백혈구만 많아져서 면역기능이 저하된다.

동백차를 만들기 위해서는 먼저 제다 시기의 설정이 중요하며, 제다시 동백나무 신초의 부위에 따라 제품의 특성이 다양하리라고 보이며. 아울러 화차를 위한 꽃

의 채취시기 및 제조 공정과 가루차 제다를 위한 차광 재배 가능성을 검토코자하였고 제품에 대한 적정 조건과 이용 가능성을 관능평가를 통해 살펴보고자 하였다.

본 연구를 통하여 궁극적으로는 소비자의 취향에 맞는 다양한 차 제품을 생산 보급하므로서 국민의 정서 함향과 건강증진 및 소비 촉진을 통해 부가가치를 창출하고 지역 경제의 활성화와 재배면적의 확대를 통한 국토 공원화 및 동백나무 재배농가의 수익 증대에 이바지하고자 하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 동백차의 주요성분 분석

가. 재료

본 실험에 사용된 시료는 우리나라 동백나무(*Camelia japonica* L.)의 자생군락지를 현지에 그대로 보존하고 있는 전남 장흥군 천관산에서 꽃은 2~3월에, 어린잎은 4~5월에 그리고 성엽은 6~8월에 각각 채취하였다. 이것을 전남농업기술원 차시험장에서 성엽(찐차, 덖음차), 신엽(덖음차, 발효차), 화차(덖음차)로 제다하여 본 실험을 수행하였다.

나. 일반성분 분석

수분은 105℃ 상압가열건조법, 조단백질은 Semimicro-Kjeldahl, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 550℃ 직접 회화법으로 A.O.A.C. 표준법에 따라 분석하였다.

다. 카페인 분석

제다된 동백차의 건조시료 분말에 10~15배의 증류수를 첨가시킨 후 water bath(100℃)에서 25분간 추출한다. 그 후, 원심분리(959g) 하여 상등액을 동량의 chloroform으로 2회 추출 한 다음 감압농축하여 시료로 사용하였다(중량법).

라. 카테킨 분석

카페인 분석시와 동일한 과정을 거쳐 chloroform으로 2회 추출 한 후 수층을 다시 ethyl acetate(EtOAc)로 2회 추출하여 증류수로 세척한다. EtOAc 층을 감압농축하여 동결건조시킨 다음 분말화 하여 시료로 사용하였다(중량법).

마. 탄닌의 정량

시료를 물 추출한 후 tannic acid를 표준물질로 하여 AOAC법에 따라 760nm

에서 흡광도를 측정하였다.

바. 테아닌

분쇄한 시료 5g을 400-2500nm범위에서 근적외분광광도계(NIR spectrophotometer, Model 6500, Foss NIR system, USA)로 측정하였다. 시료를 standard sample cup에 채우고 실온에서 scanning 한 후 얻은 스펙트럼에 분쇄정도의 차이에 따른 산란을 보정하였다. 또한, 각 성분으로부터의 중첩에서 오는 오차를 최소화하기 위하여 1차미분으로 스펙트럼을 처리하여 각각의 성분에 대한 calibration을 실시하였다.

사. 비타민 C

시료를 메탄올로 추출하여 전처리한 후 Table 1과 같은 조건에서 HPLC로 분석하였다.

Table 1. Conditions and column information for vitamin C analysis

Item	Conditions
Instrument	10AVP series, Shimadzu, Japan
Column	Capcellpak NH_2
Detector	UV 254nm
Mobile phase	0.05M KH_2PO_4, acetonitrile, 6:4
Flow rate	1.0ml/min

아. 유리아미노산 분석

각각의 시료를 12.35mg씩 취하여 PICO-tag방법을 이용하여 PITC labelling을 한 후, 100㎕를 취하여 HPLC로 분석하였다. 그 분석조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Conditions and column information for amino acid analysis

Item	Conditions
Instrument	Waters HPLC
Column	SB-C18(Agilent, 4.6x250㎛)
Detector	UV 253nm
Mobile phase	40mM KH_2PO_4(pH 4.5, adjust H_3PO_4)
Flow rate	1.0ml/min

자. 핵산관련물질의 정량

中島 등의 방법(1961)에 준하여 시료를 MeOH와 DW로 추출한 후 핵산물질을 분리하여 CMP, UMP, GMP, IMP, Hypoxanthine, AMP에 관하여 Table 3과 같이 HPLC로 분석하였다.

Table 3. Conditions and column infomamtion for nucleotides and their related compounds analysis

Item	Conditions
System	Bio-LC DX-300(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)
Column	CarboPac PA1(4.5x250mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) with CarboPac PA1 cartridge 94.5x50mm)
Detection	PED2 with integrated amperometry
Data analysis	AI-450 on-line software
Mobile phase	A: 0.5 NaOH for glucose and maltose B: Water for fructose and sucrose
Flow rate	1.0ml/min

차. 유리당의 정량

각각의 시료를 10mg/ml로 증류수에 현탁하여 池谷의 방법(1990)에 따라 전처리한 후Table 4와 같은 조건하에서 HPLC로 분석하였다.

Table 4. Conditions and column information for free sugar analysis

Item	Conditions
System	Waters 510 HPLC Pump, 2ea
	Waters Gradient Controller
	Waters 717 Automatic sampler
Column	Waters PICO-tag column
	(3.9 X 300mm, 4㎛)
Detector	Waters 996 photodiode array detector(PDA), 254nm
Data analysis	Millennium 32 chromatography manager
Mobile phase	A: 140mM sodium acarate(6% acetonitrite)
	B: 60% acetonitrite
Flow rate	1.0ml/min

2. 생리·약리활성 탐색

가. 재료

동백나무(*Camellia japonica* L.)는 우리나라 동백나무의 자생군락지를 현지에 그대로 보존하고 있는 전남 장흥군 천관산에서 시기를 달리하여 채취하여 사용하였다.

나. 동백추출물의 조제

동백의 신엽, 성엽, 수피와 애기동백의 신엽 및 제다된 차를 이용하여 DW와 MeOH로 추출하였으며 Table 5와 같이 명명하여 본 실험을 실시하였다. 제다는 전남 농업기술원 차시험장에서 찐차, 덖음차, 발효차, 화차로 만들어 사용하였다.

Table 5. Material for using physiological activities test

명명	시 료	추출	채취시기	명명	시 료	추출	채취시기
Control				CA8	수피	MeOH	2월
Vehicle				CA9	신엽	MeOH	〃
CA1	성엽	MeOH	2월	CA10	신엽(애기동백)	MeOH	5월
CA2	성엽찐차	MeOH	〃	CA11	신엽덖음차	MeOH	4월
CA3	성엽덖음차	MeOH	〃	CA12	신엽발효차	MeOH	〃
CA4	성엽찐차	DW	〃	CA13	덖음화차	MeOH	〃
CA5	성엽덖음차	DW	〃	CA14	신엽덖음차	MeOH	5월
CA6	화차	MeOH	〃		(애기동백)		
CA7	화차	DW	〃				

1) DW 추출

100℃의 물로 5분간 추출한 후 whatman No. 2로 여과하여 동결건조한 것을 사용하였다.

2) MeOH 추출

재료 100g에 대하여 5~10배량의 Methanol을 가하고 5~6시간 가열 추출한 후 whatman No. 2로 여과하였다. 그 여액을 감압 증발시켜 추출물을 얻었다.

다. 항미생물 활성 테스트

1) 항균활성 테스트

균주는 KCTC(Korea Collection for Type Culture)와 KRIBB(Korea Reasearch Institute of Bioscience & Biotechnolgy)에서 분양 받은 *Proteus vulgaris*(KCTC 2433)와 *Bacillus subtilis*(KCTC 1918)를 사용하였으며, Bactotrypton(10g/L), Yeast extract(5g/L), Nacl(10g/L)이 함유된 배지(pH7.0)에서 배양하였다. 시료로 사용할 동백추출물(Table 5.)은 50% DMSO로 현탁 하였으며 1% bactopeptone에 혼합된 박테리아[1×10^6 colony formation units(CFU)/ml]에 5㎕의 동백추출물(최종농도 1.25 ㎍/㎕)과 혼합한 후 37℃에서 5시간 동안 배양하였다. 항균 활성도는 37℃에서 16시간동안 배양한 후 세균의 증가양상으로 결정하였다.

2) 항진균활성 테스트

Trichosporon beigelii 와 *Candida albicans* 를 well당 1×10^2 spore 밀도의 96-well plates에 접종한 후, 동백추출물 5㎕(최종농도 12.5㎍/㎕)를 각 well에 첨가한 후 MTT방법에 준하여 결과를 reading하였다.

라. 세포독성효과 측정

각 세포주를 1×10^5/ml의 농도로 96 well microplate에 90㎕씩 넣고 24시간 동안 37℃, 5% CO_2 배양기 내에서 배양 후 시료를 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 각각 농도를 다르게 하여 첨가하였다. 이것을 3일 동안 배양한 후 각 well에 MTT(3mg/ml) 용액을 10㎕씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO를 150㎕씩 첨가하여 천천히 녹인 후 microplate reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

본 실험에서는 인간의 급성골수성 백혈병 세포주인 AML-2/D100를 사용하여 실험을 실시하였다.

마. Chemosensitizing effect

96 well microplate에 추출물을 10㎕씩 넣고, 4~6일간 약물 없이 배양한 내성 세포주를 2×10^5/ml가 되도록 한 세포부유액 90㎕씩을 각각 넣었다. 또한 4~6일간 약물 없이 배양한 내성 세포주에 vincristine(120ng/ml)을 첨가하여 2×10^5/ml가 되도록 한 세포부유액에 한 90㎕씩 각각 넣었다. 이때 약물대신 PBS를 넣어 세포의 대조군으로 삼고, 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 한다. 그리고나서 96 well microplate를 잘 흔든 후 CO_2 배양기 내에서 3일간 배양한 다음 모든 well에 MTT 용액(5mg/ml PBS, Sigma) 10㎕를 가해주고 다시 37℃, 5% CO_2에서 5시간 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다.

각 well에 생성된 formazan 결정을 0.04 N HCl-isopropanol 용액 100 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험에서는 인간의 종양세포주인 AML-2/D-100과 항암물질에 내성을 갖는 AML-2/D-100 세포주를 동시에 사용하였다.

바. 혈전용해테스트

1) 단백질분해활성 테스트

멸균수에 0.3% skim milk 용액 5ml에 동량의 2% agarose 용액 5ml를 첨가하여 1시간 동안 실온에서 고화시켜 skim milk agarose plate를 제조하였다. 그 뒤 skim milk agarose plate에 지름 5mm의 구멍을 만들어 각각의 추출물 10㎍을 침적하고 37℃에서 12시간 반응시켜 생성된 투명대로 확인하였으며, 이 때 효소 1unit는 위의 반응조건에서 10㎟의 투명대를 생성시키는 효소량으로 하였다.

2) 혈전분해활성 테스트

Beber와 Balkwill(1997)의 방법을 변형하여 2% fibrin agarose plate assay법을 이용하였다. 혈전분해활성을 위해 fibrin agarose plate에 지름 5mm의 구멍을 만들어 각 동백차의 추출물을 10㎍ 침적하고 37℃에서 12시간 반응하여 형성된 투명대를 확인하여 검색하였다.

사. 항산화활성 검색

LeBel 등(1992)과 Shen 등(1996)의 방법에 준하여 1×105개의 AML 세포주를 함유한 3ml의 PBS를 형광큐벧에 넣고 DCFH-DA가 1μM이 되도록 시료(동백의 덖음화차, 덖음차, 찐차, 생엽, 수피의 메탄올 및 물 추출물)와 함께 넣고 37℃에서 2hrs 동안 반응시킨 후 excitation 파장 485nm와 emission파장 530nm에서 형광강도를 측정하였다.

아. 간기능 장애에 미치는 영향

실험 동물인 생쥐 암수 각각 10마리 이상씩을 정상군과 대조군 및 실험군으로 배정하여 대조군과 실험군에 CCl_4를 corn oil에 10% 농도로 희석하여 CCl_4가 1㎖/kg body weight 되도록 복강주사한 후 실험군에는 동백엽 발효차와 화차의 메탄올 추출물 100㎎/kg body weight/day로 5일간 경구투여하였으며, 정상군에는 같은 비율로 복강에 corn oil을 주사하였다. 7일째 되는 날 실험 동물을 희생시켜 혈액

을 채취한 후 혈청을 분리하여 alanine aminotransferase(AST) 및 aspartate aminotransferase(ALT)를 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)를 이용하여 측정하였다. 결과에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군간의 평균의 차이를 검정할 때에는 student's *t*-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

자. HL-60에 대한 Anti-proliferative effect

시료가 암세포의 성장에 어떠한 영향을 끼치는지, 그리고 그러한 성장억제 효과가 아폽토시스와 관련이 있는지를 확인하고, 아폽토시스의 여러가지 경로중 PARP cleavage를 수반하는 경로를 거치는지를 조사하였다. 우선 성장억제 효과를 확인하기 위해, HL-60 세포에 각 시료들을 적절한 농도로 처리한 후 [^{3}H]-thymidine uptake를 측정하였고, 아폽토시스 관련 여부를 조사하기 위해, 세포의 형태를 관찰하였다. 아폽토시스가 active caspase에 의한 PARP cleavage를 통해 일어나는 것인지를 확인해 보기 위해 HL-60 세포에 시료를 처리한 후 시간별로 harvest한 뒤 PARP antibody로 western immunoblot을 수행하여, PARP cleavage 여부를 조사하였다.

차. 안전성 테스트

동백 추출물, 즉 동백엽 발효차와 화차의 섭취로 인한 생체 독성 유무는 단회 투여로 인한 단기 독성 시험과 반복 투여로 인한 장기 독성 시험으로 나누어 실시하였으며 이를 다시 암수로 구분하여 시행하였고, 실험 동물을 희생시키기에 앞서 내부 장기를 육안으로 관찰하여 이상의 유무를 확인하였다. 단기 독성 시험을 위해 실험 동물인 생쥐(ICR, 20±2g)에 추출물을 각기 100 및 400㎎/㎏ body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 후 2주 뒤에 혈청 중 creatinine, BUN 및 ALT의 함량을 측정하였다. 장기 독성 실험을 위해서는 3개월 동안 음용수에 동백엽 발효 차와 화차 추출물을 일반적인 차와 같이 뜨거운 물에 녹여 실험 기간동안 자유로이 섭취하도록 하였으며 3개월 후 혈청을 분리하여 혈청 중 creatinine, BUN 및 ALT의 함량을 측정하였다. 혈청의 분리방법은 간기능 장애에 대한 효능

검색에서와 같다. 장기 독성 검사와 관련하여 실험 결과에 나타내지는 않았지만 실험 동물에 대하여 정기적으로 체중과 사료 섭취량을 측정하여 건강상태 등을 점검하였으며 실험기간 동안 이상 징후를 발견하지는 못하였다. 실험 동물로부터 얻어진 혈청을 이용하여 신장 독성을 측정하기 위해서는 creatinine 측정용 kit(AM119-K, 아산제약, 한국)과 BUN 측정용 kit(AM165-K, 아산제약, 한국)을, 간장 독성을 측정하기 위해서는 ALT 측정용 kit(AM101-K, 아산제약, 한국)을 사용하였다.

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능테스트

가. 동백잎 재료

동백차의 제다 원료인 동백 신엽과 동백꽃은 30~50년생으로 수고 4~5m가 넘는 동백나무로서, 전라남도 장흥군 천관산에서 꽃은 2월부터, 동백 신엽은 4월 초순부터 채취하여 이용하였다.

나. 시험장소

동백잎과 꽃을 채취 한 후 차시험장(전남 보성군 보성읍 용문리)으로 운반하고 덖음차, 찐차, 반발효차, 발효차, 화차, 가루차를 제조하였다,

다. 시험방법

1) 동백 신초의 생육 조사

동백엽의 생육상황은 2000년 4월 23일 조사하였으며, 지엽, 제1엽, 제2엽, 제3엽, 제4엽, 제5엽을 신초장, 엽수, 엽장, 엽폭, 마디길이, 엽병장, 경태를 조사하였다.

2) 동백차 제다전 동백 신초 및 꽃 채취

동백 잎은 포엽이 전개되고 제1엽~제5엽 전개시 상위 2-3엽을, 동백꽃은 꽃봉오리와 반개화된 것을 채취하여 이용하였다.

라. 동백차 제다

1) 덖음차

덖음기(炒菁機, 裕能機械廠, 臺灣) 내부의 온도가 250~300℃일 때 덖음기에 동백잎을 넣고 5-10분간 덖은 후, 밖으로 끄집어 내어 털면서 식힌후 유념기(揉捻機, J-35, 寺田製作所, 日本)에 넣고 10분간 비빈다(1회), 유념기에서 비벼진 잎을 120~150℃로 조정된 덖음기에 넣고 5-7분간 덖은 후 끄집어내고 털면서 식힌 후, 유념기에 넣고 10분간 비빈다(2회). 잎의 상태에 따라 1~3회 반복 후 80℃로 조정된 건조기(循環式自動乾燥機, 裕能機械廠, 臺灣)에서 건조하여 제품을 만들었다.

2) 찐차

동백잎을 증열기(ED-2000. TERADA, 日本)에 40~90초 통과 시킨 후 유념기(揉捻機 : J-35, 寺田製作所, 日本)에 넣고 10분간 비빈다(1회). 유념기에서 비벼진 잎을 120~150℃로 조정된 덖음기에 넣고 5-7분간 덖은 후 끄집어내고 털면서 식

힌 후, 유념기에 넣고 10분간 비빈다(2회). 잎의 상태에 따라 덖음과 유념을 1~3회 반복 후 80℃로 조정된 건조기(循環式自動乾燥機, 裕能機械廠, 臺灣)에서 건조시켜 제품을 만들었다.

3) 반발효차

동백잎을 자연 일광조건(27±3℃)에서 20~30분 경과 후 실내(25±3℃)로 옮긴 다음 3~4시간 위조시켜 덖음기(炒菁機, 裕能機械廠, 臺灣)의 온도를 250~300℃로 하여 10분간 덖는다. 덖음기에서 잎을 꺼내어 유념기(揉捻機, 裕能機械廠, 臺灣)에 넣고 7±3분 동안 비빈다. 비벼진 잎의 뭉침을 풀면서 식힌다. 120±20℃로 조정된 덖음기에 넣고 10분간 덖은 후 끄집어내어 실내(3시간)에 방치(위조)하고 상태에 따라 뭉침·풀기·덖음을 반복(3회)한 후 건조기(循環式自動乾燥機, 裕能機械廠, 臺灣) 내의 온도를 80℃로 조정하여 건조시키고 제품을 만들었다.

4) 완전발효차

동백잎을 그늘에서 방치(15±3시간)하여 위조시킨 후 유념(30±10분)하고 발효과정(25±5℃,수분 80~90%, 3~5시간)을 거친 후 건조(80℃/60분)시켜 제품을 만들었다.

마. 화차

증차는 증열기의 온도를 100℃에 40~90초 동안 통과하여 세포를 불활성화하고 80℃에서 건조시켰다. 덖음차는 덖음 솥의 온도를 200~250℃로 하여 5~10분 동안 서서히 저어주면서 덖은 후 80℃에 건조시켰다.

바. 가루차

1) 동백나무 차광

동백나무의 새순이 3~4매 정도 출현하고, 수확 20여일 전이되면 검정색 차광망(차광도 95%)을 이용하여 동백나무 수관 위에 직접 차광하였다.

2) 가루차 제조

차광 처리한 동백나무로부터 상위 4~5엽까지 수확하여 증열기에서 30~90초

동안 통과 시킨후 60~80℃ 전후로 건조시킨 다음 줄기를 선별하여 분말기(粉抹機(볼밀), 다농엔지니어링, 국산)에서 60㎛이하로 분말화 하였다.

사. 시료 분쇄

성분분석을 위해 다양한 방법으로 제다된 동백차를 만든 후 제품을 이용하여 분쇄기(FOSS, 1093 Cyclotec Sample Mill)를 이용하여 0.5mm로 마쇄한다.

아. 성분분석 및 평가

엽위별 성분 함량의 차이가 예상되어 엽위별로 구분하여 잎을 채취하고 제다한 다음 분쇄기(1093 Cyclotec Mill Unit)를 이용하여 분쇄하였으며 NIR(NIR system 650)로 분석하였다. 총질소, 총아미노산, 카테킨, 비타민 C 성분은 많은 쪽에 높은 점수를 많이 부여하고, 카페인은 성분 함량이 많은 경우 감점하였다.

자. 제품 및 관능평가

동백차 제다 후 관능검사는 제품의 상태를 보는 외관 검사와 차 자체의 내질 검사로 Table 1과 같이 구분하였다. 외관검사는 차 제품의 색깔이 녹색에 가까운 것과 제품이 균일 할 때를 상품으로 하고 제품이 녹색 이외의 색이나 제품 고유의 색이 아닐 때, 제품이 불균일 할 때를 감점요인으로 하였다. 내질 검사를 위해서는 지하수를 100℃로 끓인 다음 70℃의 물 200㎖에 차 시료 5g을 넣고 3분간 침출한 후 수색, 향, 맛을 평점하였다. 제품의 향에서 이취, 풀 내음이 나고 맛이 싱그럽지 못하고 역겨운 경우와 수색이 맑지 못하고 탁한 경우 감점의 대상으로 하였다. 외관 검사와 내질 검사를 합하여 100점 만점으로 하여 외관형태에 20%, 차가 갖고 있는 내면의 특성에 80%를 배점하여 조사하였다.

Table 6. 관능검사 채점기준표

구분	외관형태				내질검사			
	계	제품 고유색깔	제품 균일성	소계	향	수색	맛	소계
	100	10	10	20	20	20	40	80

제3절 결과 및 고찰

1. 동백엽차와 화차의 주요성분분석

가. 일반성분

동백의 잎과 꽃을 제다 하여 성분을 분석한 결과는 Table 7과 같다. 덖음화차를 제외한 나머지 차는 수분이 6.0% 이하였다. 차잎의 수분은 품질과 깊은 관계가 있어 차잎이 수분을 흡수하면 변질되기 쉬운 특성이 있다. 동백차의 경우 수분함량이 비교적 적어 차 제조를 위한 기본조건을 충족시키고 있는 것으로 사료된다. 차의 맛을 좋게 하기 위해서는 떫은 맛, 쓴맛의 성분인 탄닌과 감칠맛 성분인 아미노산이 조화를 이루어야 하는데 제다된 차 중 덖음화차를 제외한 나머지 차에서 조단백의 함유량이 높게 나타났고 특히 신엽덖음차에서 높게 나타났다. 조지방은 성엽덖음차에서, 조회분은 신엽발효차에서 높게 나타났다. 이들 화학성분의 양과 조성은 제다된 차의 종류에 따라 다양하게 나타났다. 이로서 다양한 향, 맛, 수색에 대해 기대해볼 수 있다고 생각한다.

Table 7. Chemical compositions of the extracts of camellia teas

Tea type	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Crude ash (%)
성엽찐차	5.77±0.14*	14.51±0.20	2.86±0.01	3.98±0.34
성엽덖음차	5.15±0.26	13.98±0.08	3.21±0.10	3.92±0.05
신엽덖음차	4.33±0.19	16.19±0.73	1.17±0.21	3.94±0.06
덖음화차	7.53±0.26	6.20±0.12	2.02±0.18	2.28±0.26
신엽발효차	5.47±0.12	13.41±0.28	1.20±0.47	4.56±0.11

* Means±standard deviation, n=3

나. 카페인 함량

제다공정을 달리한 각종 차의 카페인 함량을 정량한 결과는 Table 8과 같다. 쓴맛을 대표하는 카페인의 함량은 제다공정에 따라 다양한 함량의 변화를 나타내었다.

일반적으로, 덖음차가 찐차보다 카페인의 함량이 많았고, 일찍 딴 차가 일조시간이 짧아 함량이 많으며, 해가림 재배한 고급차가 카페인의 함량이 많다고 하는데 동백차의 경우에는 덖음차보다 찐차와 발효차의 카페인 함량이 많았고 성엽찐차에서 5.18±0.34%로 가장 많았다. 그러나, 동일 동백나무속인 녹차와 비교할 때 카페인 성분은 비교적 적은 편이었다(Kim et al., 2002). 따라서, 신장기능의 저하로 카페인성분을 필요치 않는 사람들이나 저카페인을 요하는 사람을 위해서는 적당할 것으로 사료된다.

Table 8. Comparison of crude caffeine and crude catechins content in the extracts of camellia teas

Tea type	Crude caffeine(%)	crude catechins(%)
Steamed mature leaf tea	5.18±0.34	18.8±2.01
Roasted mature leaf tea	0.38±0.05	24.8±2.48
Roasted young leaf tea	2.72±0.22	16.2±0.99
Roasted flower tea	0.59±0.16	15.3±1.16
Fermented young leaf tea	4.56±0.11	28.6±2.53

다. 카테킨 함량

제다된 차의 카테킨 함량을 분석한 결과는 Table 8과 같다. 신엽발효차에 28.6±2.53%, 성엽덖음차에 24.8±2.48%로 다량 함유되어 있었다. 녹차의 경우 수확시기가 늦을수록 카테킨의 함량이 증가하는 경향을 나타낸 것(吉田優子 등, 1996 ; 김 등, 2002)과는 달리 본 실험에서는 신엽발효차에 가장 많은 양이 함유되어 있었다.

카테킨은 주로 쓰고 떫은 맛성분을 낸다. 오룡차와 홍차의 경우 차엽의 위조, 유념, 발효과정을 거치면서 산화효소의 작용에 의해 카테킨이 산화 중합되어 큰 변화가 일어나 맛이 발현한다고 하지만 이의 기작은 불분명하다고 한다. 다양한 약리활성이 있는 것으로 그 중요성에 관한 인식이 커져가고 있는 카테킨의 함량이 녹차의 경우 상급 14.5%, 중급 14.6%, 하급 14.6%(전남차시험장, 2003)인 것과 비교할 때, 동백차의 경우가 녹차보다도 모든 차에 다량 함유되어 있어 각종 생리·약리 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

라. 탄닌

차의 맛을 주도하는 탄닌은 6종류의 카테킨으로 구성되어 있고, 차탕의 색깔과 향기와 맛을 크게 좌우하는 주요성분이다. 녹차는 감의 탄닌과는 달리 단백질과 쉽게 분리되므로 입안이 텁텁하지 않고 산뜻한 떫은 맛을 내며, 광합성에 의해 형성되므로 일조량이 많고 질소량이 많을수록 함량이 많아지는데 동백의 경우 신엽 덖음차에 9.57±0.29%로 가장 많이 함유되어 있었고 성엽찐차와 신엽발효차에도 다량 함유되어 있었다(Table 9). 탄닌은 양이 지나치게 많으면 감칠맛이 적고 떫은 맛이 강하여 풍미가 떨어진는 원인이 된다. 녹차의 경우 무차광일 때 12.04%의 함유량을 보인 반면 차광 10일에서는 11.5%, 차광 30일에서는 9.26%로 함유량('96 보성 차시험장)의 차이를 보여 차광일수에 따른 함량의 차이가 다른데 무차광임에도 불구하고 30일 차광했을 때와 거의 비슷한 수준의 함량을 보이는 동백차는 비교적 적은 양의 탄닌을 함유하고 있어 녹차에 비해 보다 감칠 맛이 있을 것으로 사료된다.

Table 9. Comparison of tannin, theanin and vitamin C content in the extracts of camellia teas

Tea type	Tanin(%)	Theanine(mg/100g)	Vitamin C(mg/100g)
Steamed mature leaf tea	9.13±0.33	165.8	172.2±0.97*
Roasted mature leaf tea	4.61±0.08	115.1	156.4±2.33
Roasted young leaf tea	9.57±0.29	514.5	112.2±4.70
Roasted flower tea	8.30±0.16	1074	227.7±1.67
Fermented young leaf tea	9.31±0.05	527.9	43.6±1.70

1) mean±s.d., n=3

마. 테아닌

아미노산의 40~60%는 테아닌으로 단맛이 난다. 테아닌은 차의 품질을 결정하는 중요한 인자로 작용하며 직사광선에 많이 노출됨과 동시에 다른 물질로 전환된다. 녹차의 경우 잎을 수확하는 시기나 재배방법에 따른 성분차이가 있어 온

도가 낮고 일조량이 적을수록 그 함량이 증가하는데, 동백의 경우에서도 신엽덖음차와 신엽발효차는 성엽찐차와 성엽덖음차 보다 약 3~4배 정도 많았으며 특히 덖음화차에는 1074mg/100g로 가장 많이 함유되어 있었다(Table 9).

바. 비타민 C

세포의 산화 환원압을 조절하고 단백질 대사에 관여하는 비타민 C는 녹차중 단백질과 결합한 상태이므로 잘 파괴되지 않는다고 하며(최, 1999) 양질의 고급차일수록 비타민 C의 함량이 많고 쉽게 용출된다고 한다. 동백을 이용하여 제다된 차의 종류에 따라 다양한 함유량의 변화를 보였는데 잎을 이용한 차와 달리 덖음화차에 227.7±1.67mg/100g으로 가장 많은 양이 함유되어 있었으며(Table 9), 녹차중 비타민 C의 함량과 비슷하였다(Kim et al., 2002). 또한 비타민 C는 탄닌과 반대로 채취시기가 빠를수록 즉, 유엽일수록 함량이 높은 경향이 있는데 동백차의 경우 성엽을 이용하여 제다된 차가 신엽차보다도 비타민 C가 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

사. 유리아미노산 분석

아미노산은 종류에 따라 맛의 독특한 특성을 가지고 있어, 대부분의 아미노산은 단맛을 내지만 글루타민과 아스파라긴은 신맛을, 알기닌은 차의 쓴맛을 내는 것으로 알려져 있다. 이러한 특성을 이용하여 글루탐산 나트륨염은 화학조미료로 이용되고 있다. 본 실험을 통하여 얻어진 성엽찐차, 성엽덖음차, 신엽덖음차, 신엽발효차 및 덖음화차의 유리아미노산의 함량은 Table 10과 같다.

성엽찐차의 경우 Glu〉 Asp〉 Tyr〉 Pro〉 Phe 등의 순으로 glutamic acid가 25.63pmol로 가장 많았다. 성엽덖음차의 경우에도 Glu〉 Asp〉 Thr〉 Tyr〉 Arg 등의 순으로 glutamic acid가 18.66pmol로 많았다. 둘 다 glutamic acid가 aspartic acid 보다 약 두배 가량 많았고 성엽찐차는 Tyrosine의 4배, 성엽덖음차는 Threonine의 4배 정도로 glutamic acid의 함량이 월등히 많았다. 반면, 신엽덖음차는 Asn〉 Gln〉 Thr〉 Asp〉 Ser 등의 순으로 Asparagine이 25.68pmol로 가장 많이 함유되어 있었다. 신엽발효차는 Asn〉 Asp〉 Tyr〉 Pro〉 Thr 등의 순으로 Asparagine이 18.37pmol로 많았는데 신엽차의 경우 덖음차와 발효차 모두 Asparagine의 함량이 많았다. 덖음화차의 경우 Cys〉 Pro〉 Tyr〉 Val〉 Asp 등의

순이었는데 cysteine이 22.24pmol로 가장 많았다.

아미노산 분포는 차잎을 따는 시기, 차의 품종, 차광유무, 질소 비료의 종류 등에 따라 달라진다. 中川(1973)은 녹차의 달고 담백한 맛은 아미노산 및 당류에 의하며 아미노산을 제거할 경우 이러한 맛이 1/3정도로 감소한다고 하였다. 동백차의 경우 차의 맛성분을 내는 glutamic acid와 aspartic acid, 그리고 Arginine 등의 필수아미노산이 고루 들어있어 차의 풍미를 더해줄 뿐만 아니라 영양학적인 면에서도 중요하다고 사료된다.

Table 10. Composition of free amino acids in camellia tea extracts

(pmol)

Amino acid	Steamed mature leaf tea	Roasted mature leaf tea	Roasted young leaf tea	Roasted flower tea	Fermented young leaf tea
Cys	2.68	2.79	1.27	22.24	3.23
Asp	14.91	14.43	6.61	7.26	9.32
Glu	25.63	18.66	2.33	3.94	5.71
Asn	0.79	1.08	25.68	2.22	18.37
Ser	1.49	1.35	5.14	1.27	5.93
Gln	0.75	0.86	12.41	2.21	5.75
Gly	0.18	0.34	4.64	0.78	2.74
His	0.36	0.01	3.75	1.26	2.56
Arg	0.65	5.71	2.51	2.85	3.07
Thr	3.29	8.09	7.19	2.60	6.31
Ala	5.44	5.59	3.64	4.03	3.12
Pro	7.33	5.69	4.08	14.32	6.96
Tyr	7.72	7.57	4.59	11.68	8.12
Val	2.66	3.32	4.83	11.02	5.55
Met	4.64	3.29	0.67	2.06	1.01
Cys2	2.18	2.24	0.29	1.29	0.54
Ile	2.67	2.63	2.24	3.24	2.55
Leu	3.15	3.21	3.30	2.79	4.51
Phe	4.84	4.76	2.28	1.10	2.10
Trp	4.54	4.02	1.33	1.11	1.53
Lys	4.08	4.34	1.23	0.75	1.00

아. 핵산 관련물질의 정량

동백차의 핵산물질을 정량한 결과는 Table 11과 같다. 생엽(신엽)과 신엽덖음

차, 신엽발효차의 경우 6종류의 핵산을 함유하고 있었다. 핵산관련물질은 정미성분으로서 중요한 역할을 하며 식물로부터 분리된 5′-nucleotide류 중 풍미를 좋게 하는 효과가 있는 것은 GMP이고 반면 AMP는 풍미에는 그다지 영향을 미치지 않지만 glutamic acid와 공존할 때 풍미가 향상된다고 한다(國, 1960). 본 실험에서는 신엽의 GMP 5.19μmol/g, Hypoxanthine 5.98μmol/g, AMP 8.63μmol/g에 비해 신엽덖음차의 경우 GMP 7.86μmol/g, Hypoxanthine 8.57μmol/g, AMP 12.67μmol/g로 그 양이 증가하였는데 차로 제조함으로서 풍미가 강화된 것으로 사료된다. 또한 신엽에 다량 함유된 IMP는 모든 제다과정을 통해 감소하였다. 덖음화차의 경우 GMP와 AMP가 소량 함유되어 있었고 MeOH 추출물에서 AMP가, D.W. 추출물에서 CMP가 검출되지 않았다

Table 11. The contents of nucleotides and their related compounds in camellia tea extracts

(μmol/g)

Tea type	CMP	UMP	GMP	IMP	Hypoxanthine	AMP
Steamed mature leaf tea	3.04	ND†	1.56	0.78	3.12	ND
Rosted flower tea(MeOH)	1.02	0.84	0.94	0.67	2.63	ND
Rosted flower tea(D.W.)	ND†	1.30	2.14	0.86	3.47	0.69
Leaf(Young leaf)	1.15	1.48	5.19	8.09	5.98	8.63
Roaste young leaf tea	1.05	1.28	7.86	2.11	8.57	12.67
Fermented young leaf tea	0.85	2.48	7.69	6.21	8.96	4.10

† Not detected

자. 유리당의 정량

당류는 비타민과 미네랄 등과 함께 차의 맛과 영양성을 결정하는 주요 인자중의 하나이다. Table 12는 각 동백차의 종류에 따른 단당류의 종류와 함량을 나타낸 것이다.

녹차의 잎중에는 Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose, Raffinose 및 Stachyose 등이 존재한다. 이와 비슷한 결과로 동백의 모든 차에서도 Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose가 검출되었다. 성엽찐차와 성엽덖음차에서는 Sucrose가 19.3,

20.2unit로 가장 많았고, 신엽발효차는 Fructose가 4.0unit로 가장 많았다. 주목할 것은 덖음화차의 경우 Glucose 65.5unit, Fructose 59.6unit로 매우 많은 양을 함유하고 있었다. 반면 Sucrose는 다른 차에 비해 2.8unit로 가장 적은 양을 함유하였다. 池谷 등(1990)은 녹차에 있어 수용성 당류중 Sucrose가 약 70% 함유되어 있으므로 환원당보다 수용성 당류가 품질과 관련이 있다고 보고한 바 있다. 동백의 경우에도 덖음화차를 제외한 모든 차의 Sucrose함량이 다른 당류에 비해 비교적 높은 경향을 나타냈으나 녹차와 비교하면 그 양은 적었다. 또한 신엽덖음차와 신엽발효차의 경우 신엽생엽에 비해 제다과정을 통하여 유리당이 다량 소실됨을 관찰 할 수 있었다.

Table 12. Free sugar contents of camellia tea extracts

(unit, nmol/0.1mg)

Tea type	Glucose	Fructose	Sucrose	Maltose	합계
Steamed mature leaf tea	5.7	9.2	19.3	0.1	34.2
Roasted mature leaf tea	7.0	10.7	20.2	0.1	38.0
Leaf(Young leaf)	3.3	6.7	12.8	2.1	24.9
Roasted young leaf tea	1.4	2.1	5.0	1.8	10.2
Roasted flower tea	65.5	59.6	2.8	3.5	131.4
Fermented young leaf tea	2.1	4.0	3.3	1.8	11.1

2. 생리·약리활성 탐색

가. 항미생물 활성 테스트

최근에 천연물로부터 성분을 추출하여 미생물의 증식억제 및 살균을 목적으로 천연 항미생물 효과가 있는 물질을 탐색하는 연구가 증가하고 있다(Fleming et al. ; 1969, 김 등 ; 1997). 또한 식품의 원료나 부재료 등에 항미생물이 존재함이 계속적으로 밝혀지고 있고 식품에의 응용에 관한 연구가 진행되고 있다(Marwan & Nagel ; 1986). 동백의 경우 천연 식품보존료 개발의 일환으로 유박 추출물의 항균활성에 관한 연구(Kang et al. ; 1998)가 이루어진바 있으나 그 외에 수행된 연구는 아직 없는 실정이므로 동백의 각 부위 및 제다된 차를 이용하여 항미생물 활성 테스트를 실시하였다.

1) 항균활성 테스트

동백의 각 부위를 채취·제다화하여 추출한 시료가 박테리아의 성장억제에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 13과 같다. 애기동백 신엽(CA10), 애기동백 신엽덖음차(CA14) 및 동백신엽덖음차(CA11)는 *P. vulgaris*에 대해 억제활성을 보였는데 그 중에서도 애기동백의 신엽(생엽)인 CA10에서 높은 활성이 나타났고, 동백은 성엽(CA1), 수피(CA8), 성엽덖음차(CA3) 및 신엽(CA9)에서, 애기동백은 신엽(CA10)과 신엽덖음차(CA14)에서 *Bacillus subtilis*의 증식을 강하게 억제하였음을 관찰할 수 있었다(Table 13, Fig. 1, Fig 2). Gram 음성세균인 *P. vulgaris*보다 Gram양성세균인 *Bacillus subtilis*에서 여러 부위에 걸쳐 높은 활성을 나타내었으며 특히, 애기동백의 신엽과 신엽으로 제다한 덖음차는 두 종의 박테라아에 대한 높은 항균성을 나타내었다.

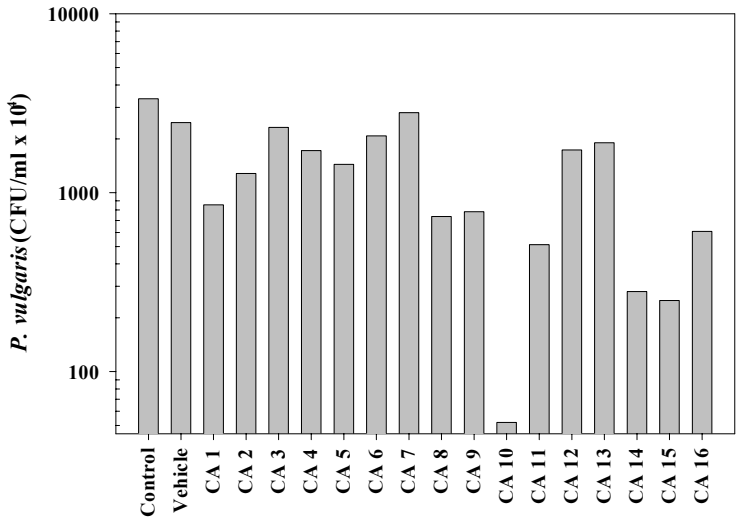


Fig. 1. Effect of camellia extracts on *Proteus vulgaris*.

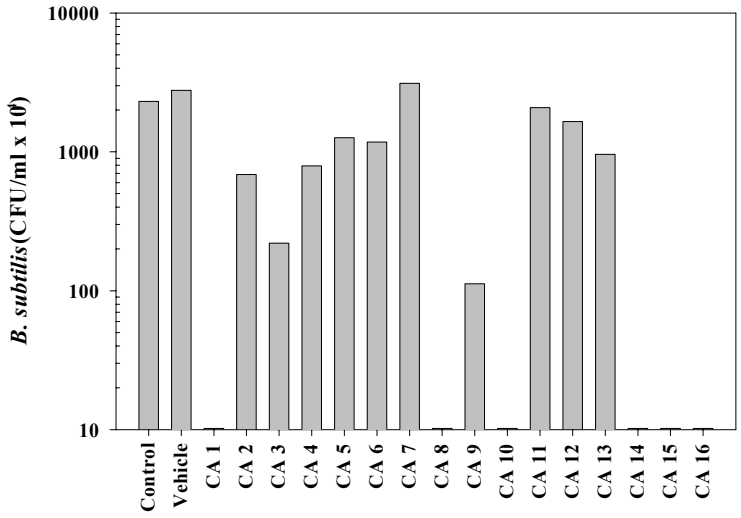


Fig. 2. Effect of camellia extracts on *Bacillus subtilis*.

Table 13. Antimicrobial activity of camellia extracts

	Bacterial strain (CFU)*		Fungal strain (%)	
	Proteus vulgaris	*Bacillus subtilis*	*Candida albicans*	*Trichosporon beigelii*
Control	3352	2312	100	100
Vehicle	2464	2776	105	95
CA 1	856	0	125	100
CA 2	1280	688	115	95
CA 3	2320	220	100	105
CA 4	1720	792	100	90
CA 5	1440	1264	90	90
CA 6	2080	1176	80	90
CA 7	2800	3120	95	95
CA 8	736	0	95	100
CA 9	784	112	80	80
CA10	52	0	2	15
CA11	512	2080	60	15
CA12	1736	1656	60	90
CA13	1904	960	50	85
CA14	280	0	1	2

* CFU : Colony formation units

2) 항진균활성 테스트

애기동백의 신엽과 신엽덖음차인 CA10, CA14는 *C. albicans*에, CA10, CA11 및 CA14는 *T. beigelii*에 높은 활성을 나타내었으며, 특히 CA14는 *C. albicans*와 *T. beigelii* 모두에 대하여 매우 강한 생육억제활성을 나타내었다(Table 13, Fig. 3, Fig 4).

이상의 실험결과 동백추출물은 세균보다는 진균류에 대한 저해효과가 비교적 강하였고, 항미생물 활성은 CA10과 CA14에서 세균과 진균 모두에 걸쳐서 탁월한 활성을 나타내었다.

나. 세포독성 효과

발생기전이 명확하지 않은 난치병의 하나인 암에 대한 항암제가 개발되고 있으나 독성 등으로 인한 부작용이 나타나므로 문제시 되고 있는 현시점에서 이와 같은 항암제의 부작용을 최소화하기 위해 생약을 이용한 항암제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

세포독성은 비특이적 방어기전으로서 암세포에 직접적으로 손상을 줄뿐만 아니라 동물 생체내 림프구나 대식세포와 같이 표적세포에 대하여 세포독성을 나타내는 작동세포를 자극함으로서 그 세포독성 효과를 항진시키는 것으로 보고되어 있다 (Fischer etc, 1992), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 분석법은 살아있는 세포내 미토콘드리아의 dehydrogenase에 의해서 생성되는 formazan을 spectrophotometer를 이용하여 측정함으로써 세포에 대한 독성을 조사하는 방법으로(Michael etc, 1988 ; Tom Mosmann, 1983) 현재 많은 약물의 세포독성을 평가하는데 사용되고 있다.

Fig. 5는 동백추출물이 암세포에 미치는 독성효과에 관하여 나타낸 것이다. 본 실험 결과 동백의 생엽과 수피 그리고 화차가 각각 약 200, 230, 320㎍/ml의 농도에서 암세포의 50%를 치사시켜 백혈병 세포주에 대한 암세포 증식억제효과가 인정되었다. 생엽의 경우 낮은 농도에서도 효과가 있었으나 덖음차와 찐차에서는 그 효과가 미미했는데 이는 제다 과정 중에 생리활성물질의 변이에서 기인한 것이라 여겨지며 그 원인에 관한 규명이 필요할 것으로 사료된다.

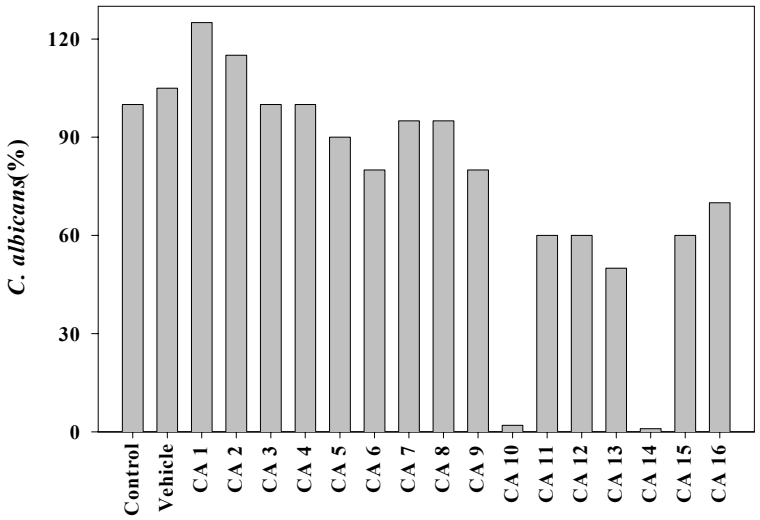


Fig. 3. Effect of camellia extracts on *Candida albicans*.

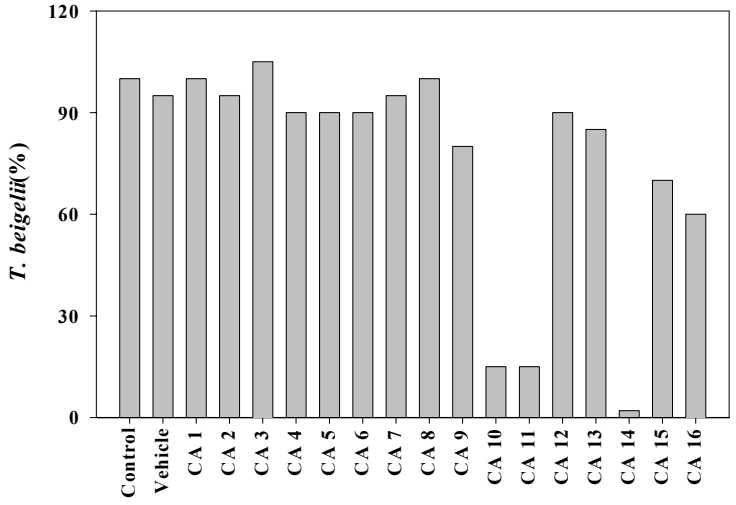


Fig. 4. Effect of camellia extracts on *Trichosporon beigelii*.

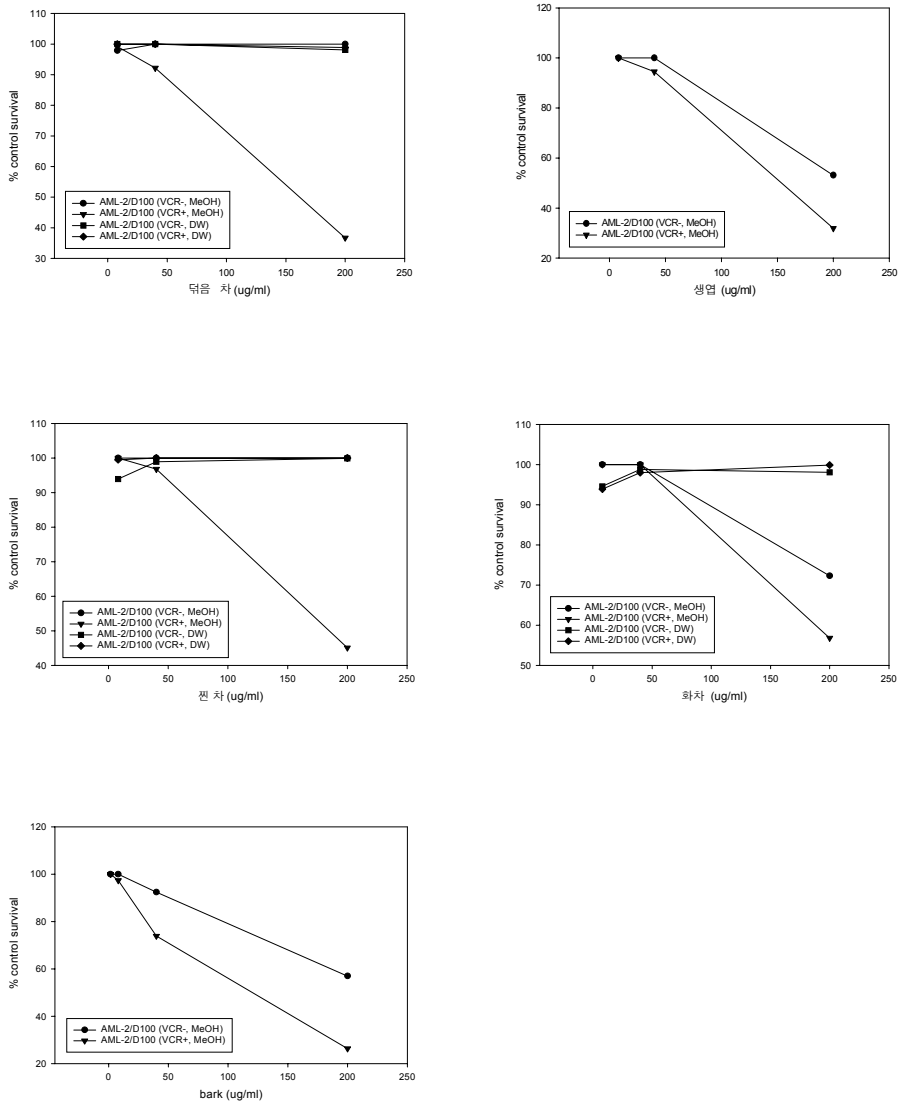


Fig. 5. Chemosensitizing effect of camellia extracts on AML-2/D100 overexpressing P-glycoprotein in the presence of vincristine. Cytotoxicity was determined by an MTT assay. VCR, vincristine; -/+, without/with, ●, ■; Cytotoxicity effect, ▼, ◆; Chemosensitizing effect

다. Chemosensitizing effect

내성 기전은 세포와 항암제의 종류에 따라 다르지만 항암제에서 내성을 보이는 암세포가 다른 종류의 항암제에서도 비슷한 증상을 보이는 현상을 다약제 내성(multidrug resistance, MDR)이라 한다. 다약물 내성의 출현으로 다른 항암제에 대하여 내성을 보이게 된다면 임상적으로 문제가 된다. 항암제에 잘 반응하는 암세포가 내성을 보이는 경우가 많기 때문에 내성기전을 억제하여 내성암세포의 항암제에 대한 감수성을 증가시키는 역할을 하는 약물을 화학요법 감작제(chemosensitizer)라 한다. 지금까지 많은 약물들이 보고되고 있으나 부작용 등이 문제가 되어 새로운 화학요법 감작제의 개발이 필요한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 백혈병(AML) 세포주를 이용하여 동백추출물의 화학요법 감작제로서의 가능성 여부를 조사하고자 하였다. 실험 결과(Fig. 5) 동백의 덖음차와 찐차의 메탄올 추출물이 각각 160, 180㎍/ml의 농도에서 내성세포주인 AML-2/D-100을 강하게 억제하였고 화차에서도 화학요법 감작효과가 인정되었다.

라. 혈전용해 테스트

생체내의 정상적인 혈액은 응고와 용해작용의 균형으로 혈전이 생기지 않는다. 그러나 여러 가지 원인으로 순환의 불균형으로 혈전이 체내에 과도하게 축적되거나 혈전용해 기작에 이상이 있는 경우에는 혈전증을 유발하게 된다. 혈전이 혈액순환을 방해하여 조직으로의 산소 및 영양분의 공급이 중단되어 뇌출혈, 심장병 및 심장마비와 같은 혈관계 질환을 유발하게 되므로 현대 의학계에서는 혈전형성 방지를 위한 혈전용해제에 관한 많은 연구를 수행하고 있다. 다양한 약리활성이 있는 동백을 제다하여 예방 및 치료가 가능한 기능성 차 및 항혈전제로서의 가능성을 검토하고자 실험을 실시하였다.

1) 단백질 분해 활성테스트

Fig. 6과 같이 12시간 반응 후 침전된 각 추출물에서 투명대가 형성된 것으로 보아 이들 추출물 내에 단백질 분해효소가 존재함이 확인되었고 이들 시료 중 신엽덖음차, 신엽발효차, 덖음화차에서 매우 강한 단백질분해활성이 존재함을 확인하였다. 기타 다른 처리구에서도 다양한 크기의 단백질 분해활성을 나타내었다.

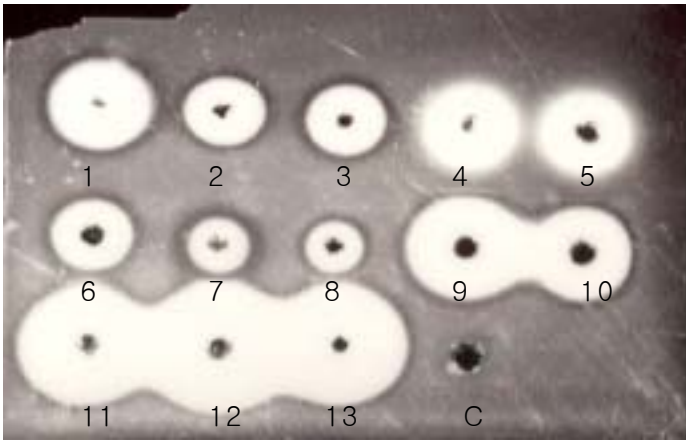


Fig.6. The proteolytic activity from camellia extracts on 2% skim milk agarose plate.

1. 성엽(MeOH); 2. 성엽찐차(MeOH); 3. 성엽덖음차(MeOH); 4. 성엽찐차(DW); 5. 성엽덖음차(DW); 6. 덖음화차(MeOH); 7. 덖음화차(DW); 8. 수피(MeOH); 9. 신엽(MeOH); 10. 신엽(애기동백, MeOH); 11. 신엽덖음차(MeOH); 12. 신엽발효차(MeOH); 13. 덖음화차(MeOH); C. control(DW)

2) 혈전분해 활성테스트

동백 추출물이 침적된 lane 중 No. 12의 신엽발효차에서 만이 약간의 투명대가 형성되었으나 그 밖의 시료에서는 유의할 만한 활성이 나타나지 않았다(Fig. 7). 그러나 동백차의 새로운 추출법이나 제다공정의 변화 및 개발로 새로운 결과를 얻을 수 있는 가능성은 크다고 사료된다.

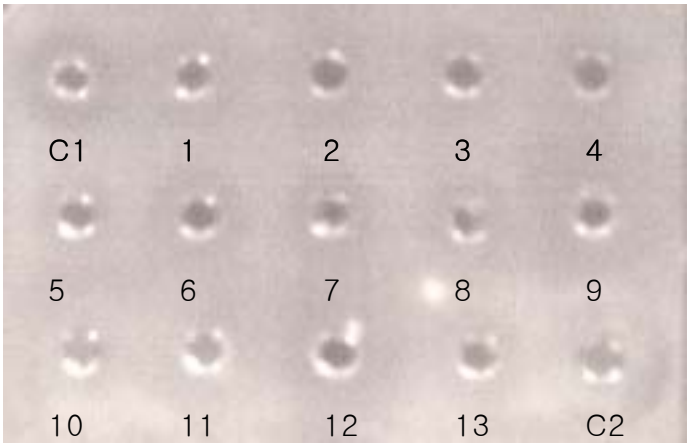


Fig. 7. The screening of fibrinolytic activity from camellia extracts on 2% fibrin agarose plate.

C1, Nagative control(DW); 1, 성엽(MeOH); 2, 성엽찐차(MeOH); 3, 성엽덖음차(MeOH); 4, 성엽찐차(DW); 5, 성엽덖음차(DW); 6, 화차(MeOH); 7, 화차(DW); 8, 수피(MeOH); 9, 신엽(MeOH); 10, 신엽(애기동백, MeOH); 11, 신엽덖음차(MeOH); 12, 신엽발효차(MeOH); 13, 덖음화차(MeOH); C2, positive control(plasmin)

마. 항산화 활성

녹차의 경우 여러 가지 기능이 과학적으로 규명되어 기능성 식품으로 인식되고 있는 가운데 녹차의 카테킨은 강력한 천연 항산화제로 특히 epigallocatechin gallate가 주효능임이 밝혀진 바 있다. 동일 속(屬)인 동백에서도 비슷한 효과가 예상되므로 동백추출물을 이용하여 항산화 활성에 관하여 탐색하고 재조명 함으로서 기능성 제품개발에 기초자료로 활용하고자 본 실험을 수행하였다.

실험 결과는 Fig. 8에서 알 수 있듯이 최종농도 200㎍/㎖에서 동백화차의 메탄올 추출물 20%, 덖음차와 찐차의 DW추출물에서 20%의 항산화 활성을 나타내었다. 반면 찐차와 생엽의 DW추출물은 항산화 효과가 거의 없었고 물추출보다 메탄올 추출을 실시한 경우가 항산화 활성이 높은 경향을 나타내었으며 수피에서 물추출물의 효과는 나타나지 않았다.

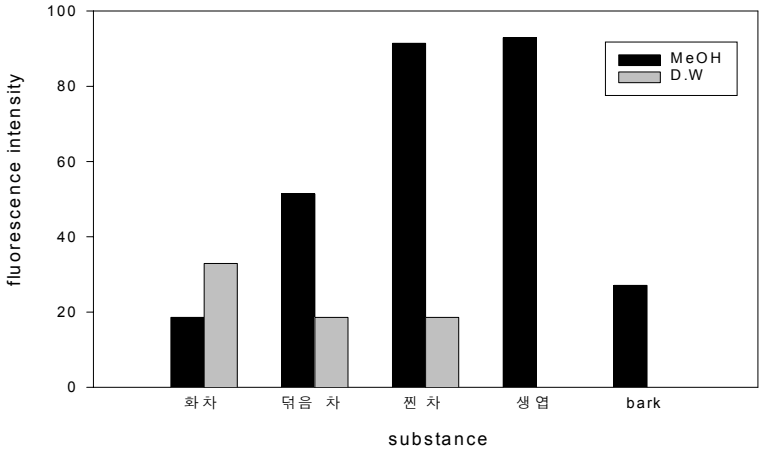


Fig. 8. Antioxidative effect of camellia extracts

바. 간기능 장애에 미치는 영향

암컷 실험 동물의 경우 혈청 중 AST 함량이 정상군에서 58.00±11.98 Karmen/㎖인데 비해 대조군에서는 90.60±11.15 Karmen/㎖으로 유의하게 증가하였으므로 CCl_4의 투여로 인해 간 기능 손상이 유발되었음을 확인할 수 있다. 이러한 손상을 동백 추출물이 억제할 수 있는지를 확인하기 위하여 추출물들을 각기 투여하였는데 동백엽 발효차 실험군에서는 87.60±4.41 Karmen/㎖으로, 화차의 경우 94.60±6.27 Karmen/㎖으로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 9).

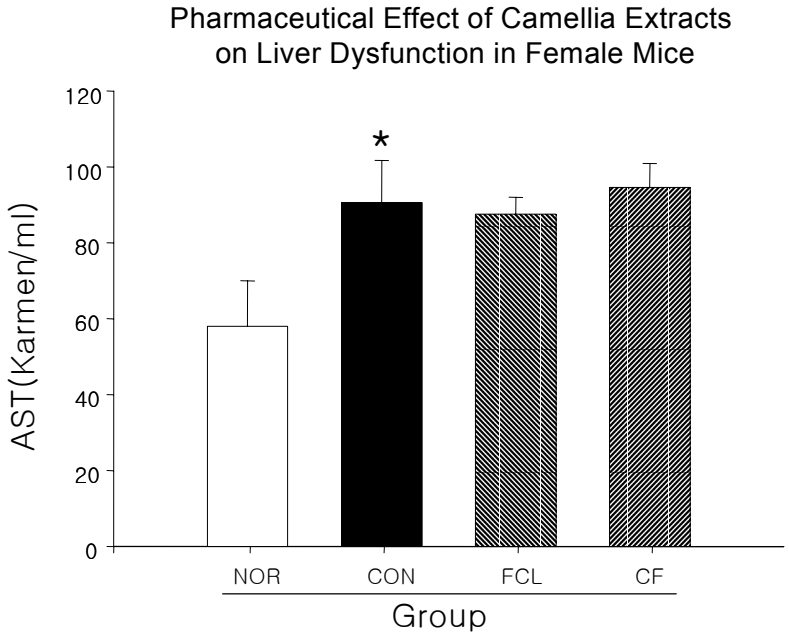


Fig. 9. Phamaceutical effect of camellia tea extracts on CCl_4 induced liver dysfunction in female mice. Control and sample mice were treated intraperitoneally with CCl_4(1 ㎖/㎏ body weight) with corn oil(vehicle), and serum level of AST was measured after 7 days. Saline as vehicle to control, methanol extracts of camellia tea to sample were administered to mice for 5 days after CCl_4 injection. n. Values are mean±S.E. of at least five experiments. *, significantly different from the normal; #, significantly different from the control. NOR, normal; CON, control; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

수컷에서는 정상군에서 57.60±6.03 Karmen/㎖인데 비해 대조군에서는 88.40±7.73 Karmen/㎖으로 유의하게 증가하였다. 하지만 발효차 실험군에서는 86.80±8.33 Karmen/㎖으로, 화차 실험군에서는 94.80±9.26 Karmen/㎖으로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 10).

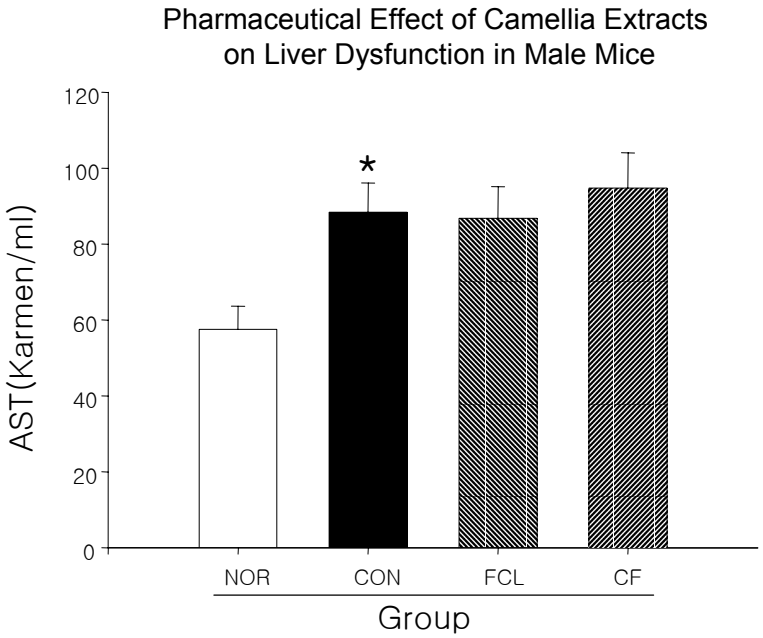


Fig. 10. Phamaceutical effect of camellia tea extracts on CCl_4 induced liver dysfunction in male mice. Control and sample mice were treated intraperitoneally with CCl_4(1 ㎖/㎏ body weight) with corn oil(vehicle), and serum level of AST was measured after 7 days. Saline as vehicle to control, methanol extracts of camellia tea to sample were administered to mice for 5 days after CCl_4 injection. n. Values are mean±S.E. of at least five experiments. *, significantly different from the normal; #, significantly different from the control. NOR, normal; CON, control; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

혈청 중 ALT 함량에서 암컷에서는 정상군에서 19.80± 2.87 Karmen/㎖인데 비해 대조군에서는 33.80±2.06 Karmen/㎖으로 유의하게 증가하였고, 발효차 실험군에서는 20.80±1.59 Karmen/㎖으로 유의하게 감소하였으며, 화차 실험군에서는 27.60±3.20 Karmen/㎖으로 변화가 없었다(Fig. 11).

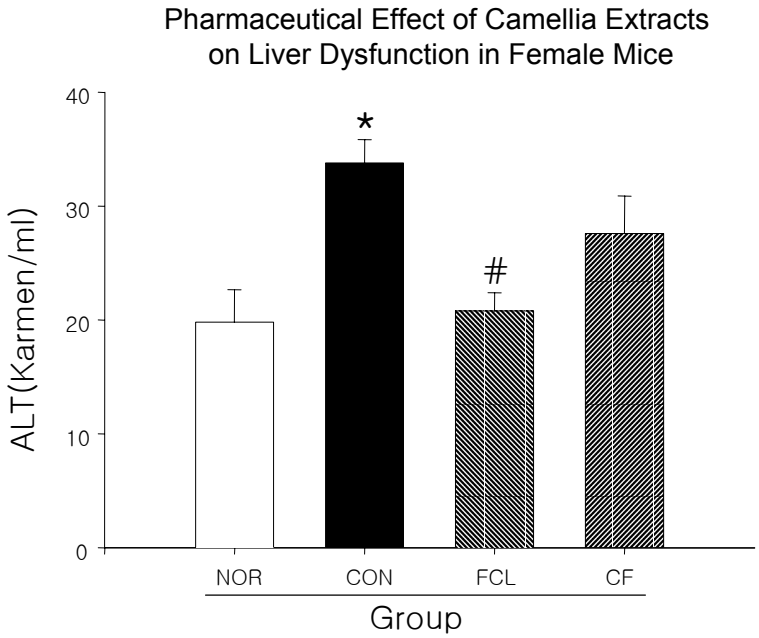


Fig. 11. Phamaceutical effect of camellia tea extracts on CCl_4 induced liver dysfunction in female mice. Control and sample mice were treated intraperitoneally with CCl_4(1 ㎖/㎏ body weight) with corn oil(vehicle), and serum level of ALT was measured after 7 days. Saline as vehicle to control, methanol extracts of camellia tea to sample were administered to mice for 5 days after CCl_4 injection. n. Values are mean±S.E. of at least five experiments. *, significantly different from the normal; #, significantly different from the control. NOR, normal; CON, control; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

수컷에서는 정상군에서 18.60±1.25 Karmen/㎖인데 비해 대조군에서는 31.40±3.03 Karmen/㎖으로 유의하게 증가하였으며, 발효차 실험군에서는 23.00±1.92 Karmen/㎖으로, 화차 실험군에서는 21.60±1.60 Karmen/㎖으로 유의하게 감소하였다(Fig. 12).

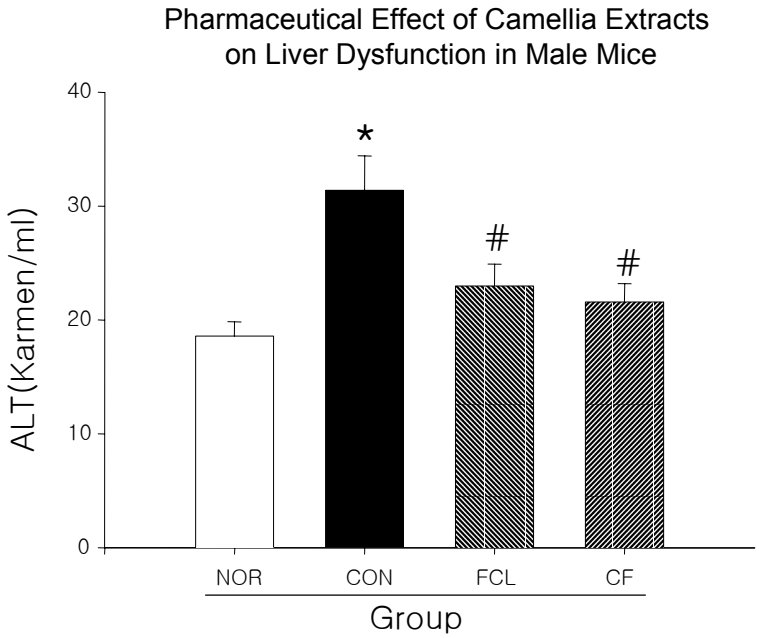


Fig. 12. Phamaceutical effect of camellia tea extracts on CCl_4 induced liver dysfunction in male mice. Control and sample mice were treated intraperitoneally with CCl_4(1 ㎖/㎏ body weight) with corn oil(vehicle), and serum level of ALT was measured after 7 days. Saline as vehicle to control, methanol extracts of camellia tea to sample were administered to mice for 5 days after CCl_4 injection. n. Values are mean±S.E. of at least five experiments. *, significantly different from the normal; #, significantly different from the control. NOR, normal; CON, control; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea .

이상의 실험 결과 동백엽 발효차의 경우 간 손상과 관련된 지표를 감소시키는 경향을 보였으며 혈청 중 ALT 함량에서는 수컷과 암컷 모두에서 유의한 감소를 나타내어 간 기능에 긍정적인 영향을 나타냄을 확인하였다.

사. HL-60에 대한 Anti-proliferative effect

동백 엽차의 메탄올 추출물을 250㎍/㎖ 농도로 48시간 동안 처리했을 때 HL-60 세포의 성장이 억제되는 것으로 나타났다. 또한 이 농도처리 후 세포의 형태를 관찰해서 아폽토시스가 일어났음을 확인하였으며, 이 때 PARP cleavage 또한 시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 사실로 볼 때 동백나무 잎의 메탄올 추출물이 caspase-3의 활성을 유도하여 PARP cleavage를 일으키고, 이러한 경로를 통해 아폽토시스를 유발하여 암세포의 성장을 억제하고, 암세포의 사멸을 일으켜 항암 효과를 나타내는 것이라 볼 수 있다(Fig. 13, 14, 15).

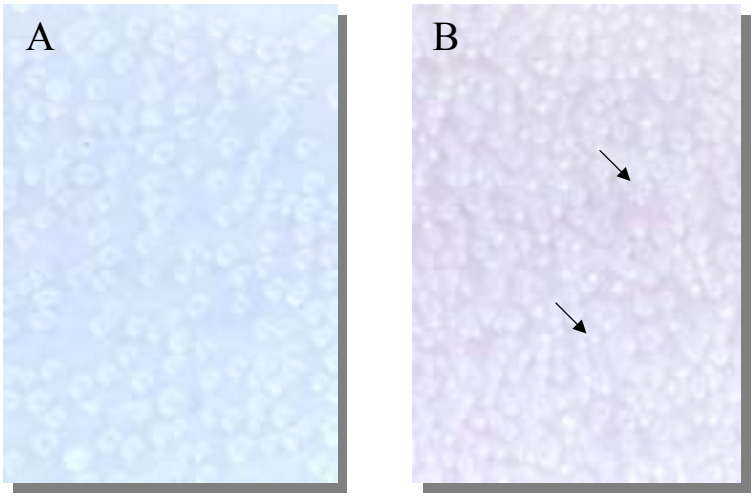


Fig. 13. HL-60 Morphology observation. HL-60 cells were incubated for 48 hrs in the absence (A) and presence (B) of MeOH extracted fresh leaves (250ug/ml). Arrows show apoptotic characters

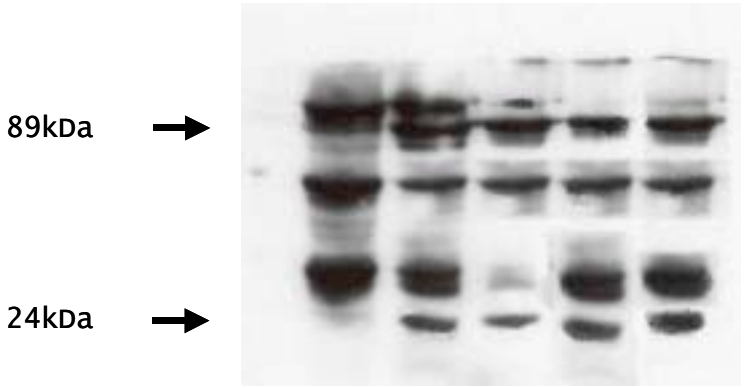


Fig. 14. Time Course Incubation of HL-60 with MeOH Extracted Fresh Leaves (250ug/ml). PARP antibody detected full length PARP (116kDa), as well as the large fragment (89kDa) and small fragment (24kDa) of PARP produced by caspase cleavage

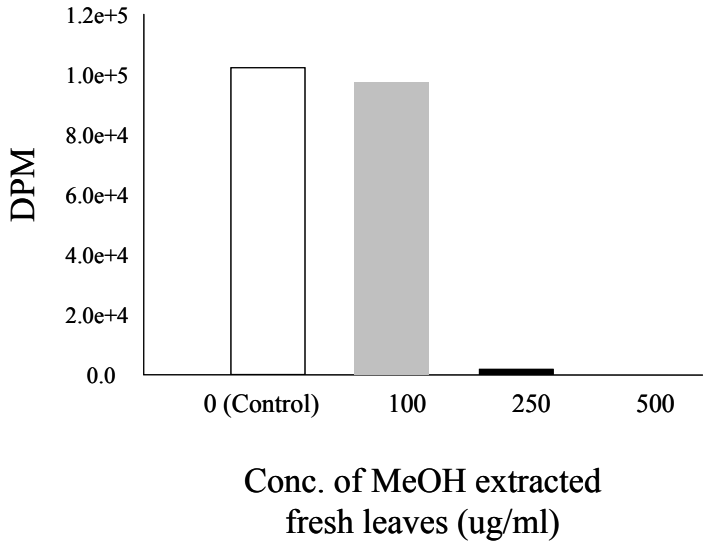


Fig. 15. [3H]-thymidine Uptake

아. 안전성 테스트

단기 독성 시험을 위해 실험 동물인 생쥐(ICR, 25±2g)에 추출물을 각기 100 및 400㎎/㎏ body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 후 ALT 함량을 측정한 결과, 암컷의 경우 추출물을 투여하지 않은 정상군에서는 19.80±2.01 Karmen/㎖로 나타난 데 비해 발효차 실험군에서는 100 및 400㎎/㎏ body weight에서 각각 24.40±2.34 Karmen/㎖와 20.40±1.69 Karmen/㎖로 나타나 유의한 변화는 없었고, 화차 실험군에서는 각각 24.60±1.94 Karmen/㎖와 25.00±1.84 Karmen/㎖로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 16)

.

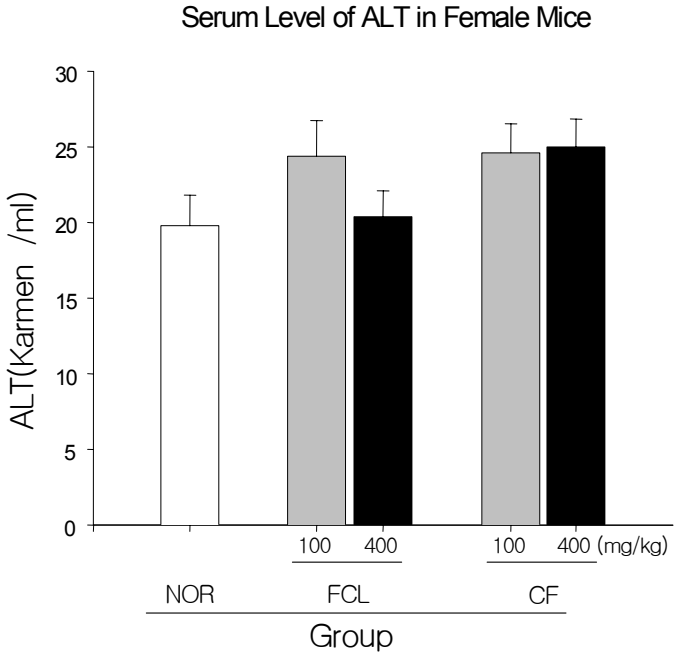


Fig. 16. Short term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of ALT in female mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

수컷의 경우 정상군에서는 17.60±1.33 Karmen/㎖로 나타난 데 비해 발효차 실험군에서는 100 및 400㎎/㎏ body weight에서 각각 23.40±2.18 Karmen/㎖와 25.60±3.53 Karmen/㎖로 나타나 유의한 변화는 없었고, 화차 실험군에서는 각각 24.80±3.44 Karmen/㎖와 22.20±1.77 Karmen/㎖로 나타나 유의한 변화는 없었다 (Fig. 17).

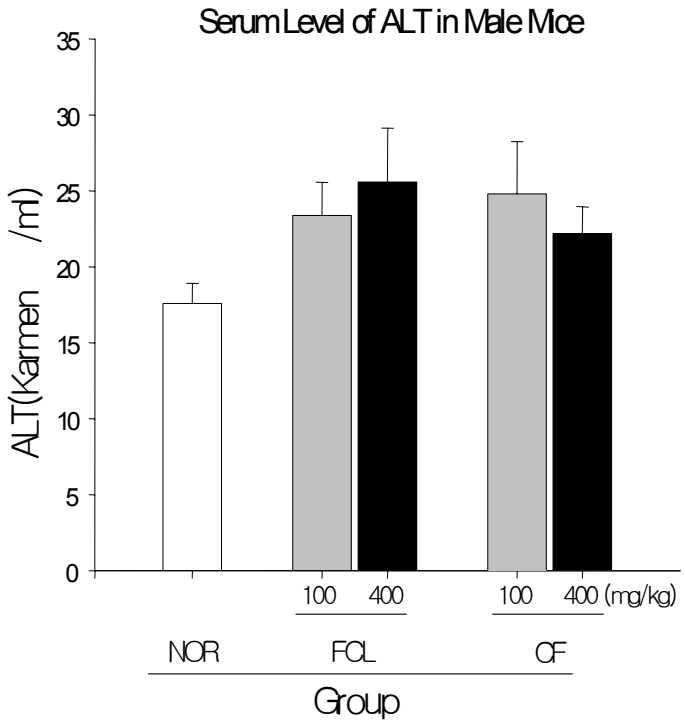


Fig. 17. Short term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of ALT in male mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

BUN 함량은 암컷의 경우 정상군이 14.60±1.69㎎/dℓ인데 비해 동백엽 발효차를 100 및 400㎎/㎏ body weight 투여한 경우 각각 15.00±1.58㎎/dℓ와 16.00±1.58㎎/dℓ로 유의한 변화는 없었으며, 화차를 투여한 경우 각각 16.40±2.31㎎/dℓ와 15.80±1.49㎎/dℓ으로 변화가 없었다(Fig. 18).

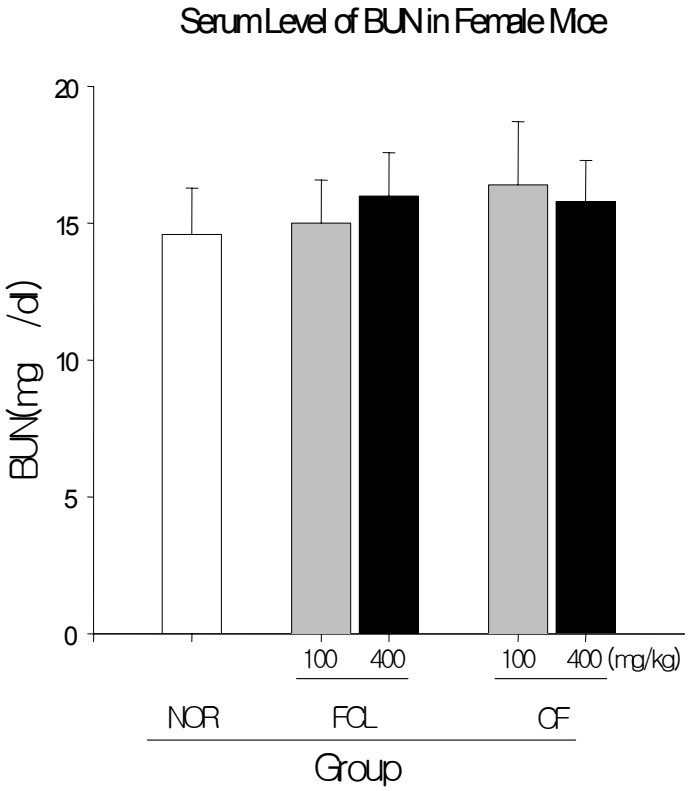


Fig. 18. Short term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of BUN in female mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

수컷의 경우 정상군이 13.20±1.06㎎/dℓ인데 비해 발효차를 100 및 400㎎/kg body weight 투여한 경우 각각 13.80±1.28㎎/dℓ와 14.00±1.41㎎/dℓ으로, 화차를 투여한 경우 각각 13.00±1.22㎎/dℓ와 13.40±1.86㎎/dℓ로 유의한 변화는 없었다 (Fig. 19).

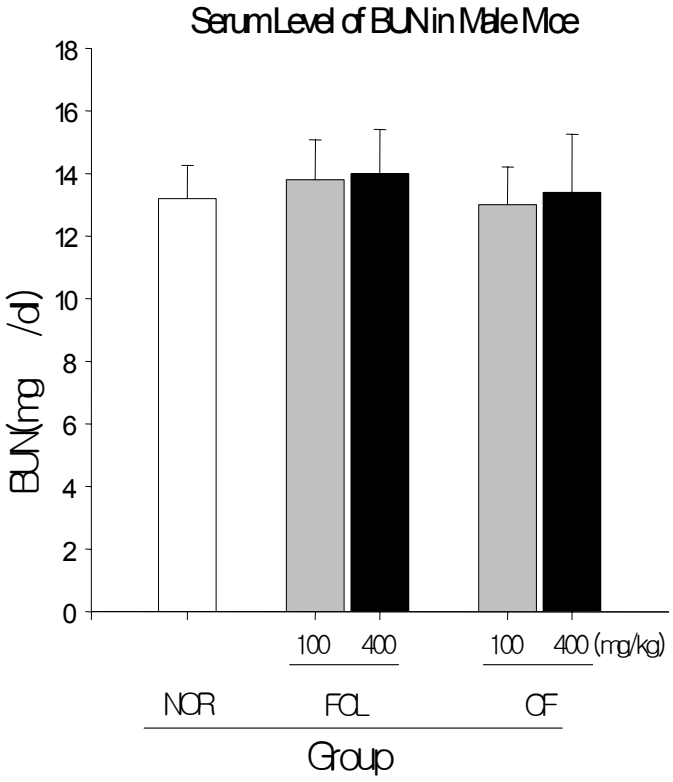


Fig. 19. Short term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of BUN in male mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

Creatinine 함량은 암컷의 경우 정상군에서 1.78±0.08㎎/dℓ인데 비해 발효차를 100 및 400㎎/㎏ body weight 투여한 경우 각각 1.82±0.06㎎/dℓ 및 1.86±0.11㎎/dℓ였으며, 화차의 경우 각각 1.84±0.08㎎/dℓ 및 1.76±0.10㎎/dℓ로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 20).

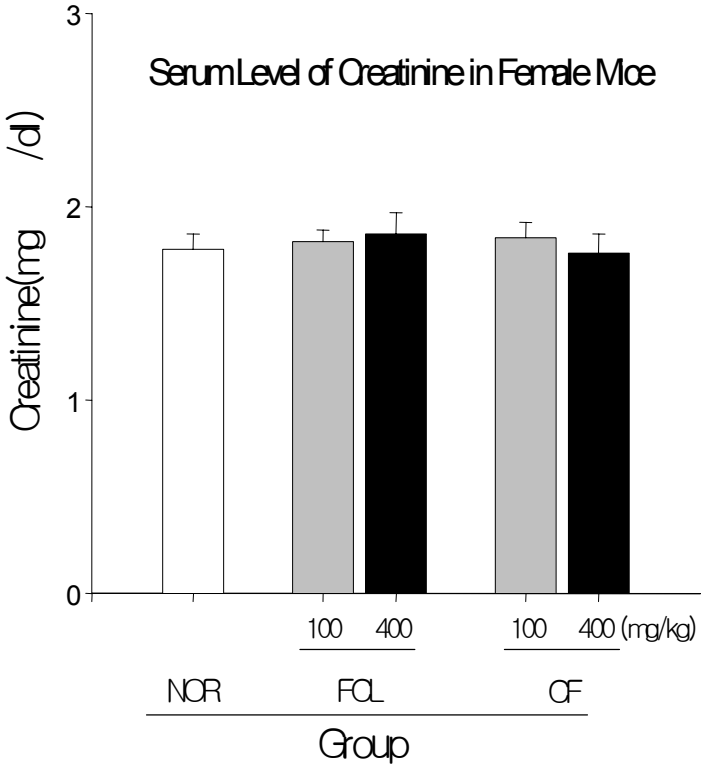


Fig. 20. Short term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of creatinine in female mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

수컷의 경우 정상군에서 1.70±0.10㎎/dℓ인데 비해 발효차를 100 및 400㎎/kg body weight 투여한 경우 각각 1.78±0.06㎎/dℓ 및 1.86±0.11㎎/dℓ였으며, 화차의 경우 각각 1.78±0.09㎎/dℓ 및 1.70±0.13㎎/dℓ로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 21).

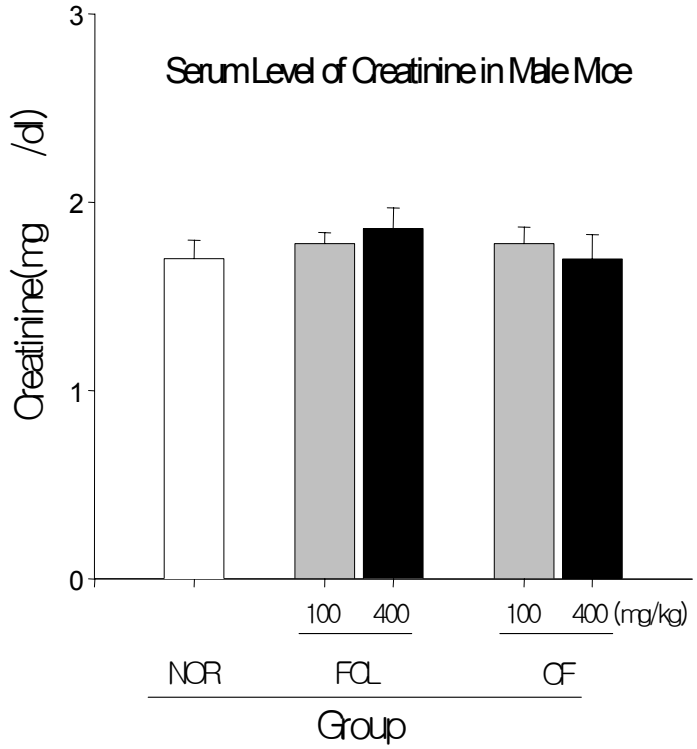


Fig. 21. Short term physiological safety of camellia tea extract was evaluated by measuring serum level of creatinine in male mice. Extract samples were orally administered for one time, and in two weeks, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

이상의 결과는 저농도 및 고농도의 시료 투여로 인한 단기 독성은 나타나지 않았으며 결과적으로 구강 투여로 단기간에서의 안전성이 확보되었다는 것을 의미한다.

실험 결과에 나타내지는 않았지만 체중의 변화는 모두 정상군에서와 유사한 증가의 추세를 보였으며 모든 기간에서 정상군과 통계적 차이를 보이지 않았다. 추출물이 투여된 시기에서부터 정상군의 증가추세보다 약간 느린 경향을 보였으나 추출물의 농도와는 상관이 없는 것으로 생각된다. 다음의 예시는 암컷 생쥐에 있어서 각 군별 체중 증가의 추세이다. 기타의 자료는 이에 준하는 결과를 보였으므로 예시하지 않는다(Fig. 22).

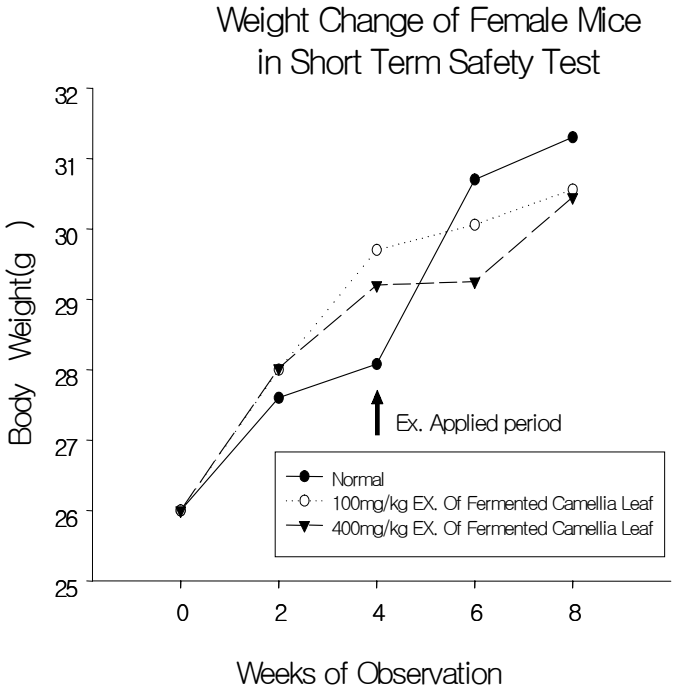


Fig. 22. Changes of body weight were measured by two weeks interval. Statistical difference between groups not showed.

장기 독성 실험을 위해서는 3개월 동안 음용수에 동백 발효차와 화차 추출물을 일반적인 차와 같이 뜨거운 물에 녹여 실험 기간동안 자유로이 섭취하도록 한 결과 암컷 생쥐에서의 ALT 함량은 정상군이 20.42±1.71Karmen/㎖인데 비해 발효차의 경우 20.37±1.77Karmen/㎖, 화차의 경우 19.19±1.24Karmen/㎖로 유의한 변화는 나타나지 않았고, 수컷의 경우 정상군이 18.22±1.27Karmen/㎖인데 비해 발효차의 경우 18.81±1.15Karmen/㎖, 화차의 경우 18.79±0.91Karmen/㎖로 유의한 변화는 나타나지 않았다(Fig. 23).

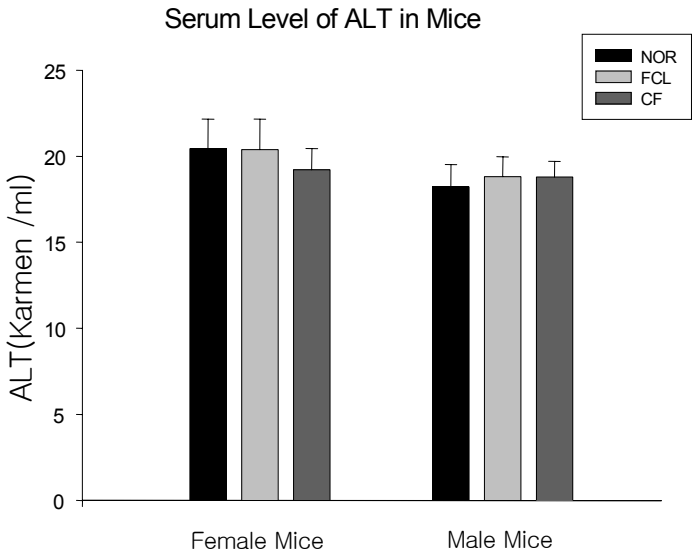


Fig. 23. Long term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of ALT in mice. Extract samples were orally administered ad libitum via vehicle. And in three months, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

BUN 함량은 암컷의 경우 정상군이 14.96±0.70㎎/dℓ인데 비해 발효차 실험군에서 15.40±1.72㎎/dℓ으로, 화차 실험군에서 15.08±1.84㎎/dℓ으로 변화가 없었으며, 수컷의 경우 정상군이 15.04±1.78㎎/dℓ인데 비해 발효차 실험군에서 14.82±1.06㎎/dℓ으로, 화차 실험군에서 15.77±1.15㎎/dℓ으로 변화가 없었다(Fig. 24).

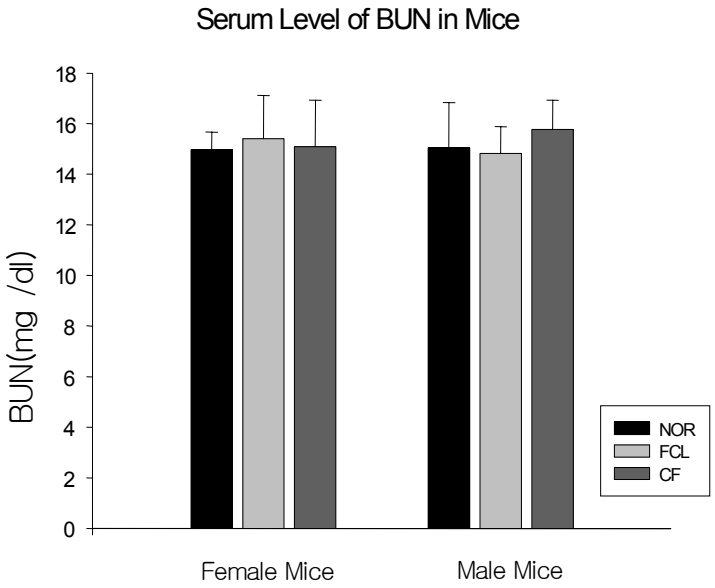


Fig. 24. Long term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of BUN in mice. Extract samples were orally administered ad libitum via vehicle. And in three months, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

Creatinine 함량은 암컷의 경우 정상군에서 1.69±0.10㎎/dℓ, 발효차 실험군에서 1.75±0.12㎎/dℓ, 화차 실험군에서 1.78±0.15㎎/dℓ로 유의한 변화는 나타나지 않았다. 수컷 생쥐에서는 정상군에서 1.54±0.19㎎/dℓ, 발효차 실험군에서 1.68±0.17㎎/dℓ, 화차 실험군에서 1.63±0.22㎎/dℓ로 유의한 변화는 없었다(Fig. 25).

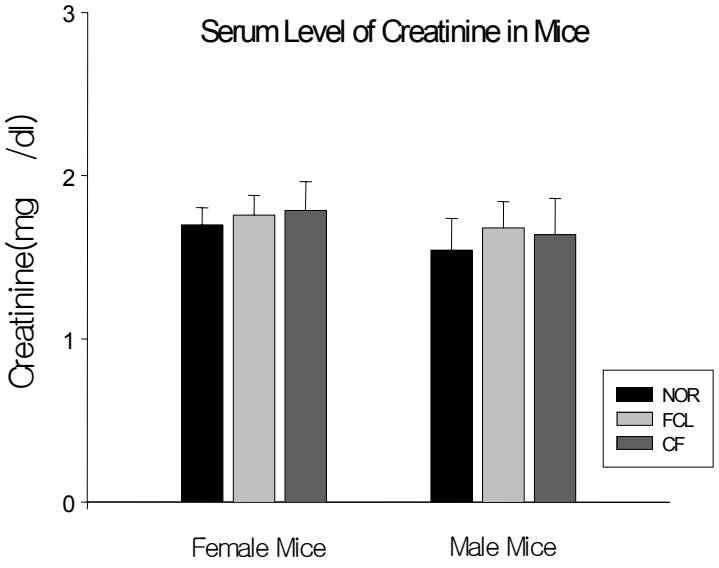


Fig. 25. Long term physiological safety of camellia tea extracts was evaluated by measuring serum level of creatinine in mice. Extract samples were orally administered ad libitum via vehicle. And in three months, blood samples obtained by cardiac puncture. Nor, normal; FCL, extract of fermented camellia leaf tea; CF, extract of camellia flower tea.

체중의 변화 역시 단기 독성 검사의 경우와 마찬가지로 모두 정상군에서와 유사한 증가의 추세를 보였으며 통계적인 차이는 나타나지 않았다. 다음의 예시는 수컷 생쥐에 있어서 각 군별 체중 증가의 추세이다. 기타의 자료는 이에 준하는 결과를 보였으므로 예시하지 않는다(Fig. 26).

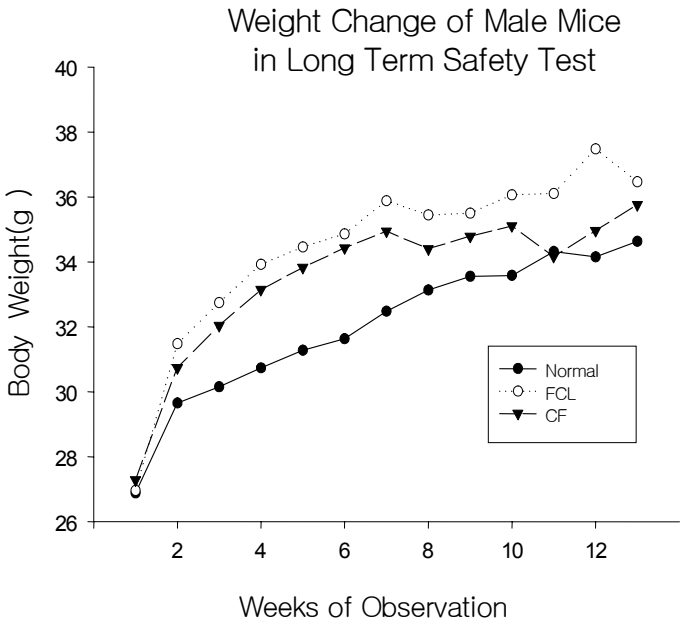


Fig. 26. Changes of body weight were measured by two weeks interval. Statistical difference between groups not showed.

그러므로 이상의 결과로 보아 동백 추출물의 장기 독성이 나타나지 않았다는 것을 알 수 있으므로 추후 음용수로의 이용도 가능함을 보이고 있다.

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능 테스트

가. 동백차 제조를 위한 제다전 생육 및 품질과 엽위별 성분 함량

1) 동백엽의 수확전 생육

제다전 동백나무의 신엽 생육은 Table 14 및 Fig. 27과 같이 엽수는 평균 5.2매, 신초장은 14.9cm, 마디길이는 1.9cm로 상위 2~3엽을 채취하여 제다하였다. 이보다 크면 동백잎을 지탱하는 줄기가 굵고, 잎이 크고 넓고 두텁기 때문에 제다후 모양이 적고 잘 말리지 못하고 균일하지 못하는 원인이 된다.

Table 14. 동백엽 수확전 생육

엽수	신초장	엽장	엽폭	마디길이	엽병장	경태
5.17±2	14.85±4.4	4.78±9.9	2.41±0.6	1.9±1.0	0.76±4.1	2.39±1.2

2) 엽위별 품질평가

(1) 덖음차

신초에서 출현하는 잎의 위치에 따른 덖음차 제다 후 품질은 Table 15와 Fig. 28과 같다. 외관과 내질은 각각 2~3엽에서, 수색은 1엽에서 양호하였다. 따라서 덖음차의 경우 2~3엽을 채취하여 제다하는 것이 바람직하였다.

Table 15. 엽위별 덖음차 품질평가

구분	계	외관형태			내질			
		색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
	100	10	10	20	20	20	40	80
제1엽	68	6	6	12	13	14	29	56
제2엽	67	6	6	12	13	13	29	55
제3엽	65	6	5	11	13	13	28	54
제4엽	61	5	5	10	12	12	27	51
제5엽	60	5	4	9	12	12	27	51
제6엽	60	5	4	9	12	12	27	51

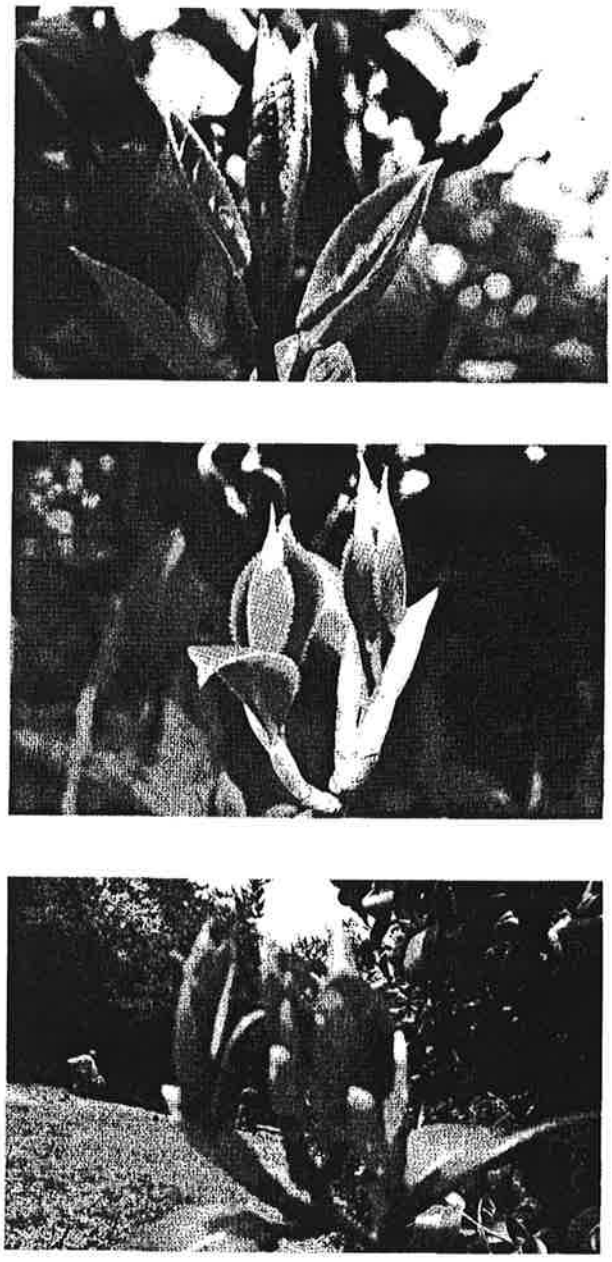


Fig. 27. 동백 신초 생육 상황(포엽에서 신초의 전개)

자료출처 : 국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발 / 농림부

(2) 찐 차

엽위별 찐차 제다 후 품질은 Table 16과 Fig. 29와 같다. 품질은 엽위 간에 큰 차이가 없었으며, 외관과 내질은 각각 1~3엽에서 양호하였다. 찐차 제다를 위해서는 제1엽~3엽을 이용하여 제다하는 것이 바람직하였다.

Table 16. 엽위별 찐차 품질평가

구분	계	외관형태			내질			
		색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
계	100	10	10	20	20	20	40	80
제1엽	71	7	6	13	14	15	29	58
제2엽	70	7	6	13	13	15	29	57
제3엽	68	7	5	12	13	15	28	56
제4엽	67	7	5	12	12	15	28	55
제5엽	66	7	5	12	12	15	27	54
제6엽	65	7	4	11	12	15	27	54

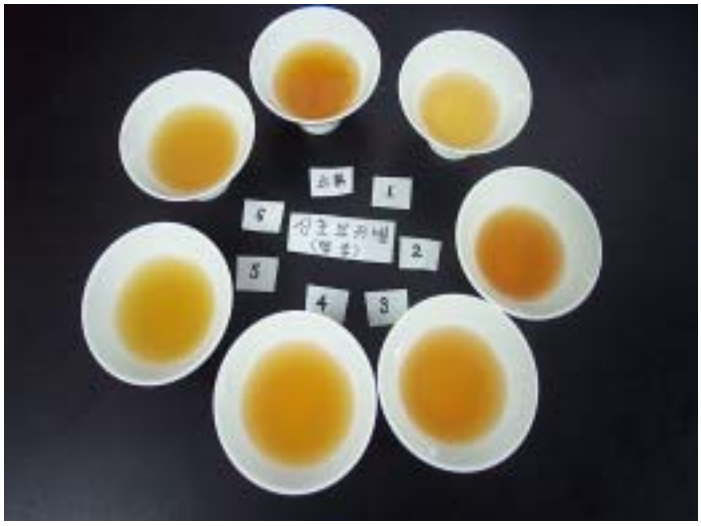


Fig. 28. 신초 부위별 덖음차 수색
(지엽, 1: 제1엽, 2: 제2엽, 3: 제3엽, 4: 제4엽, 5: 제5엽, 6: 제6엽)

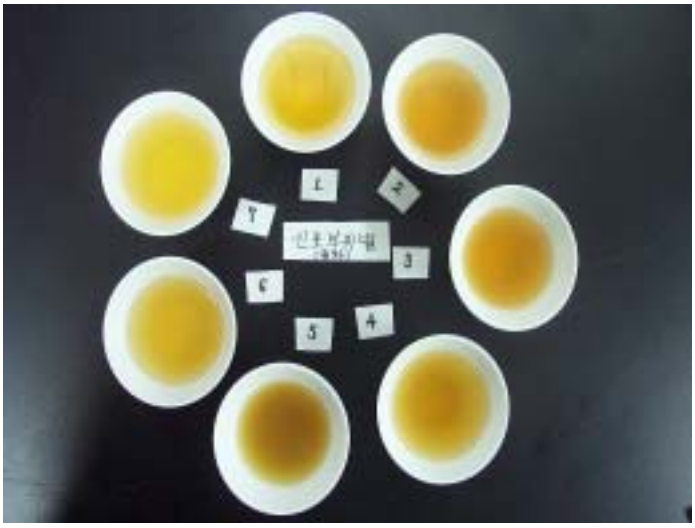


Fig. 29. 신초 부위별 찐차 수색
(지엽, 1: 제1엽, 2: 제2엽, 3: 제3엽, 4: 제4엽, 5: 제5엽, 6: 제6엽)

3) 엽위별 성분 함량

동백 신초의 엽위별(제1엽, 제2엽, 제3엽, 제4엽, 제5엽) 성분함량 분포는 Table 17에서 보는 바와 같다. 총질소는 지엽(止葉)에서 4.88%, 제1엽 4.21% 순으로 많았고, 제3엽, 제4엽 등 전개 후 성숙됨에 따라 감소되는 경향이었다. 총유리아미노산은 지엽과 줄기에 각각 2.12%, 2.27%로 가장 많았다. 카테킨은 제1엽에서 17.8%였고 잎이 아주 미숙한 상태 일때와 성숙이 진행됨에 따라 그 함량이 감소하였으며 카페인 역시 엽위가 진전 할수록 약간 감소하는 경향이었다. 비타민C는 엽위가 전개 될수록 약간 증가하다가 다시 감소하는 경향이었다.

Table 17. 동백 신초 엽위별 성분 함량

구분	총질소	총유리아미노산	카테킨	카페인	비타민C
지엽(止葉)	4.88	2.12	13.80	3.00	35.52
제1엽	4.21	0.52	17.80	2.61	33.27
제2엽	4.13	0.59	17.63	2.52	58.91
제3엽	4.10	0.69	17.28	2.44	69.63
제4엽	4.11	0.73	16.48	2.43	51.97
제5엽	4.09	0.82	16.26	2.35	64.98
제6엽	4.06	0.86	14.96	2.29	43.31
줄 기	4.11	2.27	11.41	2.53	94.33

나. 동백잎 차 제조

1) 덖음차

(1) 덖음차 제다

동백나무는 줄기가 굵고 잎이 두터우므로 덖는 과정에서 덖는데 시간이 많이 소요되었다. 또한 동백 잎이 딱딱하고 매끄러워 잘 비벼지지 않을 뿐더러 잘 말리지 않아 제품의 균일도가 떨어졌다.

(2) 품질평가

덖음차의 제다 후 품질은 Table 18과 Fig. 30에서와 같다. 외관형태는 잎이

잘 말리지 않아 균일도가 떨어졌으며, 색은 갈색이 많이 나왔다. 내질은 향, 수색, 맛에서 약간 떨어졌다. 그리고 차의 형상 및 색택은 갈색 쪽으로 변색되었다.

Table 18. 덖음차 품질평가

구분	계	외관형태			내질			
		균일도	색	소계	향	수색	맛	소계
계	100	10	10	20	20	20	40	80
덖음차	70	8	7	15	14	13	28	55

Fig. 30. 찐차, 덖음차, 반발효차, 발효차 수색

2) 찐차

(1) 찐차 제다

동백나무는 줄기가 약간 길고, 굵고, 잎이 두텁고 매끄러워 덖음보다는 수증기로 찌는 방법이 유리하였으나, 수증기로 찌는 과정에서 수분을 많이 함유하고, 시간이 많이 소요 되므로 유념 할 때 많은 물이 나와서 작업하기에 번거로운 점이 있었다. 이러한 점을 보완한다면 동백차의 제다는 찐차가 가장 유리 할 것으로 판단된다

(2) 찐차 품질평가

동백차의 품질은 Table 19와 같다. 외관의 형상은 좋은 편은 아니었지만 제품의 색은 덖음차 보다 녹색에 가까웠다. 내질의 수색과 맛에서 외관과 양호한 결과를 보였다.

Table 19. 찐차 품질평가

구분		외관형태			내질			
	계	색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
계	100	10	10	20	20	20	40	80
찐차	74	8	6	14	14	14	32	60

(3) 덖음차와 찐차의 성분함량

덖음차와 찐차의 제다 후 성분함량은 Table 20과 같다. 찐차의 총질소는 4.24%, 총유리아미노산 함량 1.01%, 카테킨 17.7%, 카페인 2.6%, 비타민C 75.7 mg/ml로 품질과 성분분석 결과 덖음차 보다 양호하였다.

Table 20. 찐차 성분 함량

구분	총질소(%)	총유리 아미노산(%)	카테킨(%)	카페인(%)	비타민C (mg/ml)
찐차	4.24	1.01	17.69	2.57	75.74
덖음차	4.16	0.67	16.62	2.72	63.93

3) 반발효차

(1) 반발효차 제다

동백잎이 가지고 있는 취약점은 줄기가 굵고 잎이 두껍다는 것이다. 이러한 점을 보완하기 위하여 제다 과정에서 발효를 시켜 차를 만듦으로서 그렇지 않는 경우 보다 수분이 적어졌고, 잎이 시듦으로서 잘 말아져 제품은 양호한 결과를 얻었다. 품질의 외형은 갈색이 나왔다.

(2) 반발효차 품질평가

반발효차의 제다 후 품질은 Table 21에서 보는 바와 같다. 외관의 형태는 불발효차인 덖음차와 찐차 보다 잘 말아져 말림성이 향상되었다. 제품의 색깔은 갈색을 띠었으며, 내질인 맛에서 양호하였다.

Table 21. 반발효 및 완전발효차의 품질평가

구분	외관형태				내질			
	계	색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
계	100	10	10	20	20	20	40	80
반발효차	72	6	6	12	13	12	35	60
완전발효차	74	7	6	13	14	13	34	61

(3) 반발효차의 성분함량

반발효차의 성분 함량은 Table 22와 같다. 성분함량 중 카페인과 비타민 C의 함량은 각각 2.84%, 75.23mg/ml로 높은 편이었으나 총질소와 카테킨은 4.13%, 15.33%로 덖음차와 찐차보다 낮았다.

Table 22 반발효 및 완전발효차의 성분 함량

구분	총질소(%)	총유리 아미노산(%)	카테킨(%)	카페인(%)	비타민C (mg/ml)
반발효차	4.13	0.41	15.33	2.84	75.23
완전발효차	4.21	0.24	17.22	2.88	52.42

4) 완전발효차

(1) 완전발효차 제다

완전발효차 제다 과정에서 동백나무가 갖는 특성 때문에 잘 말리지 않는 단점이 있었다. 이러한 단점을 활용하여 동백잎을 시들게하여(발효) 차를 만듦으로서 단점을 보완하여 양호한 결과를 얻었다.

(2) 완전발효차 품질평가

완전발효차 품질은 Table 21과 같다. 제품의 외관은 갈색으로 선명하였지만 균일도는 떨어졌다. 내질에서 향과, 수색에서 반발효차 보다 양호한 결과를 얻었다.

(3) 완전발효차의 성분함량

완전발효차 성분함량은 Table 22와 같다. 완전발효차의 성분분석 결과 총질소 함량은 4.21%로 반발효차 보다 높았고, 총유리아미노산과 비타민C의 함량은 각각 0.24%와 52.42mg/ml로서 반발효차보다 낮은 반면 카페인은 2.88%로서 많은 양을 함유하고 있었다.

다. 화차 제조

1) 찐차

(1) 화차 제조

꽃잎차, 꽃봉오리차(미개화상태), 화차(완전개화상태) 및 꽃받침차로 나누어 화차를 제다하였다. 동백꽃봉오리 속에 꽃잎이 한겹 한겹 겹쳐 있기 때문에 열의 침투가 잘 안되어 찌는 공정과 찐 후 건조공정에 많은 시간이 소요되어 미개화된 꽃봉오리는 반, 또는 4등분하여 공정을 거치는 것이 바람직하였다.

(2) 화차 외형 및 품질평가

(가) 품질평가

제품의 외관형태는 Table 23과 같다. 품질은 꽃잎차, 화차(완전개화상태) 및 꽃봉오리차(미개화상태)에서 양호하였으며 내질 중 수색은 전반적으로 맑은 경향이었으며 특히 화차와 꽃잎차에서 가장 양호하였다.

Table 23. 동백꽃 차 품질평가(찐차)

구분	외관형태				내질			
	계	색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
	100	10	10	20	20	20	40	80
꽃잎차	75	8	7	15	15	15	30	60
꽃봉오리차(미개화상태)	63	7	6	13	12	12	26	50
화차(완전개화상태)	75	8	7	15	15	15	30	60
꽃받침차	63	7	6	13	12	12	26	50
잎차	75	8	7	15	15	15	30	60

(나) 수색

동백꽃차의 수색은 Fig 31과 같다. 동백꽃잎과 애기동백 꽃잎의 제다 후 수색은 꽃잎차(그림 중 3, 7)에서 가장 맑고 양호하였다. 기타 수색은 어두운 색이 나타났다.

Fig. 31. 동백화차 수색
[1; 잎차, 2: 꽃받침차, 3: 꽃잎차, 4: 꽃봉오리차(미개화상태),
5: 꽃차(완전개화상태), 6: 애기동백화차 7: 애기동백꽃잎차,
8: 애기동백꽃봉오리차)]

(3) 화차 성분함량

(가) 동백꽃

동백꽃 찐차의 성분분석 결과는 Table 24와 같다. 꽃잎차에서 총질소 3.33%, 총 유리아미노산 3.20%, 카테킨 12.92%로 가장 높았다. 카페인은 꽃봉오리차에서 2.66%로 가장 많았고 비타민 C는 꽃잎차에서 89.10mg/ml로 가장 많았다.

Fig. 31에서와 같이 사용한 재료에 따른 동백차 및 화차의 수색이 다양하였으며 꽃잎을 이용한 경우가 봉오리채로 이용한 경우보다 맑은 색을 띠었다.

Table 24. 동백꽃(찐차)의 성분함량

구분	총질소 (%)	총유리 아미노산 (%)	카테킨 (%)	카페인 (%)	비타민C (mg/ml)
꽃잎차	3.33	3.20	12.92	2.54	89.10
꽃봉오리차(미개화상태)	3.24	1.67	8.64	2.66	30.23
화차(완전개화상태)	2.96	1.92	9.62	2.50	54.56
꽃받침차	2.79	0.39	6.53	2.17	34.49
잎차	2.92	1.45	9.44	1.73	68.98

(나) 애기 동백꽃

애기 동백꽃을 이용하여 제다한 화차의 성분 함량은 Table 25와 같다. 총질소 함량은 꽃봉오리차가 3.70%로 가장 높았고, 총유리아미노산은 꽃잎차에서 2.96%, 카테킨 함량은 꽃잎차에서 12.30%, 카페인 함량은 꽃봉오리에서 2.79%, 비타민 C는 꽃잎에서 90.14mg/ml로 가장 많았다.

Table 25. 애기 동백꽃(찐차)의 성분 함량

구분	총질소 (%)	총유리 아미노산 (%)	카테킨 (%)	카페인 (%)	비타민C (mg/ml)
꽃잎차	3.33	2.96	12.30	2.47	90.14
꽃봉오리차(미개화상태)	3.70	2.16	12.21	2.79	43.14
화차(완전개화상태)	3.47	1.53	9.98	2.64	27.48

2) 덖음차

(1) 덖음 화차 제다

동백 덖음 화차는 꽃봉오리가 개화된 상태와 미개화 상태, 꽃잎차, 꽃받침차 등으로 나누어 제조하였으며 꽃잎이 서로 겹쳐있기 때문에 열의 침투가 더디어서 짧은 시간 내에 열을 침투시켜 세포를 불활성화 시키기에는 덖음차에서는 문제가 있었다. 따라서 꽃을 2-4등분 분할하여 열을 침투하는 것이 바람직하였다.

(2) 덖음 화차 품질평가

덖음차의 품질은 Table 26과 같다. 외관형태는 꽃잎차, 화차(완전개화상태)에서 양호하였으며 내질은 수색이 둔탁한 경향이었으나 화차와 꽃잎차에서는 양호하였다.

Table 26. 동백 꽃 덖음 화차 품질평가

구분	외관형태				내질			
	계	색	균일도	소계	향	수색	맛	소계
	100	10	10	20	20	20	40	80
꽃잎차	70	8	7	15	13	14	28	55
꽃봉오리차(미개화상태)	61	7	6	11	12	12	26	50
화차(완전개화상태)	70	8	7	15	13	14	28	55
꽃받침차	63	7	6	13	12	12	26	50
잎차	70	8	7	15	13	14	28	55

라. 가루차 제조를 위한 차광 및 제다

1) 동백나무 차광

동백 가루차 제조를 위한 적정 차광 정도 및 기간을 조사한 결과는 Table 27과 같다. 차광 정도는 3단계로 나누어 Fig. 32와 같이 실시하였다. 실험 결과, 차광한 동백나무는 차광하지 않는 동백나무에 비해 전반적으로 생육이 억제되었다(Fig. 33). 이는 차광으로 인해 햇볕이 침투되지 않아 생육이 억제된 것으로 사료되었다. 95% 10일 차광과 75% 20일 차광이 유사한 생육을 보였고 95% 20일 차광은 무처리의 신초장과 같았으나 마디길이와 엽수에 있어 차이를 나타내었다.

Table 27. 차광 정도 및 기간이 동백나무 생육에 미치는 영향

차광도 및 기간		신초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수 (매)	마디길이 (cm)	경태 (cm)
95%	10일	19.3	6.7	3.7	4.9	2.5	2.5
	20일	22.8	7.3	4.3	4.9	3.2	2.6
75%	20일	19.2	6.8	3.7	4.9	2.6	2.6
무처리		22.8	7.0	4.6	5.7	3.0	2.8

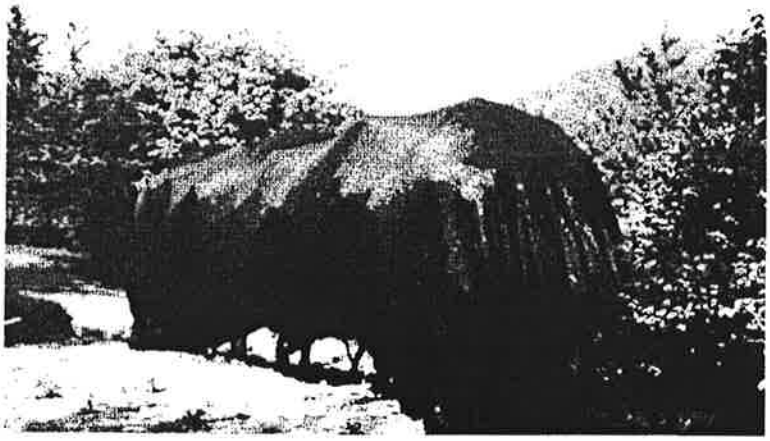


Fig. 32. 동백나무 차광 전경

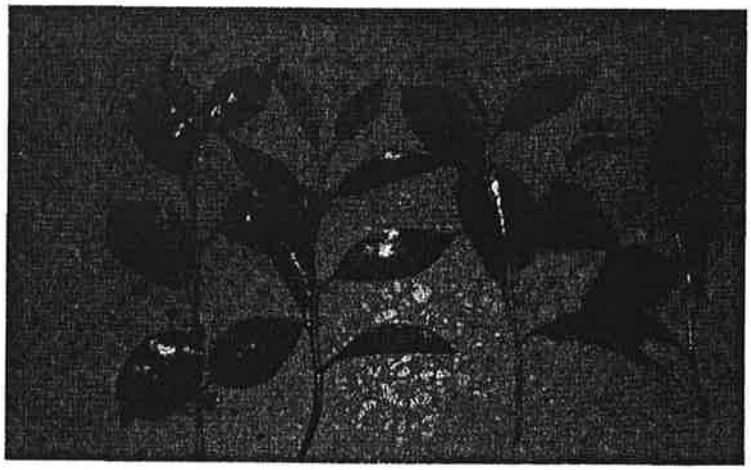


Fig. 33. 동백나무 차광후 신초
(좌측: 95%20일 차광, 좌측중간: 95%10일차광, 우측중간: 75%20일차광
우측: 무차광)

자료출처 : 국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발 / 농림부

2) 가루차 제다

동백 잎은 엽육이 두껍고, 잎과 줄기가 크고 굵기 때문에 증열 과정에서 깊게 찌는 것이 좋았다. 또한 일반 차나무와 다른 점은 제다 후 녹색함량이 약간 적다는 것으로 이는 제품이 갖는 단점으로 나타났다. 이것은 안토시아닌 함량이 높기 때문이라 생각되며 이러한 점을 보완하기 위하여 차광을 하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

3) 가루차 품질평가

동백 가루차의 품질은 Table 28, Fig. 34에서 보는 바와 같다. 외관형태에서 분말도는 각처리에서 비슷하였으며, 색은 95% 20일 차광에서 좋았다. 향, 수색, 맛도 95% 20일 차광에서 가장 양호하였다. 제품의 품질은 무처리에 비해 95% 20일, 95% 10일, 75% 20일 차광의 순으로 좋았다.

Table 28. 가루차 품질평가

구분	외관형태				내질			
	계	분말도	색	소계	향	수색	맛	소계
	100	10	10	20	20	20	40	80
75% 20일차광	81	9	8	17	18	18	28	64
95% 10일차광	81	9	8	17	18	18	28	64
95% 20일차광	86	9	9	18	19	19	30	68
무처리	75	8	9	17	18	15	25	58

4) 차광 잎의 성분함량

동백 차광 재배 잎의 성분분석 결과는 Table 29에서 보는 바와 같다. 총질소 함량은 차광율 95%, 10일 차광에서 3.68%로 가장 높았고 95%, 20일 차광, 75%, 20일 차광, 무처리 순이었다. 총 유리아미노산 함량은 95%,20일 차광에서, 카테킨과 카페인 함량은 95%, 10일 차광에서 각각 17.01%, 2.25%였다. 다만 비타민은 무처리에서 185.57mg/ml로 가장 높아 차광재배함에 따라 감소하였다.

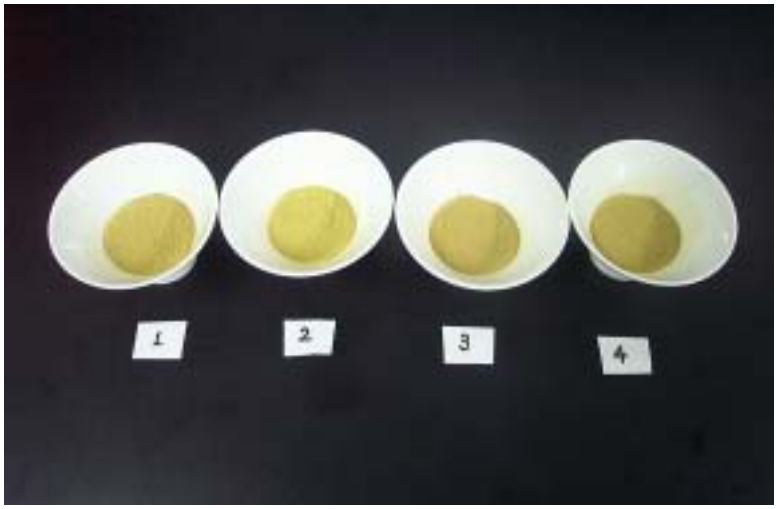


Fig. 34. 동백 가루차 품질
(1: 75% 20일 차광, 2: 90%20일 차광, 3: 90%10일 차광 4: 무처리)

Table 29. 동백 차광 재배 잎의 성분함량

구분	총질소(%)	총유리 아미노산 (%)	카테킨(%)	카페인(%)	비타민C (mg/ml)
75% 20일차광	3.44	0.60	15.52	2.00	164.02
95% 10일차광	3.68	0.70	17.01	2.25	154.81
95% 20일차광	3.58	0.75	14.98	1.92	177.15
무처리	3.06	0.32	16.62	1.75	185.57

제4절 적요

1. 동백엽차와 화차의 주요성분분석

가. 일반성분 분석을 실시한 결과 덖음화차를 제외하고 6%이하의 수분 함유량을 보여 차 제조를 위한 기본 조건을 충족시키고 있다고 사료된다. 조단백은 신엽덖음차에, 조지방을 성엽덖음차에, 조회분은 신엽발효차에 다량 함유되어 있었다.

나. 카페인 함량은 성엽찐차가 5.18%로 가장 많았으나 카페인의 함량은 비교적 적은 편이었다.

다. 카테킨은 제다된 모든 차에 다량으로 함유되어 있었고 특히 신엽발효차에 28.6%가 함유되어 있었다.

라. 탄닌은 차의 맛뿐만 아니라 색과 향에도 관여하는 떫은맛을 내며 신엽덖음차에 9.57% 함유되어 있었다.

마. 테아닌은 덖음화차에 1074mg/100g으로 다량 함유되어 있었으며 그 양은 신엽덖음차와 신엽발효차의 약 2배 정도였다.

바. 비타민 C 예상과는 달리 잎을 이용한 차보다도 화차에 227.7㎎/100g으로 가장 많은 양이 함유되어 있었다.

사. 유리아미노산은 성엽찐차와 성엽덖음차에 glutamic acid와 aspartic acid가, 신엽덖음차와 신엽발효차에는 asparagine이 다량 함유되어 있어 차맛의 증진에 기여할 것으로 사료된다.

아. 핵산관련물질의 함량(CMP, UMP, GMP, IMP, Hypoxanthine, AMP)은 신엽덖음차에 GMP 7.86μ mol/g, Hypoxanthine 8.57 mol/g AMP 12.67μmol/g이 다량 함유되었고, IMP는 모든 제다과정을 통해 감소하였다.

자. 유리당은 모든 차에서 Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose가 검출되었다. 덖음화차에 Glucose 65.5unit, Fructose 59.6unit의 매우 많은 양이 함유되어 있었다.

2. 생리· 약리 활성 탐색

가. 항미생물 활성 테스트를 실시한 결과 CA10이 *P. vulgaris*에 대하여 높은 활성을 보였고 동백의 경우 CA1, CA8, CA15 및 CA16에서, 애기 동백의 경우 CA10과 CA14에서 *Bacillus subtilis*의 증식을 억제하였다. 항진균 활성 테스트에서 CA14는 *C. albicans*와 *T. beigelil*에 강한 억제 활성을 나타내었다. 동백추출물은 세균보다는 진균류에 대한 저해 효과가 비교적 강하였다.

나. 동백 추출물이 암세포에 미치는 독성 효과를 살펴본 결과, 동백의 생엽, 수피 및 화차 추출물이 백혈병(AML) 세포주의 증식을 억제 시켰다.

다. 백혈병(AML) 세포주를 이용하여 동백추출물의 화학요법감작제(Chemosenster)로서의 가능성 여부를 조사한 결과 덖음차와 찐차가 내성세포주인 AML-2/D-100을 강하게 억제시켰다.

라. 혈전 용해 테스트를 실시한 결과 신엽덖음차, 신엽발효차, 덖음화차에서 매우 강한 단백질 분해활성이 존재하였다. 혈전분해 활성을 조사한 결과 유의할만한 활성이 나타나지 않았다.

마. 최종농도 200㎍/㎖일때 동백화차의 메탄올추출물, 덖음차와 찐차의 DW 추출물에서 각각 20%의 항산화 활성이 나타났다.

바. 동백의 메탄올 추출물이 실험적으로 간 손상을 일으키는 물질인 CCl_4를 생쥐에 투여하여 간 손상을 유발한 다음 생체의 간기능에 긍정적인 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 간 기능의 정상 여부의 표지 인자가 되는 혈청 내 AST와 ALT 수치를 검사하였다. 그 결과 AST 수치의 경우 동백엽 발효차와 화차의 경우 대조군과 비교하여 유의한 차이가 나타나지 않았으나 ALT의 경우는 동백엽 발효차를 투여한 실험군에서 수컷과 암컷 모두에서 수치의 감소를 보였다. 이러한 결과는 간손상을 동백 시료의 투여로 억제함으로써 앞으로 이러한 약리 활성을 이용하여 기능성 음료의 개발이 가능함을 보여준다.

사. 인간의 혈액암 세포 중 하나인 HL-60에 대한 anti-proliferate 효과를 관찰하여 보았다. 백혈구가 과다 증식하면 결과적으로 적혈구가 감소하고 혈소판도 줄어들어서 지혈이 잘 안되며 면역기능을 못하는 백혈구만 많아져서 면역기능이 저하된다. 이러한 백혈구의 이상 증가 조건에서 동백의 추출물을 투여한 결과 동백엽차의 메탄올 추출물을 250 ㎍/㎖ 농도로 48 시간 동안 처리했을 때 HL-60 세포의 성장이 억제되는 것으로 나타났다. 또한 이 농도처리 후 세포의 형태를 관찰해서 아폽토시스가 일어났음을 확인하였으며, 이 때 PARP cleavage 또한 시간이 경

과함에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었다. 이와 같은 사실로 볼 때 동백나무 잎의 메탄올 추출물이 caspase-3의 활성을 유도하여 PARP cleavage를 일으키고, 이러한 경로를 통해 아폽토시스를 유발하여 암세포의 성장을 억제하고, 암세포의 사멸을 일으켜 항암 효과를 나타내는 것이라 볼 수 있다.

아. 이상에서와 같이 동백이 생리·약리 활성을 나타냄을 확인하였는데, 만약 이러한 활성과 함께 생체에 독성이 있다면 이의 개발이 어려울 것이다. 따라서 동백 엽 발효차와 화차의 섭취로 인한 생체 독성 유무를 단회 투여로 인한 단기 독성과 반복 투여로 인한 장기 독성 시험으로 나누어 실시하여 보았다. 이때의 검사 항목으로는 혈청 중 creatinine, BUN 및 ALT의 함량이었으며 이를 통해 신장 및 간장에 나타나는 독성의 유무를 관찰하였다. 그 결과 실험 동물인 생쥐(ICR, 25±2 g)에 추출물을 각기 100 및 400 ㎎/㎏ body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 저농도 및 고농도의 추출물 투여로 인한 단기 독성은 나타나지 않았다. 장기 독성 실험을 위해 3개월 동안 음용수에 동백 엽차와 화차 추출물을 녹여 실험동물이 자유로이 섭취하도록 하였는데 이 실험에서도 역시 독성은 나타나지 않았다. 그러므로 동백의 추출물이 생리·약리 활성을 보이지만 독성은 없는 것으로 확인되었다.

3. 차 제조를 위한 적합조건 확립 및 관능평가

가. 동백차의 제조

1) 동백차 제조를 위한 제다전 생육 및 품질과 엽위별 성분 함량

(가) 제다전 동백 신초의 엽수는 평균 5.2매, 신초장은 14.9cm, 마디길이는 1.9cm로 제다에 적합하였다. 신초가 크면 제다후 제품의 크기가 크고 말림성이 균일하지 못하는 원인이 되기 때문이다.

(나) 엽위별 덖음차, 찐차 각각 제다 후 품질 및 성분함량은 제다 방법과 엽위간에 큰 차이가 없었으며, 외관과 내질은 각각 1~3엽에서 양호하였다,

(다) 엽위별 성분 함량은 총질소는 지엽(止葉)에서 4.88%, 총유리아미노산은 지엽과 줄기에서 각각 2.12%, 2.27%로 가장 많았다. 카테킨은 제1엽에서 17.8%, 카페인은 지엽(止葉)에서 3%, 비타민C는 엽위가 전개 될수록 증가하는 경향이었다.

2) 덖음차

(가) 덖음 시간이 많이 소요되며. 유념시 잘 말리지 않아 제품의 균일도가 떨어졌다.

(나) 외관형태는 잘 말리지 않아 품질이 하락하며, 제품의 색은 갈색이 많았고, 제품에서 향, 수색, 맛이 약간 떨어졌다.

3) 찐차

(가) 제다시 짧은 시간에 세포가 불활성화가 되지만, 수분의 과도한 함유가 문제가 된다. 제품의 색은 덖음차 보다 녹색에 가까웠고. 내질의 수색과 맛에서 양호하였다.

(나) 총질소는 4.24%, 총유리아미노산 함량 1.01%, 카테킨 17.7%, 카페인 2.6%, 비타민C 75.7mg/ml 였다.

4) 반발효차

(가) 잎이 시들어 말림성이 향상되어 제품의 외형은 좋았다. 품질 후 외형은 갈색이 나왔으며 맛에서 양호하였다.

(나) 카페인과 비타민 C의 함량은 2.84%, 75.23mg/ml로 완전발효차 보다 높은 편이었으나 총질소와 카테킨은 4.13%, 15.33%로 낮았다.

5) 완전발효차

(가) 동백잎을 시들게하여(발효) 차를 만듦으로서 외관 및 내질에서 향과, 수색에서 반 발효차 보다 양호하였다.

(나) 총질소 함량은 4.21%로 반발효차 보다 높았고, 총유리아미노산과 비타민 C의 함량은 각각 0.24%와 52.4로서 반발효차보다 낮은 반면 카페인은 2.88%로서 많은 양이 함유되어 있었다.

나. 화차 제조

1) 동백꽃은 여러겹 겹쳐있기 때문에 열 침투가 어려워 2등분 도는 4등분하여 제다하는 것이 바람직하였으며 덖음차 보다는 찐차에서 품질 및 수색이 좋았고 꽃잎차, 화차(미개화)에서 양호하였다.

2) 꽃잎차에서 총질소 3.33%, 총유리아미노산 3.20%, 카테킨 12.92%로 가장 높았다. 카페인은 꽃봉오리차에서 2.66%로 가장 많았고 비타민 C는 꽃잎차에서 89.10mg/ml으로 가장 많았다.

다. 가루차 제조

1) 가루차 제다를 위한 동백나무의 차광은 차광율 95%에서 20일 차광했을때 색, 향, 맛이 가장 양호하였다.

2) 차광 재배 엽의 성분함량은 **총질소는** 95%, 10일 차광에서 3.68%, 총유리아미노산 함량은 95%, 20일차광에서 0.75%, 카테킨은 95%, 10일 차광에서17.01%, 카페인과 비타민은 무처리에서 높았다.

제 4 장 동백 혼합차의 배합조건확립 및 기능성 검증

제1절 서설

차나무(*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze)는 동백나무과(科) 식물로서 많은 연구가 이루어져 있으며, 기능성 면이나 제다 및 이용 방법 등에서 많이 보고되어 있고 제품 또한 다양하게 개발되어 있는 실정이다. 그러나 동백나무 잎을 이용한 동백차와 기능성을 갖는 여러가지 재료를 혼합한 제품들이 녹차에 밀려 개발되지 못하였고 동백잎이 갖고 있는 다양한 생리·약리 활성을 이용하기 위한 연구 또한 활발하게 이루어지지 않은 실정이다.

2001년 동신대학교 연구실과 차시험장 연구팀에 의해 동백 잎을 이용하여 차를 만드는 제다 체계를 최초로 확립한 바 있다. 이를 바탕으로 동백차의 이용도를 높이기 위해서는 다양한 형태의 제품 개발이 필요하다고 보고, 동백잎을 이용한 다양한 혼합차 제조를 시도하게 된 것이다. 이러한 혼합차의 이용을 우리 조상들은 잡화법이라하여 차에 각종 꽃이나 조미료 및 향신료 등을 섞어서 이용하는 방법으로 부족된 양분을 보완하여 차를 만들어 음용하는 것을 말한다. 세계의 차 음료 시장은 기능성이 강조된 혼합차 및 잎차에서 캔 드링크제 등의 여러 가지 용기 형태로 발전되고 있으며, 마시는 형태에서 먹는 형태로 바뀌어 가고있는 실정이다.

동백차와 녹차를 혼합하므로서 소비자에게 다양하고, 저렴한 고품질의 혼합차를 생산 공급하므로서 수입 대체 효과를 누릴 수 있으며, 동백차와 생약제를 혼합하고자 한 것은 생약제 중에서도 기능성 성분들을 갖고 있으며, 항암 성분과 암세포의 돌연변이 억제 및 증식억제에 많은 역할을 하는 것으로 알려져 있는 생약제를 선택하게 되었다. 구기자는 방광경과 독맥, 산수유는 대장경, 독맥, 충맥, 수삼과 오미자는 방광경에 균형을 맞추어주는 역할을 하고 있은 것으로 알려져 있다.

따라서, 동백 혼합차의 배합조건을 확립하고 그 기능성을 검증하기 위해 주요 성분분석 및 생리활성을 검증하며 동물실험을 통하여 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향, 뇌혈류량에 미치는 영향, 뇌세포 세포독성 측정, 혈관에 미치는 영향에 대해서 실험을 수행하였다. 이들의 혼용 및 이용에 대한 부분은 품질평가 및 관능검사를 통해 음용 최적 조건을 검증하고 소비자에게 다양하고, 저렴한 고품질의 기능성 혼합차를 생산·공급 하는 것을 목적으로 하였다. 이들 신제품은 수입 대체 효과 및 신차의 해외시장 개척에 일익을 담당하게 되리라고 본다.

뿐만 아니라 동백차의 다양한 형태인 용기형(캔타입), 티백차, 가루차 등을 개

발하여 상품화 하므로서 자생 동백자원을 이용한 기능성 차를 개발하고 수요를 창출 하여 동백속 식물의 재배, 생산의 동기 부여로 국토 미화 및 공원화와 재배 농가의 수익 증대에 이바지 하고자 하였다.

제2절 재료 및 방법

1. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색

가. 혼합차의 주요성분분석

1)혼합차의 제조

(1) 동백차와 녹차의 혼합

동백차의 기능성 강화를 목적으로 Table 30에서와 같이 신엽발효차, 신엽덖음차 및 덖음화차를 녹차와 1:1(50:50%)로 혼합하여 methanol로 추출한 후 본 실험에 사용하였으며 그 양상은 Fig. 35와 같다.

Table 30. Mixed tea of camellia and green tea

명명	원료명	배합비율 (%)	추출용매
Catemix-1	신엽발효차	50	Methanol
	녹차	50	
Catemix-2	신엽덖음차	50	Methanol
	녹차	50	
Catemix-3	덖음화차	50	Methanol
	녹차	50	

Catemix-1

Catemix-2

Catemix-3

Fig. 35. The shape of mixed tea of camellia and green tea ; catemix-1, catemix-2 and catemix-3

(2) 동백차와 생약의 혼합

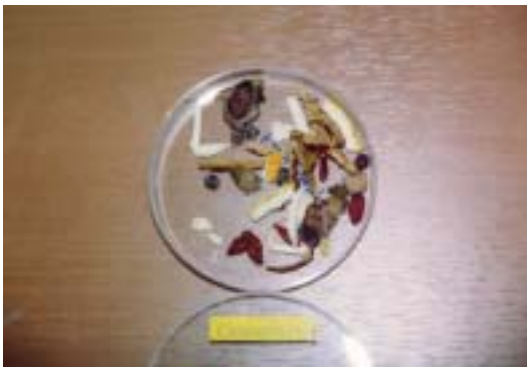
Table 31과 같이 신엽발효차, 신엽덖음차 및 덖음화차에 대추, 오미자, 구기자, 유자, 생강, 감초, 수삼의 생약을 1:1(50:50%)로 혼합하여 메탄올로 추출한 후 본 실험에 사용하였으며 그 양상은 Fig. 36과 같다.

Table 31. Mixed tea of camellia and several herbs

명명	원료명		배합비율 (%)	추출용매
Cahemix-1	신엽발효차		50	Methanol
	생약	대추	22	
		오미자	10	
		구기자	10	
		유자피	4	
		생강	2	
		감초	1	
		수삼	1	
Cahemix-2	신엽덖음차		50	Methanol
	생약	대추	22	
		오미자	10	
		구기자	10	
		유자피	4	
		생강	2	
		감초	1	
		수삼	1	
Cahemix-3	덖음화차		50	Methanol
	생약	대추	22	
		오미자	10	
		구기자	10	
		유자피	4	
		생강	2	
		감초	1	
		수삼	1	

Cahemix-1

Cahemix-2



Cahemix-3

Fig. 36. The shape of mixed tea of camellia and herb tea ; Cahemix-1, Cahemix-2 and Cahemix-3

2) 일반성분 분석

수분은 105℃ 상압가열건조법, 조단백질은 Micro-Kjeldahl, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 550℃ 직접 회화법으로 A.O.A.C. 표준법에 따라 분석하였다.

3) 카페인

동백차에 녹차 및 생약을 혼합하여 만든 건조시료 분말에 10~15배의 증류수를 첨가시킨 후 water bath(100℃)에서 25분간 추출한다. 그 후, 원심분리(959g)하여 상등액을 동량의 chloroform으로 2회 추출 한 다음 감압농축하여 시료로 사용하였다.

4) 카테킨

카페인 분석시와 동일한 과정을 거쳐 chloroform으로 2회 추출한 후 수층을 다시 ethyl acetate(EtOAc)로 2회 추출하여 증류수로 세척한다. EtOAc 층을 감압농축하여 동결건조시킨 다음 분말화 하여 시료로 사용하였다.

5) 탄닌

시료를 물 추출한 후 tannic acid를 표준물질로 하여 A.O.A.C법에 따라 760nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) 테아닌

분쇄한 시료 5g을 400-2500nm범위에서 근적외분광광도계(NIR spectrophotometer, Model 6500, Foss NIR system, USA)로 측정하였다. 시료를 standard sample cup에 채우고 실온에서 scanning 한 후 얻은 스펙트럼에 분쇄정도의 차이에 따른 산란을 보정하였다. 또한, 각 성분으로부터의 중첩에서 오는 오차를 최소화하기 위하여 1차미분으로 스펙트럼을 처리하여 각각의 성분에 대한 calibration을 실시하였다.

7) 비타민 C

시료를 메탄올로 추출하여 전처리한 후 Table 32와 같은 조건에서 HPLC로 분석하였다.

Table 32. Conditions and column information for vitamin C analysis

Item	Conditions
Instrument	10AVP series, Shimadzu, Japan
Column	Capcellpak NH_2
Detector	UV 254nm
Mobile phase	0.05M KH_2PO_4, acetonitrile, 6:4
Flow rate	1.0ml/min

8) 유리아미노산

각각의 시료를 12.35mg씩 취하여 PICO-tag방법을 이용하여 PITC labelling을 한 후, 100㎕를 취하여 HPLC로 분석하였다. 그 분석조건은 Table. 33과 같다.

Table 33. Conditions and column information for amino acid analysis

Item	Conditions
System	Waters 510 HPLC Pump, 2ea
	Waters Gradient Controller
	Waters 717 Automatic sampler
Column	Waters PICO-tag column
	(3.9 X 300mm, 4㎛)
Detector	Waters 996 photodiode array detector(PDA), 254nm
Data analysis	Millennium 32 chromatography manager
Mobile phase	A: 140mM sodium acarate(6% acetonitrite)
	B: 60% acetonitrite
Flow rate	1.0ml/min

9) 핵산관련물질의 정량

中島 등의 방법(1961)에 준하여 시료를 MeOH와 DW로 추출한 후 핵산물질

을 분리하여 CMP, UMP, GMP, IMP, Hypoxanthine, AMP에 관하여 Table 34와 같이 HPLC로 분석하였다.

Table 34. Conditions and column information for nucleotides and their related compounds analysis

Item	Conditions
Instrument	Waters HPLC
Column	SB-C18(Agilent, 4.6x250㎛)
Detector	UV 253nm
Mobile phase	40mM KH_2PO_4(pH 4.5, adjust H_3PO_4)
Flow rate	1.0ml/min

10) 유리당

각각의 시료를 10mg/ml로 증류수에 현탁하여 池谷의 방법(1990)에 따라 전처리한 후Table 35와 같은 조건하에서 HPLC로 분석하였다.

Table 35. Conditions and column information for free sugar analysis

Item	Conditions
System	Bio-LC DX-300(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)
Column	CarboPac PA1(4.5x250mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) with CarboPac PA1 cartridge 94.5x50mm)
Detection	PED2 with integrated amperometry
Data analysis	Al-450 on-line software
Mobile phase	A: 0.5 NaOH for glucose and maltose B: Water for fructose and sucrose
Flow rate	1.0ml/min

나. 생리활성 검색

1) 항산화 활성

유지 산화안정도 분석은 Rancimat(743 Metrohm, Switzerland)를 이용하였으

며, reaction vessel에 시료유지를 3.0g 취한 후 120℃에서 시간당 20의 여과된 공기를 주입하여 산화시켰다. 이때 발생하는 휘발성 산화 생성물을 60㎖의 증류수가 들어 있는 absorption vessel에 이행시켜 전기전도도의 변화에 따라 자동적으로 산출된 유도기간으로 항산화 정도를 측정하였다. 항산화력의 비교는 혼합차 추출물을 첨가하지 않은 유지시료를 대조구로 하여 산출한 AI로써 표시하였다.

$$AI = \frac{\text{혼합차 첨가구의 유도기간}}{\text{대조구의 유도기간}}$$

2) Chemosensitizing effect

96 well microplate에 추출물을 10㎕씩 넣고, 4~6일간 약물 없이 배양한 내성 세포주를 2×10^5/ml가 되도록 한 세포부유액 90㎕씩을 각각 넣었다. 또한 4~6일간 약물 없이 배양한 내성 세포주에 vincristine(120ng/ml)을 첨가하여 2×10^5/ml가 되도록 한 세포부유액에 한 90 ㎕씩 각각 넣었다. 이때 약물대신 PBS를 넣어 세포의 대조군으로 삼고, 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 한다. 그리고나서 96 well microplate를 잘 흔든 후 CO_2 배양기 내에서 3일간 배양 후 모든 well에 MTT 용액(5mg/ml PBS, Sigma) 10㎕를 가해주고 다시 37℃, 5% CO_2에서 5시간 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다.

각 well에 생성된 formazan 결정을 0.04 N HCl-isopropanol 용액 100 ㎕로 잘 녹여서 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험에서는 인간의 종양세포주인 AML-2/D-100과 항암물질에 내성을 갖는 AML-2/D-100 세포주를 동시에 사용하였다.

3) 암세포독성테스트

각 세포주를 1×10^5/ml의 농도로 96 well microplate에 90㎕씩 넣고 24시간 동안 37℃, 5% CO_2 배양기 내에서 배양 후 시료를 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 각각 농도를 다르게 하여 첨가하였다. 이것을 3일 동안 배양한 후 각 well에 MTT(3 mg/ml) 용액을 10㎕씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO를 150㎕씩 첨

가하여 천천히 녹인 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

본 실험에서는 인간의 급성골수성 백혈병 세포주인 AML-2/D100을 사용하여 실험을 실시하였다.

4) 혈전용해 효과

Beber와 Balkwill (1997)의 방법을 변형하여 2% firin agarose plate assay법을 이용하였다. 혈전분해활성을 위해 fibrin agarose plate에 지름 5mm의 구멍을 만들어 각 동백차의 추출물을 10μg을 침적하고 37℃에서 12시간 반응하여 형성된 투명대를 확인하였다.

5) 항미생물 활성 테스트

(1) 항균활성 테스트

보존균주로부터 1백금이를 5ml의 액체배지에 접종한 후 37℃, 150rpm의 shaking incubator에서 18시간 진탕 배양하고 배양액을 적당한 농도로 희석하여 2×106 CFU/ml 정도 되도록 접종하였으며 대수증식기 중기(log-phase)까지 배양한 후 시료액을 첨가하여 37℃에서 overnight하였다. microplate reader를 이용하여 620nm의 흡광도에서 minimum ingibition concentration(MIC; 최소저해농도)을 측정하였다. 이때, 항세균 활성검사를 위하여 사용된 공시균주로는 *S. aureus, S. epidermidis* 및 *S. typhimurium*가 있다.

(2) 항진균활성 테스트

보존균주로부터 1백금이를 5ml의 액체배지에 접종한 후 28℃, 150rpm의 shaking incubator에서 18시간 진탕배양 하였다. 배양액을 적당한 농도로 희석하여 2×104 CFU/ml 정도 되도록 96 well microplate에 접종하고 시료액을 첨가한 다음 28℃에서 overnight 시킨 후 MTT 5㎕씩 첨가하여 다시 overnight 시켰다. 같은 방법으로 minimum ingibition concentration(MIC; 최소저해농도)을 측정하였다. 이때, 항진균 활성 검사를 위하여 공시균주로 *T. beigelii, C. albicans* 및 *S. cerevisiae*를 사용하였다.

2. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증

가. 적정 배합생약 및 배합비율 검토

나. 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향

동백 추출물, 즉 동백엽 발효차와 화차의 섭취로 인한 혈청 중 glucose 및 free fatty acid에 미치는 영향을 살피기 위해 수컷 생쥐(ICR, 20±2 g)에 추출물을 각기 100 및 400 ㎎/㎏ body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 후 2주 뒤에 혈청 중 glucose 및 free fatty acid 함량을 측정하였다. 실험 동물을 희생시켜 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하였는데, 생쥐를 ether로 가볍게 마취시킨 후 경추 탈구로 희생시켜 복부 대정맥으로부터 혈액을 채취하였으며, 이를 실온에 30분 이상 방치한 다음 800×g에서 25분간 원심 분리하여 얻은 혈청으로부터 glucose 측정용 킷(AM 201-K, 아산제약 주식회사, Korea)과 유리 콜레스테롤 측정용 kit(AM 302-K, 아산제약 주식회사, Korea)을 이용하여 측정하였다. 결과에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차(mean±S.E.)로 나타내었으며, 각 실험군간의 평균의 차이를 검정할 때에는 student's *t*-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

다. 뇌혈류량에 미치는 영향

1) 실험 동물

동물은 생후 2일째의 ICR 태아 마우스와 체중 300±10(g)내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료(삼양주식회사, Korea)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물에 적용된 시료는 동백과 한약재 및 녹차 배합 추출물인 cahemix-1, 2, 3 및 catemix-1, 2, 3의 6종류의 메탄올 추출물을 사용하였다.

2) 국소뇌혈류량 변동 측정

Chen 등의 방법에 따라 동물을 stereotactic frame(DKI, U.S.A.)에 고정시키고

정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6㎜ 측방, -2~1㎜ 전방에 직경 5~6㎜의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막외 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmetry(LDF, Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8㎜)를 대뇌(두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 뇌연막동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 각각의 시료를 농도별(0.01㎎/㎏~1.0㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 30분동안 변동되는 국소뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 측정하였다.

3) 평균혈압 변동 측정

동물을 urethane(750㎎/㎏, i.p.)으로 마취시킨 후 체온을 37~38℃로 유지할 수 있도록 heat pad위에 앙와위로 고정시켰다. 각각의 시료 투여 농도(0.01㎎/㎏~1.0㎎/㎏, i.p.)에 따른 평균혈압(mean arterial blood pressure, MABP) 변동은 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과 Macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 30분 동안 관찰하였다.

라. 뇌세포 세포독성 측정

Choi의 방법에 따라 실험을 실시하였으며 그 내용은 다음과 같다. 태아 마우스에서 뇌조직을 적출한 다음 Ca^{++}과 Mg^{++}이 들어 있지 않은 Hank's balanced salt solution(HBSS, GibcoBRL 14180-061)에 5㎎/㎖ glucose, 7㎎/㎖ sucrose 및 0.35㎎/㎖ $NaHCO_3$가 첨가된 배양액(DM)에 넣었다. 입체현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25% trypsin이 함유된 DM에 넣어 37℃에서 15분간 처치한 후 1,000rpm에서 5분간 원심분리한 다음 trypsin이 들어 있는 용액을 제거하고, 분리된 세포를 Eagle's minimal essential medium(MEM, GibcoBRL 11430-030)에 2mM glutamine과 10% fetal bovine serum(FBS, Hyclone A1111-L) 및 10% horse serum(HS, Hyclone A3311-L)이 포함된 배양액(PM) 1~2㎖에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 pipet으로 약 10회 분쇄하였다.

Epidermal growth factor(EGF, Sigma E4127)를 10ng/㎖ 농도로 첨가한 후 24 well plate(Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400㎕씩

도포하여 37℃, 5% CO_2와 100% 습도가 유지되는 CO_2 배양기(VS-9108MS, Vision, Korea)에서 배양하였다.

2~4주 후 교세포가 충분히 증식한 다음 약물 처리 전 배양액으로 3번 씻어주고 나서 각각의 시료를 농도별(1㎍/㎖, 10㎍/㎖, 100㎍/㎖)로 처리하였다. 각각의 시료 투여 24시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25㎕를 넣고, buffer 125 ㎕, 0.3㎎/㎖ NADH 100㎕, 22.7mM pyruvate 30㎕를 넣은 다음 곧 바로 microplate reader 340㎚하에 세포독성을 측정하였다.

약물처리 방법은 24 well plate를 이용하여 맨 첫줄(4 well)은 약물처리하지 않은 허위 처리군(Sham 군), 둘째 줄(4 well)은 NMDA(500μM)를 처리하여 모든 신경세포를 죽이는 군(Full kill 군), 셋째 줄(4 well)은 NMDA(30μM)를 처리하여 신경세포를 죽이는 군(Control 군)으로 하고, 넷째 줄부터 여섯째줄까지는 Control 군과 같이 처리하면서 약물을 투여한 군(Sample 군)으로 하였다.

마. 혈관에 미치는 영향

흰쥐를 마취한 후 흉부 대동맥을 적출하여 그 조직을 찬 Krebs-Henseleit 용액(KHS)에 넣고 입체현미경(streomicroscope) 하에서 안과용 미세 가위와 핀셋을 이용하여 동맥 조직을 손상하지 않도록 주의하여 주위의 결합조직을 제거한 후 두께 1.5 mm의 크기로 절단하여 동맥환(arterial ring)을 만든다. 동맥환을 KHS가 들어 있는 조직 배양기(organ chamber)에 넣고 L자형 스테인레스 고리를 이용하여 장력 변환기(Grass FT-03)에 고정시키고 기초장력으로 1g의 장력을 가한다. 실험에 사용할 KHS의 조성(단위 mM)은 NaCl 115, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, $MgCl_2$ 1.2, $NaHCO_3$ 25, KH_2PO_4 1.2, Dextrose 10 이다. 용액을 37℃로 유지하면서 95% O_2/ 5% CO_2 혼합가스를 공급한다. 실험 시작 전 2시간 동안 평형시킨 후 1μM의 phenylephrine으로 혈관의 수축 반응을 관찰하여 반응이 안정된 후 실험을 시작한다. 근수축의 변화는 등척성 수축(isometric contraction)을 장력 변환기(Grass FT-03)로 측정하여 생리기록기(Grass polygraph 7E)로 기록한다. 혈관 내피세포를 제거할 필요가 있을 때에는 가는 나무봉을 이용하여 혈관 내면을 가볍게 문질러 내피세포 제거(denuded endothelium) 표본을 만든다.

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SAS(The SAS System for Windows, ver. 6.12, SAS Institute, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표

준오차(mean±S.E.)로 나타내며, 각 실험군간의 평균의 차이를 검정할 때에는 student's *t*-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

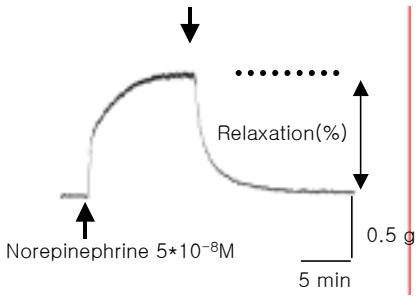


Fig. 37. A typical recording of the vasorelaxant effect of samples on norepinephrine-induced contraction of an isolated rat aorta strip. Norepinephrine(5×10^{-8} M)-induced contraction reached a plateau.

3. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발

가. 동백차 및 생약제 재료

동백차는 동백 신엽으로 제다된 제품을 이용하였다. 약초 재료는 당귀, 수삼, 오미자, 구기자, 녹차, 국화, 감초, 유자피, 율무, 산수유, 국화꽃, 박하, 대추를 사용하였으며 시중에서 구입하였다.

나. 시험장소

동백 및 약초 재료를 구입하여 전라남도 농업기술원 차시험장(전남보성군 보성읍 용문리) 가공실에서 실험을 수행하였다.

다. 시험방법

1) 동백차와 녹차 및 생약제의 배합조건 및 배합비율

(1) 동백차와 녹차 제품의 혼합

동백차와 녹차 제품의 혼합은 제품이 가지고 있는 특성을 최대한 살렸으며 동백차(반발효차, 완전발효차)와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)를 각각 혼합하였다. 혼합 비율은 건물 중으로 하였으며 혼합에서 문제점은 없었다. 적정 혼합 조건은 추출후 관능검사를 통하여 도출하였다.

(2) 동백차와 생약제의 적정 배합비율

동백차(반발효차, 완전발효차)와 생약제(박하, 백지, 당귀, 대추, 오미자, 산수유, 구기자, 국화, 감초, 유자피, 수삼, 율무)를 각각 혼합하였다. 혼합 비율은 건물 중으로 하였으며 혼합에서 문제점은 없었다. 적정 혼합 조건은 추출 후 관능검사를 통하여 도출하였다.

2) 동백차와 녹차 및 생약 추출물을 이용한 음료형 혼합차 제조

(1) 동백차와 녹차 및 생약제의 용출 조건

동백차(증제, 덖음, 반발효, 완전발효), 녹차 제다 후 제품의 용출을 원활하게 하는 조건과 용출 후 마시기에 적정한 상태를 찾고자 하였다. 동백과 녹차의 용출 온도는 70℃에서, 용출 시간은 2~3분이 가장 양호하였다. 이때 온도가 낮고 용출 시간이 짧으면 용출이 약간 부족하였으며, 온도가 높거나 시간이 경과되면 될수록 용출이 과다하여 음용에 부적당하였다. 약초의 경우 과다 용출시 수용액의 탁도가 떨어지기 때문에 100℃에서15분간 끓인 후 활용하였다.

(2) 동백차와 녹차 제품 추출물의 혼합 비율

동백차와 녹차 추출물의 혼합비율은 동백차(반발효차, 완전발효차)함량 80~30%, 녹차 (녹차, 반발효차, 발효차)함량을 20~70%의 비율로 하였다.

(3) 동백차와 생약제 추출물의 혼합 비율

동백차(반발효차, 발효차)함량은 80~30%, 생약제(박하, 백지, 당귀, 대추, 오미자, 산수유, 구기자, 국화, 감초, 유자피, 수삼, 율무) 함량은 20~70%로 하여 동백차와 생약제를 추출한 후 적정 혼합 조건을 관능검사를 통하여 도출하였다.

3) 동백차와 녹차 및 생약 제품 추출후 용기차 제조

(1) 추출공정 : 동백제품 및 녹차 제품의 추출은 물을 100℃로 끓여 70℃ 전후로 식힌 다음 물 200ml에 시료 5g을 넣고 3분간 용출 후 추출하였다. 이때 용출액은 체(45㎛)에 거른 후 필터 페이퍼(Advantec, 250mm)에 통과시킨 후 이용하였다.

생약제의 추출은 물 2ℓ에 생약제 20g을 20분 동안 끓인 후 용출액을 얻고 체(45㎛)에 거른 후 필터 페이퍼(Advantec, 250mm)에 통과시킨 후 이용하였다.

(2) 용기(캔타입) 차 제조 : 제조된 동백차, 녹차, 생약제를 추출 (60~100℃) → 여과(체:45㎛→필터 페이퍼(Advantec, 250mm)→용기 충진→ 멸균(125℃, 10분 전후) →냉각 → 제품으로 하였다. 혼합비율은 동백차와 녹차 제품의 혼합과 동백차와 생약제의 혼합 공정에서 가장 좋은 조건을 적용한다.

4) 동백차와 녹차 및 생약 제품의 티백차 제조

티백형 차 제조 과정 : 제품(동백차, 녹차, 생약제) 분쇄 →혼합 →포장 → 제품으로 하였다. 혼합비율은 동백차와 녹차 제품의 혼합과 동백차와 생약제의 혼합 공정에서 가장 좋은 비율을 적용한다.

5) 동백 분말(가루)차 제조

분말형(가루)차 제조를 위해서는 제다된 차잎→분말(볼밀 60㎛이하)→제품으로하였다. 혼합비율은 동백차와 녹차 제품의 혼합과 동백차와 생약제의 혼합 공정에서 가장 좋은 비율을 적용한다.

6) 품질 및 관능평가

관능 검사는 제품의 상태를 보는 외관 검사와 차 자체의 품성인 내질 검사로 구분하였다. 외관검사는 차 혼합 제품의 색깔이 제품 자체가 갖는 특성을 최대한 발현시킬 수 있는지를 살펴보았으며 제품의 색이 맑을 때를 상품, 제품이 맑지 못하고 이질감이 있을 때를 감점요인으로 하였다. 내질 검사를 위해서는 지하수를 100℃로 끓여 70℃로 식힌 물 200㎖에 혼합시료 5g을 넣고 3분간 침출한 후 수색, 향, 맛을 평점하였다. 혼합 제품의 경우 이취, 풀 내음이 나고 맛이 싱그럽지 못하고 역겨운 경우와 수색이 맑지 못하고 탁한 경우를 감점의 대상으로 하였다. 외관

검사와 내질 검사를 합하여 100점 만점으로 하고, 외관형태에 20%, 차가 갖고 있는 내면의 특성에 80%를 배점하여 조사하였다.

제3절 결과 및 고찰

1. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색

가. 혼합차의 주요성분분석

1) 일반성분의 분석

제다공정을 달리한 신엽발효차, 신엽덖음차 및 덖음화차에 녹차를 각각 50%를 혼합하고(catemix-1, catemix-2, catemix-3), 또한 여러 가지 종류의 생약을 50% 배합하여(cahemix-1, cahemix-2, cahemix-3) 일반성분분석을 실시한 결과는 Table. 36과 같다.

화학성분은 영양성, 기호성, 생체조절성의 기능을 갖고 서로 유기적인 관계를 유지하며 차 특유의 맛과 향 그리고 생리·약리활성을 나타낸다. 수분함량의 폭이 4.3~12.4%로 넓게 나타났다. 일반적으로 수분이 다량으로 함유된 차의 경우 변질의 원인이 되므로 품질관리상 어려움이 따르는데 cahemix-2가 12.4%의 많은 양의 수분을 함유하고 있었고 생약을 혼합한 경우가 수분함량이 높은 경향이었다. 조단백질과 조회분은 catemix-1에서 5.64%와 2.47%로 가장 많이 함유되어 있었다. 조지방은 catemix-2에 3.31%로 가장 많았다.

Table 36. Chemical compositions of the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas

Samples	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Crude ash (%)
Catemix-1	4.3	5.64	3.12	2.47
Catemix-2	8.05	1.78	3.31	2.33
Catemix-3	4.6	1.98	2.26	2.0
Cahemix-1	6.75	3.96	1.35	2.13
Cahemix-2	12.4	3.68	2.5	2.31
Cahemix-3	9.6	3.73	3.6	1.88

2) 카페인 함량

무색의 알칼로이드의 일종인 카페인은 이뇨, 강심작용, 근육수축력 강화, 피로회복, 각성작용, 주독해소, 두통치유 등의 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 다량의 카페인을 섭취하였을 때는 저염증증세를 가지고 있는 환자에게 rhabdomyelosis를 유발시키는 등 해작용을 초래하는 원인이 되므로 주의를 요한다. 그러나 녹차내에 포함된 카페인은 카테킨의 작용에 의해 흡수가 저해되는 특성이 있다.

혼합차의 카페인 분석을 실시한 결과는 Table 37과 같다. 차의 맛에 있어 카페인은 주로 쓴맛을 낸다. 차의 제조과정에 따라 추출되어 나오는 가용성분의 양은 현저한 차이를 보이데 본 실험에서도 차의 종류에 따른 다양한 함량의 변화가 있었다. 특히 동백의 신엽덖음차와 녹차의 혼합차인 catemix-3에서는 6.33%의 가장 높은 함유량을 보였다. 1차 실험과정 중 신엽덖음차의 카페인 함량은 2.71%로 다른 차에 비해 약간 많은 편이었으나 녹차와 혼합하였을때 함유량이 월등히 높아짐을 알 수 있었으며 이는 녹차의 카페인 함량이 동백차에 비해 높기 때문이라 사료된다. 신엽발효차의 경우도 같은 결과를 얻었으나 덖음화차와 녹차와의 혼합차인 catemix-3의 경우에는 오히려 감소하였다. 또한, 생약과의 혼합인 cahemix-1과 cahemix-2는 신엽발효차 및 신엽덖음차의 카페인 성분함량과 큰 차이는 보이지 않았다.

Table 37. Comparison of crude caffeine and crude catechins content in the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas

Samples	Crude caffein(%)	Crude catechins(%)
Catemix-1	3.67	4.33
Catemix-2	6.33	4.67
Catemix-3	0.67	13.30
Cahemix-1	2.67	17.33
Cehemix-2	2.63	3.00
Cahemix-3	1.00	5.00

3) 카테킨

차의 맛성분으로서 중요하고 최근에 그의 약리활성에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있는 카테킨은 폴리페놀류로서 차의 품질에 중요한 작용을 미치며 쓴맛과 떫은 맛을 낸다. 혈압강하작용, 항산화작용, 암발생억제효과, HIV역전사효소 억제작용, 콜레스테롤 재흡수 억제, 충치예방 등 여러 가지 약리효과가 있다. 지금까지 알려진 녹차의 카테킨의 종류는 (+) catechin(C), (-) epicatechin(EP), (-)epigallocatechin-3-gallate(EGCG), (+) epigallocatechin(EGC), (-) epicatechin gallate(ECG) 등이 있다. 동백 혼합차의 카테킨 함량을 분석하여 체내 유용성을 검토한 결과는 Table 37과 같다.

카테킨의 함량은 신엽발효차와 생약과의 혼합인 cahemix-1에 17.33%로 가장 많은 양이 함유되어 있었다. 녹차의 상급인 경우 카테킨의 함량이 14.5%인 것에 비하면 함유량이 더 많은 것으로 보아 다양한 약리활성을 내재하고 있는 것으로 사료된다. 반면, 같은 신엽발효차이나 녹차가 함유된 catemix-1은 4.33%의 적은 양을 함유하고 있었고 덖음화차와 녹차가 함유된 catemix인 catemix-3에 13.30%의 많은 양이 함유되어 있어 혼합되는 재료의 종류에 따른 함량의 변화가 다양하게 나타났다.

4) 탄닌

혼합차의 탄닌 성분 함량을 조사하고자 실험을 실시한 결과는 Table 38과 같다. 덖음화차와 생약의 혼합인 cahemix-3에서 8.32%의 가장 많은 함유량을 보였고 catemix-1이 2.18%로 가장 적게 함유되어 있었다. 탄닌은 일반적으로 차엽중에 존재하며 잎의 채취시기 및 차잎의 성숙도에 다라 현저한 차이를 나타낸다. 덖음화차를 제외하고는 신엽덖음차와 신엽발효차에 비해 혼합차에서 탄닌함량이 감소하는 경향을 나타내었다.

5) 테아닌

아미노산 중의 테아닌은 단맛을 내며 특히 차광재배를 하면 함량이 더 많아진다. 혼합차 중 catemix-1이 0.9mg/100g으로 가장 많은 테아닌을 함유하였다 (Table 38). 생약과의 혼합차인 cahemix는 본 실험의 대상에서 제외하였으나 좀

더 정확한 자료를 얻기 위해 다른 방법으로 분석해볼 필요성이 있다고 생각한다.

6) 비타민 C

비타민 C는 양질의 차일수록 함유량이 높다. 본 실험에서는 Table 38에서 알 수 있듯이 cahemix-1에서 그 함량이 256.6±7.21mg/100g로 가장 많았는데 cahemix-2 는 단지 소량만을 함유하고 있어 큰 폭의 차를 나타내었다. 녹차의 경우 비타민 C는 약 100~600mg/100g 함유되어 있다. 따라서 catemix 쪽이 동백과 녹차와 혼합되어 있으므로 그 성분이 증가하리라 기대되었던 것과는 달리 cahemix-1에서 가장 많은 양이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

Table 38. Comparison of tannin, theanine and vitamin C content in the extracts of camellia teas

Tea type	탄 닌(%)	테아닌(mg/100g)	비타민 C(mg/100g)
Catemix 1	2.18±0.19	0.90	121.1±5.23
Catemix 2	5.54±0.53	0.70	219.5±6.05
Catemix 3	5,45±0.13	0.80	120.3±3.75
Cahemix 1	3.42±0.10	-	256.6±7.21
Cahemix 2	3.73±0.03	-	6.3±0.11
Cahemix 3	8.32±0.48	-	131.5±3.13

[1] mean±s.d., n=3

7) 유리아미노산 분석

차의 기능성 성분으로 기호도를 나타내는 맛성분인 유리아미노산은 감칠맛과 단맛을 내며 차의 제다방법이나 추출온도 등의 변화에 따라 다양한 맛을 낸다. 좋은 맛이란 떫은 맛을 내는 맛과 아미노산이 조화를 이룬 맛을 말하며 고급차 일수록 감칠맛이 강하다.

차잎 무게의 약 25%는 식물성 단백질인데 차를 가공하는 도중에 그 일부분이 분해되어 아미노산이 되고, 아미노산의 많은 양을 테아닌이 점유하고 있다. 테아닌은 재배환경과 차광의 유무에 따른 성분차가 있으며 맛성분 중 달고 감칠맛을 주

도한다.

동백 혼합차의 아미노산을 분석한 결과는 Table 39와 같다. 혼합차의 종류에 따른 아미노산의 종류 및 함량이 다양하게 나타났다. catemix-1, catemix-2 및 cahemix-2에는 다량의 proline이 함유되어 있었고 catemix-3, cahemix-1 및 cahemix-3에는 cysteine이 많이 함유되어 있었다. 1차년도 실험에서 덖음화차에는 cysteine이 많이 함유되어 있었는데 혼합차로 제다하여도 성분의 변화는 없었다. 반면, 신엽덖음차와 신엽발효차에는 asparagine이 많이 함유되어 있었는데 녹차 및 생약과의 혼합차의 경우 성분함량에 변화가 있었다

Aspartic acid의 함량은 catemix-1과 cahemix-2에 3062.874pmol과 3194.228pmol로 가장 많이 함유되어 있었고, glutamic acid는 cahemix-2에 2175.575pmol로 가장 많은 양이 함유되어 있었다. 일반적으로 아미노산류 중에서 좋은 맛을 내는 성분은 aspartic acid와 glutamic acid로 알려져 있다. 이러한 관점에서 볼 때 catemix-1과 cahemix-2가 유용하다고 사료된다.

Table 39. Composition of free amino acids in the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas

	Catemix-1	Catemix-2	Catemix-3	Cahemix-1	Cahemix-2	Cahemix-3
Cys	2849.897	2034.339	2493.148	2915.139	3430.788	2008.992
Asp	3062.875	1829.028	1343.972	2497.927	3193.228	1531.073
Glu	1716.540	1376.762	1357.855	2046.608	2175.575	1412.446
Asn	2230.491	1814.776	80.196	764.330	2183.459	267.909
Ser	1622.993	1150.211	32.012	409.906	635.680	63.184
Gln	297.905	996.772	0.067	366.467	243.559	73.428
Gly	295.817	476.037	13.905	123.219	40.044	122.647
His	385.660	989.009	73.914	358.086	309.218	287.372
Arg	10.833	289.194	48.126	2.492	10.610	308.126
Thr	94.780	229.533	24.616	20.650	41.100	275.014
Ala	70.700	351.505	97.351	8.209	3.076	238.464
Pro	4247.285	4185.662	1235.186	2825.210	5169.534	1887.117
Tyr	2650.022	3149.168	2091.206	692.934	1332.400	422.752
Val	719.383	2257.561	2385.645	56.731	940.683	281.825
Met	342.266	1275.608	642.476	7.669	128.059	9.334
Cys2	180.817	641.996	1021.974	26.800	15.550	186.607
Ile	117.118	495.707	224.186	103.741	44.559	100.886
Leu	26.879	373.465	268.891	63.445	2.170	137.982
Phe	244.483	693.908	498.610	275.105	220.255	176.091
Trp	136.345	289.115	183.088	113.056	127.333	57.277
Lys	100.860	267.910	174.816	78.382	99.260	22.511

8) 핵산관련물질의 정량

핵산관련 물질은 그 식품특유의 맛성분으로 주로 녹차에는 AMP와 UMP, 육류와 어류에는 IMP 그리고 버섯류에는 GMP가 존재한다고 한다(강과 정 ; 1980). 또한 강 등(1995)의 감잎차의 화학성분에 관한 연구에 따르면 감잎차의 경우 CMP의 함량이 월등히 높았다.

동백 혼합차의 경우 모든 혼합차에서 IMP의 함량이 높았으며 특히, catemix-3에서 11.66㎛ol/g으로 가장 많았다(Table 40). 신엽발효차 및 신엽덖음차의 경우 제다과정을 통하여 IMP의 함량이 감소하는 경향을 나타낸 1차년도의 연구 결과와는 달리 혼합차의 경우 IMP의 함량이 증가하였다. 또한 GMP와 UMP의 함량은 감소하는 경향을 나타내었다. 이로서 GMP와 UMP가 많았던 녹차와는 달리 동백 혼합차 특유의 새로운 맛을 기대할 수 있으리라 사료된다.

Table 40. The contents of nucleotides and their related compounds in camellia extracts

단위 (㎛ol/g)

Samples	CMP	UMP	GMP	IMP	Hypoxanthine	AMP
Catemix-1	0.57	0.54	1.95	9.69	0.84	0.40
Catemix-2	0.30	0.39	1.52	10.28	1.54	ND
Catemix-3	0.27	0.23	ND	11.66	1.07	ND
Cahemix-1	ND	ND	0.68	4.18	ND	0.62
Cahemix-2	0.39	0.29	1.14	2.60	ND	0.49
Cahemix-3	0.75	0.31	ND	6.94	ND	0.46

ND; not detected

9) 유리당의 정량

차의 당질은 fructose, glucose, maltose 등의 환원당과 sucrose 등과 같은 유리당이 존재하는데 이 중 sucrose는 수용성 당류로써 환원성 당보다는 품질 평가에 중요한 의의를 갖는다. 당류는 차에 소량 함유되어 있으므로 주로 차의 맛과 영양

성을 보강하기 위하여 첨가하여 차의 기능을 강화시키는 것을 목적으로 사용된다. 또한 차의 종류에 따른 당류의 종류 및 농도는 다양하여 전 등(2000)의 연구에 의하면 현미녹차에는 galactose, 밤차에는 glucose가 많이 함유되어 있었고 특히 밤차에는 밤차에만 나타나는 것으로 알려진 mannose를 함유하고 있음을 보고하였다.

동백 혼합차의 전체 유리당의 함량은 cahemix-3이 14.81unit로 높았으나 sucrose의 함량은 catemix-3에서 5.07unit로 가장 높았고 catemix의 경우 다른 당류에 비하여 sucrose가, cahemix의 경우 glucose가 다량 함유되어 있었다(Table 41). 그러나 cahemix에서도 sucrose의 함량이 비교적 많아서 좋은 맛성분이 될 것으로 생각된다.

Table 41. Free sugar contents of the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas

단위 (unit, nmol/0.01mg)

Samples	Glucose	Fructose	Sucrose	Maltose	합계
Catemix-1	2.87	2.95	2.07	0.26	8.15
Catemix-2	-	0.07	3.18	0.21	3.46
Catemix-3	1.85	0.25	5.07	0.18	7.35
Cahemix-1	5.64	2.08	3.48	0.24	11.44
Cahemix-2	5.36	1.23	4.80	0.50	11.89
Cahemix-3	7.45	2.21	4.59	0.56	14.81

나. 생리활성 검증

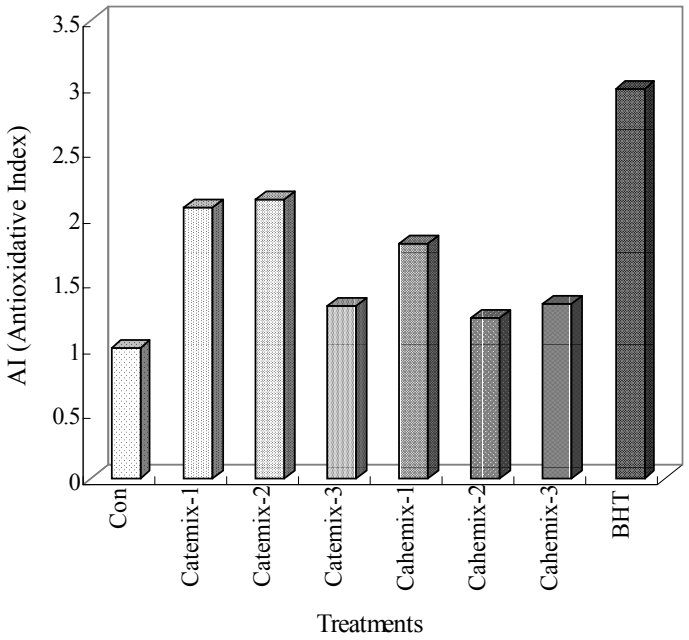
1) 항산화 활성의 검증

근래에는 천연물에 대한 관심의 고조와 함께 천연항산화물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그 예로 땃두릅, 양지꽃, 작약, 생열귀나무, 녹차 등의 천연자원으로부터 항산화효과에 관한 연구가 이미 보고된 바 있다. 천연항산화제로서는 tocopherol, ascorbic acid, carotenoid, flavonoid, glutathione 등이 있고 인공항산화

제에는 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), Troxol-C 등이 알려져 있다. 보통 천연항산화제에 비해 BHT, BHA, Troxol-C 등의 효과가 우수하여 의약품과 식품분야에서 많이 사용되고 있지만 독성 등의 문제가 야기되고 있으므로 안정되고 효과가 뛰어난 천연항산화제의 연구개발이 요망되고 있는 실정이다.

녹차의 경우 조카테킨 10mg/kg 첨가시 토코페롤 200mg/kg과 동일한 효과가 있고 BHA와 비교할 때 훨씬 낮은 농도로 높은 항산화 효과가 있다(최 등; 1997)고 하여 활발한 연구가 진행되고 있다. 동백의 경우에도 항산화 효과가 예상되고, 높은 항산화효과가 인정된다면 마시는 항산화제로서의 기능성이 인정될 것이므로 항산화활성에 관한 연구를 수행하였다.

혼합차별 항산화효과는 다르게 나타났다(Fig. 38). 인공항산화제인 BHT에 비해 낮은 항산화활성을 보였으나 catemix-2와 catemix-1에서 2.13AI와 2.07AI의 비교적 높은 항산화효과를 나타내었다. 이는 catemix-1과 2에는 동백차와 녹차가 혼합되어 있어 상승작용을 일으키는 것으로 사료된다. 그 외 다른 혼합차에서도 대조구에 비해 높은 항산화효과가 인정되었다. 항산화작용을 하는 것으로 알려진 카테킨이 cahemix-1과 catemix-3에 많이 함유되어 있었던 것과 다른 결과를 나타내는 것으로 보아 catemix-1과 2에는 카테킨 이외의 다른 항산화 작용을 하는 물질이 포함되어 있을 것으로 생각되며 앞으로 이 물질의 분리 및 정제에 관한 계속적인 연구가 필요하고 사료된다.



Treatments	AI (Antioxidative Index)
Control	1
Catemix-1	2.07
Catemix-2	2.13
Catemix-3	1.32
Cahemix-1	1.80
Cahemix-2	1.23
Cahemix-3	1.34
BHT	2.98

Fig. 38. Antioxidative index of the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas

2) 세포독성테스트

천연물을 이용하여 그 유효성분을 탐색함으로써 질병의 예방 및 치료제로 이용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 이와 같은 천연물질들의 활성성분 검출에 대한 연구와 함께 인류의 최대 적인 암의 예방과 치료를 위해 연구가 수행되고 있다. 본 실험에서는 동백 혼합차의 추출물을 이용하여 세포독성 효과를 조사하고자 하였다(Fig. 39). 그 결과, cahemix 중 cahemix-3이 가장 강한 독성효과를 나타냈으며 반면에 catemix는 농도의 증가에 관계없이 독성효과가 거의 나타나지 않았다.

3) Chemosensitizing effect

인간의 종양세포주인 AML-2/100과 항암물질에 내성을 갖는 AML-2/100 세포주를 동시에 사용하여 MTT방법에 의해 내성억제효능을 분석한 결과 catemix와 cahemix 모두 chemosensitizing effect가 없었다(Fig. 39). 즉, 화학요법 감작효과가 인정되지 않았으나 추후 심도있는 계속적인 연구가 진행된다면 보다 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

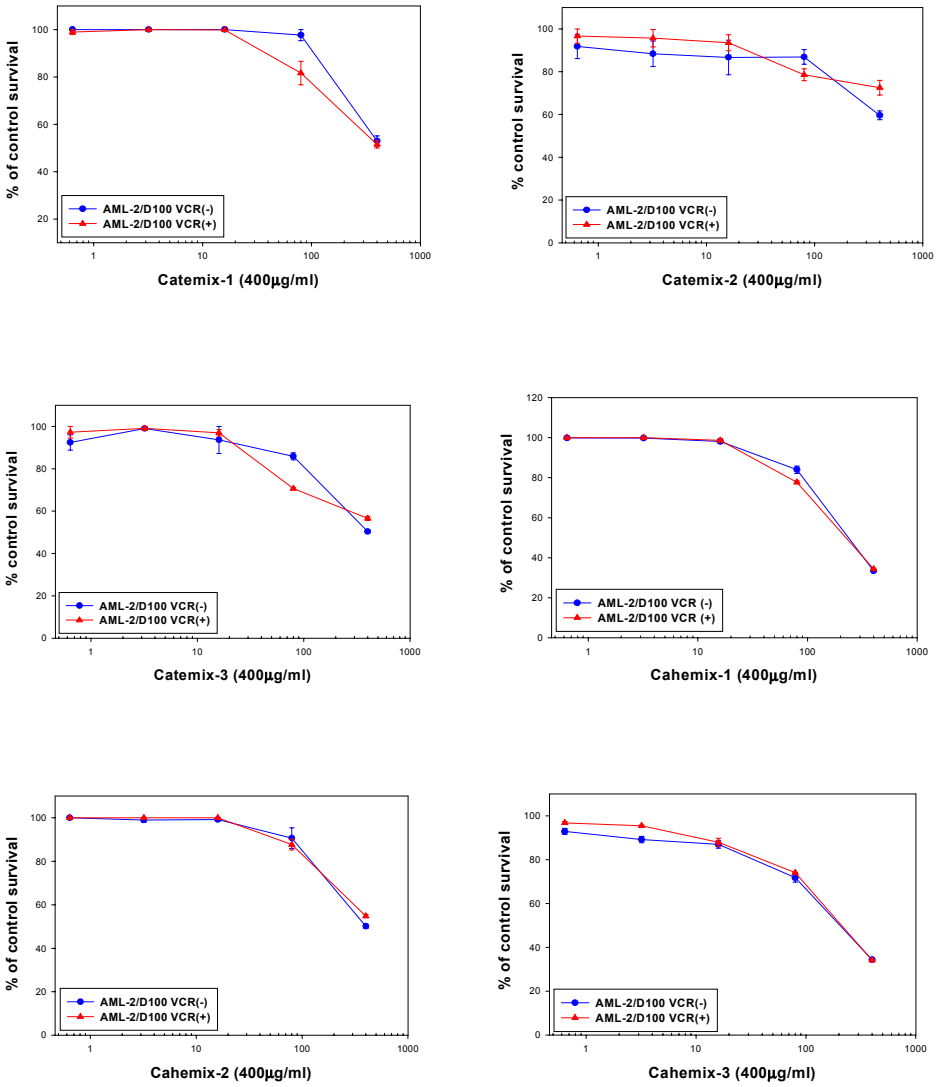


Fig. 39. Chemosensitizing effect of the extracts of mixed green tea and several herbs with Camellia teas on AML-2/D100 overexpressing P-glycoprotein in the presence of vincristine. Cytotoxicity was determined by an MTT assay. VCR, vincristine; -/+, without/with

4) 혈전용해 효과

Beber와 Balkwill (1997)의 방법을 변형하여 실험을 실시하여 형성된 투명대를 확인한 결과, 모든 시료에서 유의할 만한 활성이 나타나지 않았다(Fig. 40). 또한 각 시료에 fibrinogen을 혼합하여 SDS-PAGE한 결과도 마찬가지로 유의할 만한 활성이 나타나지 않았다(Fig. 41).

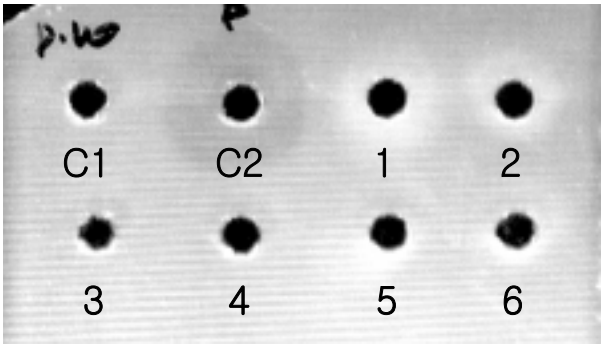
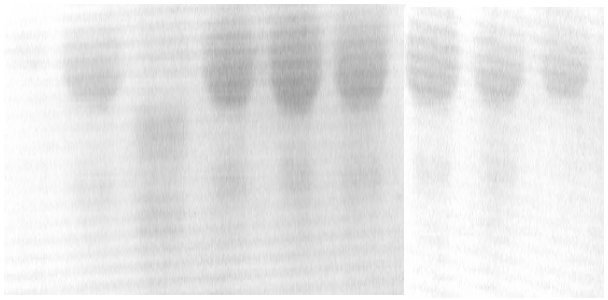


Fig. 40. The screening of fibrinolytic activity from the extracts of mixed green tea and several herbs with Camellia teas on 2% fibrin agarose plate. C1. Nagative control (D.W); C2. positive control (plasmin); 1. cahemix-1; 2. cahemix-2; 3. cahemix-3; 4. catemix-1; 5. catemix-2; 6. catemix-3



M1 2 3 4 5 6 7 8

Fig. 41. SDS-PAGE of the extracts of mixed green tea and several herbs with camellia teas. M, protein marker; 1. fibrinogen+D.W; 2. fibrinogen+plasmin; 3. fibrinogen+catemix-1; 4. fibrinogen+catemix-2; 5. fibrinogen+catemix-3; 6. fibrinogen+cahemix-3; 7. fibrinogen+cahemix-2; 8. fibrinogen+cahemix-1

5) 항미생물 활성 테스트

(1) 항균활성 테스트

사람의 인체에 존재하는 각 종 세균들은 숙주인 사람의 건강유지, 질병 및 노화에 여러 가지 영향을 미치는데 유해균의 오염 및 증식억제, 비타민 및 각종 유기산의 합성, 항암효과 등의 이로운 작용을 하는 균이 존재하고 있는 반면 유해물질, 독소 등을 생산하여 질병 유발 그리고 면역력의 감소를 가져와 노화의 원인이 되는 유해균들도 존재한다. 이런 인체에 해를 끼치는 균들을 대상으로 동백 혼합차의 추출물을 이용하여 항균작용을 살펴본 결과는 Table 42와 같다. 그람 양성세균으로 화농성 염증에 관여하는 *S. epidermidis*와 식중독 원인균인 *S. aurerus* 및 그람 음성세균으로 식중독을 유발하는 *S. typhimurium* 3종을 대상으로 항세균 실험을 실시하였던 바 0.5~4mg/ml의 다양한 값을 얻었다. cahemix-2와 cahemix-3에서는 4mg/ml이상의 농도에서 균의 증식이 관찰되었다. catemix-1과 catemix-2에서는 *S. aurerus*에 대하여 0.5mg/ml의 가장 낮은 MIC 값을 보였고 catemix-1

에서 *S. epidermidis*와 *S. typhimurium*에 대하여 가장 낮은 MIC값을 얻었다. 이로서 catemix-1이 이 중 가장 강한 항세균작용을 하고 있음을 알 수 있었다.

Table 42. Antibacterial activity from the extracts of camellia mixed tea

	*MIC(mg/ml)		
	S. aurerus	*S. epidermidis*	*S. typhimurium*
Catemix-1	0.5	2	1
Catemix-2	0.5	4	4
Cahemix-1	2	4	0.5
Cahemix-2	2	〉4	0.5
Cahemix-3	〉4	〉4	1

* MIC : Minimum inhibitory concentration

〉: Meanes that tested microorganism was not inhibited its growth with those concentration

(2) 항진균활성 테스트

*Trichosporon beigelii*와 구강 및 장관에 정상세균총으로 존재하고 인체내 기회감염균의 일종인 효모 *Candida albicans* 및 *Saccharomyces cerevisiae*를 대상으로 항진균작용을 살펴보았던 결과는 Table 43과 같다. catemix-1은 *T. beigelii*에 대하여 0.25mg/ml의 저농도로 활성을 저해하였고 catemix-2는 *C. albicans*에서 0.25mg/ml의 농도로 억제하였다. 반면 cahemix-1에서 *S. cerevisiae*는 0.25mg/ml보다 저농도에서 저해효과가 있을 것으로 예상되었다. 결과적으로 catemix-1과 catemix-2에서 항진균효과가 높게 나타났다. 또한 세균에 비해 모든 처리구에서 높은 활성을 나타내었다.

Table 43. Antifungal activity from the extracts of camellia mixed tea

	MIC(mg/ml)		
	T. beigelii	*C. albicans*	*S. cerevisiae*
Catemix-1	0.25	0.5	0.25
Catemix-2	0.5	0.25	0.25
Cahemix-1	1	1	<0.25
Cahemix-2	1	1	1
Cahemix-3	1	2	0.5

* MIC : Minimum inhibitory concentration

2. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증

가. 적정 배합생약 및 배합비율 검토

배합생약을 선정하는 기준으로는 藥茶에 관한 자세한 내용을 기록하고 있는 중국의 「藥茶-健身益壽之寶」(周錫 編著, 中國建材工業出版社, 北京, 1993)와 「百病中醫藥茶療法」(楊思澍 等 編著, 學苑出版社, 北京, 1991)에 수록된 여러 종류의 茶 배합 재료 중 그 빈도수가 높으며 전남 지역에서 재배하고 있는 약재들을 대상으로 하였다. 그 결과 동백을 재료로 한 여러 차에 혼합되는 생약으로는 대추, 오미자, 구기자, 유자, 생강, 감초 및 수삼(인삼)을 선정하였다.

대추는 맛이 달고 독을 제거하는 효과가 있어 한약을 달일 때 대추와 생강을 함께 넣어주면 다른 약재들의 성질을 중화시키는 효능이 있는데 대추의 단맛은 긴장을 풀어주는 완화작용이 있어 신경이 예민하고 날카로워지거나 불면증에 시달릴 때 복용하면 효과적이다. 여기에 인삼을 더하여 끓여 마시면 기운이 상승되고 식욕을 높여준다.

오미자는 열매는 하나인데 신맛, 단맛, 짠맛, 쓴맛, 매운맛의 다섯 가지 맛을 지니고 있다해서 붙여진 이름으로 사과산과 주석산이 많이 들어 있어 신맛이 강하다. 주로 폐 기능을 보호해 주기 때문에 기침, 가래나 만성기관지염, 인후염, 편도선염 등에 좋고 신맛이 있어 입이 마르고 갈증이 심할 때도 좋다. 기타 자양강장제로 오래 전부터 이용되어 왔는데 특히 정신적 스트레스를 많이 받는 사람에게 정신신경을 이완해주고 머리를 맑게 해주어 정신 집중도를 높여주는 것으로 알려져 있다. 적은 양으로 자주 복용할 수도 있으나 신맛이 많으므로 위산과다나 위궤양 등이 있는 사람에게는 좋지 않다고 하니 섭취에 주의하여야 할 것이다.

구기자는 다량의 단백질, 칼슘 및 철 등의 유효 성분이 많이 들어 있어 성인병인 고혈압, 당뇨병, 비만의 예방에 유효한 것으로 알려져 졌다. 한의학 약물학 最古의 서적인 「신농본초경(神農本草經)」에 의하면 구기자를 오래 복용하면 근골을 강하게 하고, 몸을 가볍고, 늙지 않고, 추위와 더위에 견디고 정기 등의 부족을 보충하며 사람을 장수하게 하는 것으로 기록되어 있다.

일반적으로 유자피는 한약재로는 사용되지 않았으나 최근 귤껍질인 陳皮보다 그 효능이 우수한 것으로 한의학 임상에서 보고되고 있고 또한 전남 고흥 지방 특산물에 해당하므로 유자 껍질을 陳皮 대용으로 사용하였다. 기대되는 효능으로

는 목병, 기침에 사용할 수 있으며 發汗, 健胃, 催乳 등의 목적으로 현재 많이 이용되고 있다. 또한 동맥경화, 고혈당을 예방할 수 있다는 연구 결과도 보고되고 있다.

생강은 인도가 원산지인데 중국에서 건너온 것이다. 간장의 작용을 좋게 하고 수분 대사를 촉진하는 이뇨작용이 있어 발한을 촉진하고 부종을 없앤다. 속이 거북할 때나 숙취에도 좋다. 신진대사의 기능을 촉진하고 식욕을 돋우며 감기와 해열작용, 살균작용 등의 작용이 뛰어나다. 앞에 서술한 대추와 자주 배합되어 사용된다.

감초는 약방에 감초라는 말에 쓰이는 약재로 현재는 대부분 수입에 의존하고 있으나 최근 국산 감초 재배에 성공하여 점차 대량 생산될 것으로 기대된다. 그 효능으로는 여러가지 약재를 서로 융화시키는 중화제 역할을 하며 상호보완하여 약효를 상승시킨다. 또한 해독작용, 염증을 방지해주는 천연 항생제의 역할을 하기도 한다.

인삼의 효능에 대해서는 예로부터 한방의학에서 수 천년 동안의 경험에 의하여 그 약효가 특출한 것으로 인정받아 왔다. 488~496년에 중국의 도홍경은 “인삼은 주로 오장을 보하고 정신을 안정시키며 경계(驚悸)를 멈추게 하고 눈을 밝게 하며 머리를 지혜롭게 하고 오랫동안 복용하면 수명(壽命)을 연장한다”고 하였다. 그 외에도 《명의별록(名醫別錄)》이나 《본초강목(本草綱目)》에도 인삼의 효능을 집약 수록한 바 있으며 현대에 이르러서는 세계 각국의 저명한 학자들의 활발한 과학적 연구가 진행되어 인삼의 효능이 생리학·생화학·약리학·병리학의 지식을 바탕으로 임상학적인 연구결과를 보고하고 있다.

따라서 이처럼 여러 생리 활성을 지닌 생약들을 동백과 배합하여 혼합차로 이용할 수 있다면 차 제품의 다양성을 확보하는데 기반이 될 수 있으며 현재 전남지역 농가에서 생산되고 있는 여러 생약 자원들도 효과적으로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

나. 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향

혈청 중 glucose, 즉 혈당은 여러 가지 원인에 의해 조절되며 그 변동폭은 비교적 좁아 생체 내에서의 항상성 기질 유지의 대표적인 것이다. 혈당 수치는 음식의 소화, 흡수, 간에서의 저장, 방출, 말초조직에서의 이용 등 각 단계에서의 포도당

출납의 다과에 따라 조절된다. 이러한 각 단계에서의 반응은 여러 가지 인자에 의해 조절되는데 특히 호르몬의 영향이 크다. 인체의 경우 70~110㎎/dℓ 정도가 정상 수치에 해당된다.

혈청 중 콜레스테롤은 생체 내에서 동물성 음식 중 콜레스테롤의 장관에서의 흡수, 간에서의 합성, 담도에서의 배설 균형 등에 의해 그 양이 결정된다. 인체에서는 그 정상 수치의 범위가 150~220㎎/dℓ이지만 연령, 성별, 생활 계층에 따라 다르다.

위의 혈청 생화학적 검사 항목인 glucose 및 콜레스테롤의 양은 인체 내에서 그 수치가 너무 높아도 질병의 원인이 되지만 너무 낮아도 마찬가지로 인체에 유해한 영향을 미치게 된다. 예를 들어 최근 연구에 의하면 혈중 콜레스테롤이 120㎎/dℓ 이하로 너무 낮은 수치를 보여도 심장병 위험 인자가 높아진다는 보고도 있다. 따라서 본 실험에서는 추출물이 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 영향을 미치는지, 그 결과가 긍정적인지 혹은 부정적인지를 확인하기 위해 이전의 생리 활성에 있어서 의미 있는 수치를 많이 보인 동백엽 발효차와 화차를 대상으로 하여 그 결과를 관찰하여 보았다.

동백엽 발효차 추출물을 각기 100 및 400 ㎎/kg body weight으로 1회 강제로 경구 투여한 후 혈청 중 glucose 함량을 측정한 결과, 추출물을 투여하지 않은 정상군에서는 129.80±10.20㎎/dℓ로 나타난 데 비해 발효차 실험군에서는 100 및 400 ㎎/kg body weight에서 각각 125.80±5.20㎎/dℓ와 119.80±6.29㎎/dℓ로 나타나 유의한 변화는 없었다(Fig. 42). 화차 실험군에서는 100 및 400 ㎎/kg body weight에서 각각 116.40±5.01㎎/dℓ와 113.20±6.44㎎/dℓ로 나타나 유의한 변화는 없었다. 그러므로 혈청 중 glucose 함량은 동백엽 발효차와 화차 추출물의 저농도 및 고농도에서 정상 생쥐에서와 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그러나 그 수치에 있어서는 감소의 경향을 보였으므로 투여 농도와 기간을 변화시켰을 때는 다른 결과가 나타날 수도 있으므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

혈청 중 콜레스테롤 함량을 측정한 결과(Fig. 43), 추출물을 투여하지 않은 정상군에서는 82.00±4.07㎎/dℓ로 나타난 데 비해 발효차 실험군에서는 100 및 400 ㎎/kg body weight에서 각각 78.00±6.02㎎/dℓ와 71.40±5.47㎎/dℓ로 나타나 유의한 변화는 없었다. 화차 실험군에서는 100 및 400 ㎎/kg body weight에서 각각 81.60±6.65㎎/dℓ와 67.00±3.57㎎/dℓ로 나타나 400 ㎎/kg body weight에서 유의한 변화

가 나타났다.

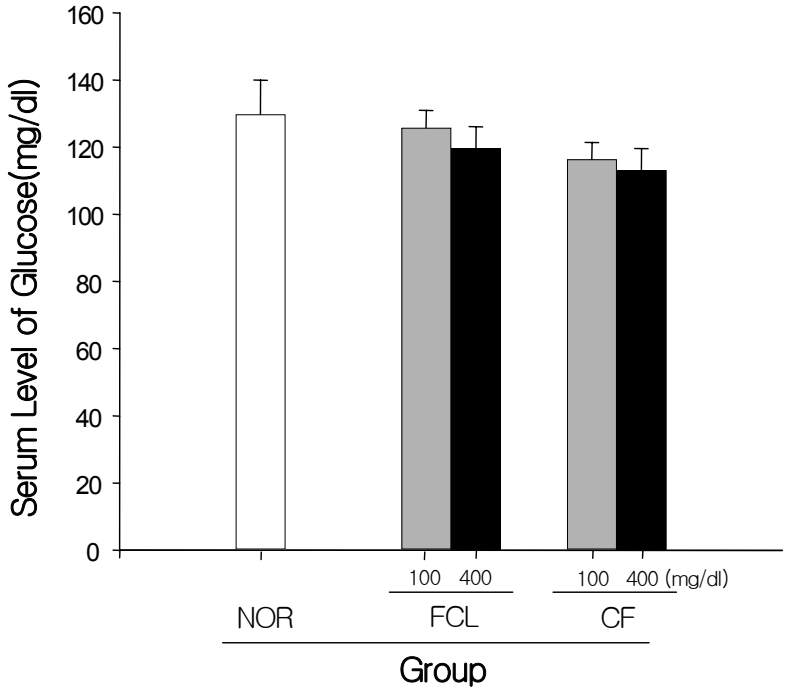


Fig. 42. Effect of fermented camellia leaf tea(FCL) and camellia flower tea(CF) on the serum level of glucose. 100 and 400 ㎎/㎏ of each extract injected to mice.

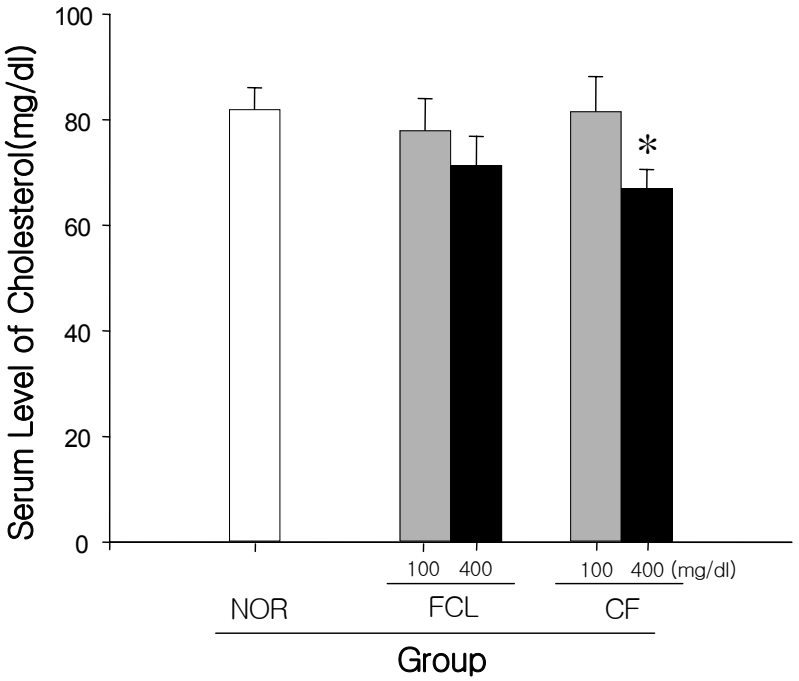


Fig. 43. Effect of fermented camellia leaf tea(FCL) and camellia flower tea(CF) on the serum level of cholesterol. 100 and 400 ㎎/㎏ of each extract injected to mice. *, statistically different when compared with normal group(NOR).

그러므로 혈청 중 콜레스테롤 함량은 동백엽 발효차와 정상군에서는 변화가 없었지만 화차 추출물의 고농도 투여에서는 정상 생쥐에서와 유의한 차이가 있었다. 지나친 콜레스테롤 수치의 감소는 앞에서 서술한 바와 같이 또 다른 질병에 노출될 위험이 있지만 실험이 진행되는 동안 실험 동물의 행동 및 희생 시의 개복을 통한 내부 장기의 확인을 통해 별다른 이상이 발견되지 않았으므로 혈중 콜레스테롤 대사의 조절에 사용될 수 있을 것으로 생각되며 또한 발효차의 경우 유의하지는 않았지만 농도에 따라 혈중 콜레스테롤 수치가 감소하는 경향을 보였으므로 동백의 추출물이 생체에서의 콜레스테롤 수치를 낮추는 효과가 있을 것으로 기대된다. 기타 혈청 중 지질의 대사에 관여할 것으로 추측되나 이러한 내용에 대해서는 후속 연구를 통해 그 결과를 확인하고자 한다.

다. 뇌혈류량에 미치는 영향

중풍(뇌허혈)은 현대사회에 있어 증가추세에 있고, 사회적으로도 많은 문제점을 야기시키고 있기 때문에 국내외적으로 많은 관심을 기울이고 있다. 현대사회는 노인인구의 증가와 식생활 등의 변화에 따라 질병 발생의 추이에도 많은 변화가 있는데, 2001년 사망원인 순위는 암(1위), 뇌혈관질환(2위), 심장질환(3위), 당뇨병(4위), 간질환(5위) 순이며 4대 사망원인(암, 뇌혈관 질환, 심장질환, 당뇨병)이 전체 사망의 50.4%를 차지하고 있다. 특히, 중추신경계 손상질환인 뇌손상질환 즉 중풍이 우리나라에서 암 다음으로 2위를 점하고 있고, 단일 질환으로는 가장 높은 사망률을 나타내고 있다(통계청 보도자료, 2002년 9월 26일).

뇌혈류가 제대로 공급되지 못하는 허혈성 뇌질환은 병세가 약할 경우에는 일시적으로 정신을 잃은 후에 운동마비, 지각마비, 복시 등을 보이다가 약 30분 정도가 지나면 정상적으로 회복되지만 심할 경우에는 대뇌신경 세포의 전반적인 손상에 의해 혼수상태의 식물인간으로 생존하게 된다.

본 연구에서는 정상동물의 뇌혈류량과 혈압에 동백과 한약재의 배합차 추출물이 어떠한 영향을 미치는지를 확인하고자 하였다.

추출물을 처치하지 않고 추출물을 녹인 용매만을 투여했을 때의 국소뇌혈류량(rCBF)과 평균혈압(BP)의를 100%라고 했을 때 추출물의 변화를 % 변화로 살펴보았다. 그 결과 CaHeMix-1의 농도를 0.01, 0.1 및 1.0㎎/㎏로 변경하면서 투여했

을 경우 국소 뇌혈류량은 110.16±2.86%, 125.89±6.8% 및 137.26±7.15%으로 변화하여 모든 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 98.90±3.26%, 101.73±3.73% 및 105.82±2.73%로 대조군과의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 44).

Cahemix-2의 경우 국소 뇌혈류량은 104.03±7.07%, 116.24±7.88% 및 132.38±8.77%으로 변화하여 1.0㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 99.24±1.97%, 102.67±2.04% 및 105.25±2.49%로 대조군과의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 45).

Cahemix-3의 경우 국소 뇌혈류량은 105.25±5.96%, 123.31±5.92% 및 133.54±8.41%으로 변화하여 0.1 및 1.0㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 99.45±1.67%, 101.12±2.25% 및 105.16±2.10%로 1.0㎎/㎏에서 대조군과의 차이를 보였다(Fig. 46).

Catemix-1의 경우 국소 뇌혈류량은 102.24±8.07%, 119.12±7.52% 및 130.46±7.09%으로 변화하여 0.1 및 1.0㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 96.85±2.83%, 97.28±6.78% 및 107.89±4.13%로 대조군과의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 47)

Catemix-2의 경우 국소 뇌혈류량은 98.13±5.31%, 110.51±7.05% 및 128.07±9.02%으로 변화하여 1.0㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 97.02±2.74%, 98.97±2.58% 및 103.50±3.91%로 대조군과의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 48).

Catemix-3의 경우 국소 뇌혈류량은 88.42±7.50%, 78.90±5.74% 및 81.03±6.87%으로 변화하여 0.1 및 1.0㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이때의 평균 혈압은 88.73±3.34%, 96.26±6.07% 및 102.40±4.40%로 0.01㎎/㎏ 농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 49).

위와 같은 결과는 약물을 처치하지 않은 대조군(control group)과의 비교에서 이때의 rCBF 및 MABP의 변화를 100.00(%)라 하였을 때 동백추출물 투여시의 변화도를 관찰한 것으로 cahemix-1, 2, 3 및 catemix-1, 2에서 국소뇌혈류량이 유의하게 감소하였으며 catemix-3에서는 국소뇌혈류량 유의하게 감소하였음을 나타낸다. 또한 동백과의 모든 배합에서 평균혈압의 증감상태는 나타나지 않았지만 catemix-3의 저용량 처치시 평균혈압이 유의하게 감소되는 것으로 나타났다.

이러한 결과를 분석하여보면 일반적인 조직의 산화적 손상이 허혈/재관류 시에 과도한 혈액의 공급으로 인한 활성 산소의 급격한 증가로 인한 것이므로 실험 동물에 별다른 이상을 나타내지 않는다는 전제하에서 시료의 투여로 인해 뇌혈류량의 감소를 나타낸다면 병인이 발생하였을 때 시료의 투여가 산화적 손상을 억제할 수 있음을 나타내므로 catemix-3의 경우 질병 발생으로 인한 손상을 최소화할 수 있음을 알 수 있다.

또한 건강한 상태에서 뇌혈류량을 증가시킨다면 뇌에 혈액이 원활히 공급되는 상태를 유지할 수 있으므로 뇌의 기능을 향상시킬 수 있는 기능성을 가진다고 볼 수 있으므로 동백과 한약재 및 녹차의 배합이 그 목적에 따라 다양하게 적용될 수 있음을 나타낸다.

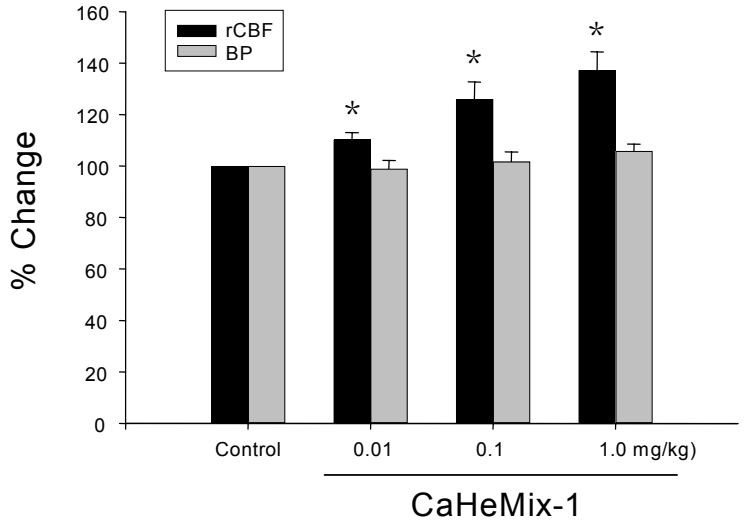


Fig. 44. Effect of cahemix-1 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 cahemix-1, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of cahemix-1 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

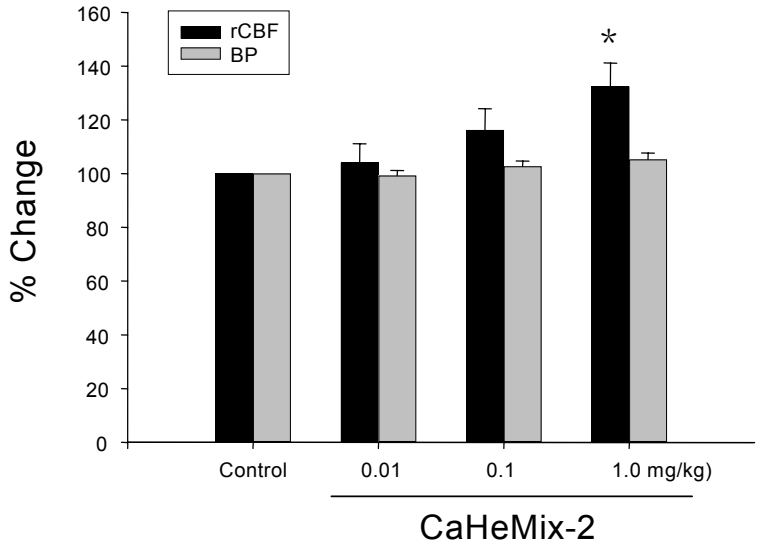


Fig. 45. Effect of cahemix-2 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 cahemix-2, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of cahemix-2 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

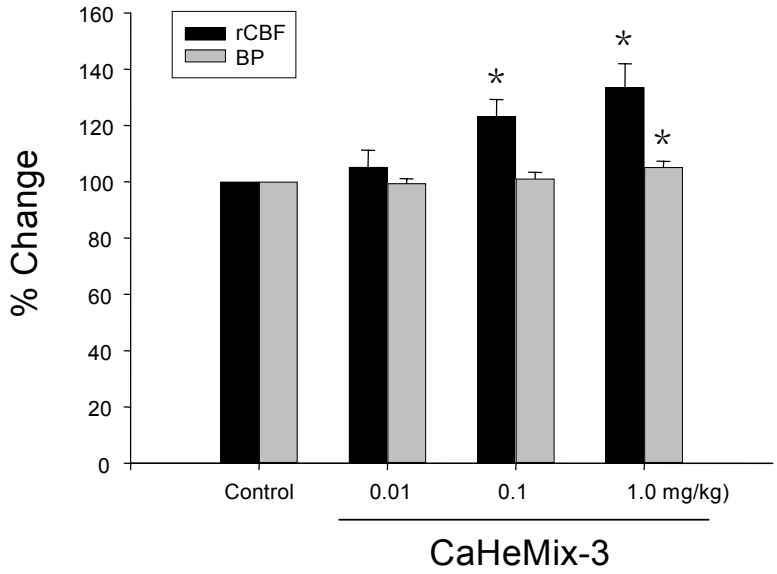


Fig. 46. Effect of cahemix-3 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 cahemix-3, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of cahemix-3 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

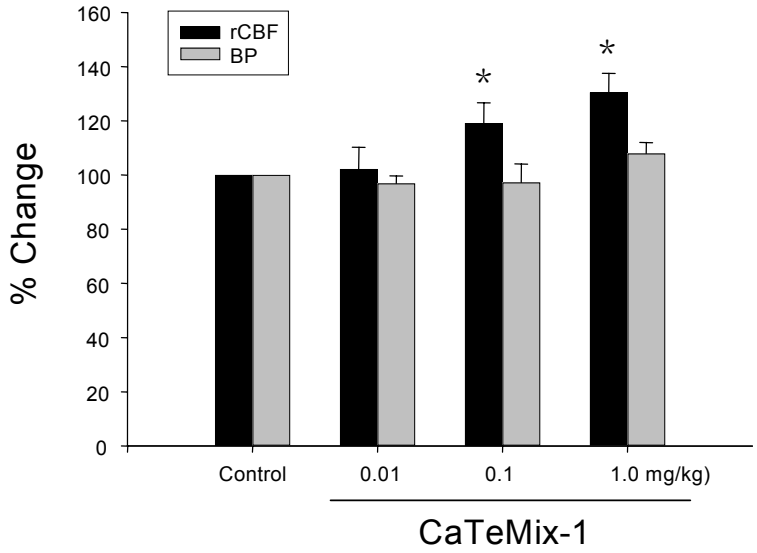


Fig. 47. Effect of catemix-1 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 catemix-1, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of catemix-1 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

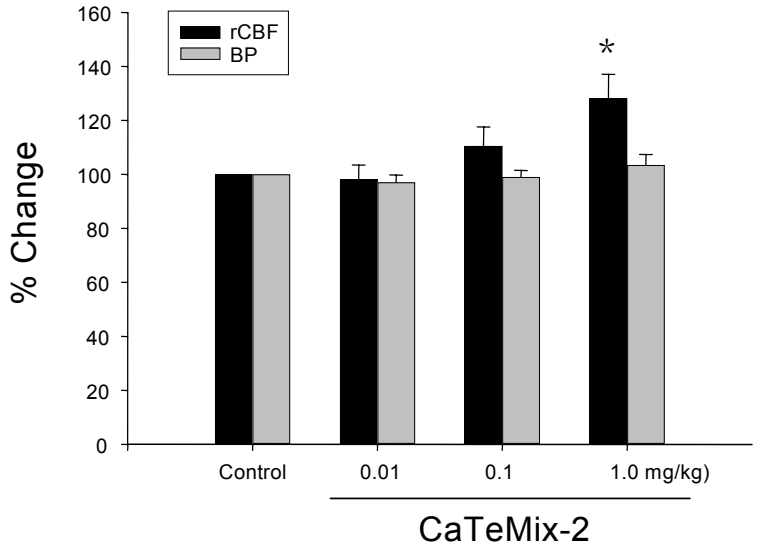


Fig. 48. Effect of catemix-2 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 catemix-2, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of catemix-2 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

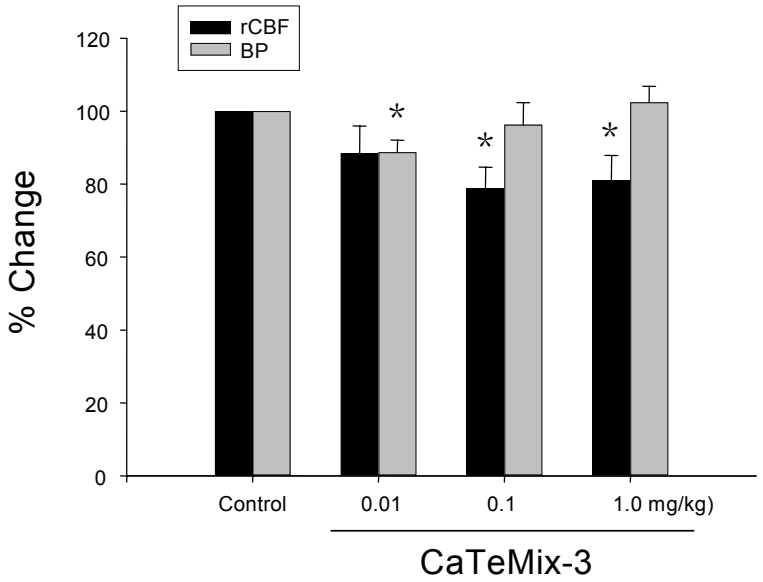


Fig. 49. Effect of catemix-3 on the cerebral blood flow and movement of cardiovascular system by injected dosage in rats. Control, vehicle injected group for 30 mins; 0.01～1.0 catemix-3, 0.01～1.0 ㎎/㎏ of catemix-3 extract injected groups for 30 mins; rCBF, regional cerebral blood flow; BP, mean arterial blood pressure; *, statistically different when compared with control.

라. 뇌세포 세포독성 측정

뇌세포의 LDH 양에 미치는 효과를 관찰한 결과(Fig. 50) 정상군의 경우 78.60±4.68%인데 비해 대조군(control group)에서는 100.00±2.67%로 나타났으며 cahemix-1의 농도를 1, 10 및 100㎍/㎖ 농도로 변경하면서 투여했을 경우 뇌세포의 LDH 양은 99.67±0.92%, 101.15±2.25% 및 104.12±0.65%로 나타나 대조군과의 차이가 없었다.

Cahemix-2의 경우는 98.23±0.79%, 99.85±1.91% 및 105.35±0.62%로, cahemix-3의 경우는 98.52±0.64%, 101.02±1.08% 및 104.03±0.84%로 나타났다. 따라서 동백과 한약재의 배합으로는 뇌세포 보호효과를 나타내지 못했음을 알 수 있다.

Catemix-1의 경우는 104.45±2.68%, 108.63±1.70% 및 110.80±3.80%로, Cahemix-2의 경우는 105.43±2.12%, 107.68±1.53% 및 111.28±3.10%로, Cahemix-3의 경우는 102.22±0.76%, 79.78±2.07% 및 78.38±2.37%로 나타나 동백과 녹차의 배합에서는 모두 10 및 100㎍/㎖ 농도에서 대조군과 차이가 나타났다.

이러한 결과는 동백의 신엽 발효차 및 신엽 덕음차와 녹차의 배합에서 고농도의 경우 뇌세포의 손상을 가져오는데 비해 덕음화차와 녹차가 50:50으로 배합된 경우 뇌세포의 손상으로부터 보호할 수 있으며 앞으로 이러한 기능을 이용한 제품 개발의 가능성을 시사하는 바가 큰 것으로 생각된다. 또한 배합에 따라서는 오히려 독성이 나타날 수도 있음을 나타내므로 이에 대한 지속적인 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

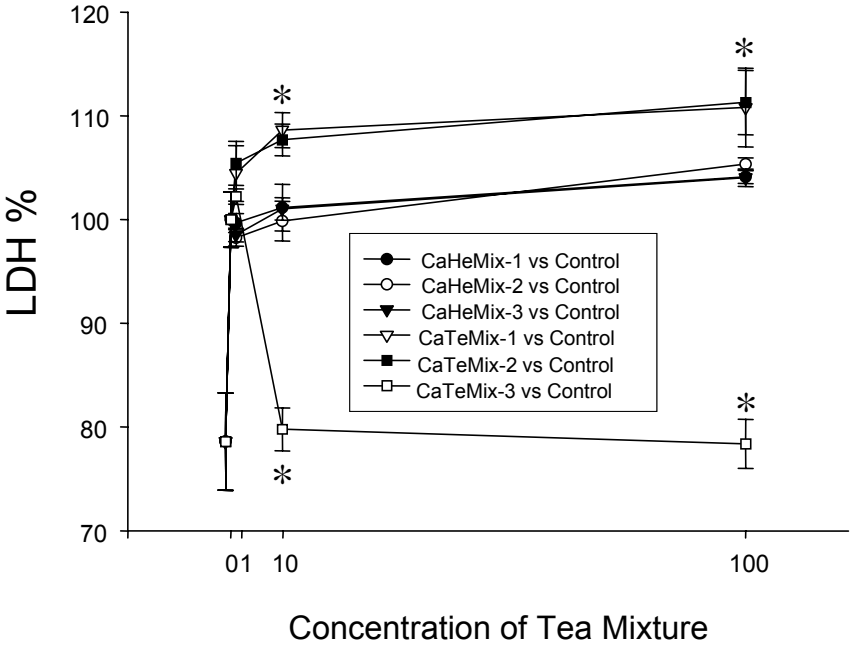


Fig. 50. Effect of cahemix-1, 2, 3 and catemix-1, 2, 3 on the LDH release from cerebral cells. Mixtures were treated with the dose of 1~100㎍/㎖, and control was vehicle treated group. LDH release were compared with control.

마. 혈관에 미치는 영향

동백과 배합된 혼합차 모두에서 유의한 결과를 보이지 않았으며 따라서 그 결과를 본 보고서에는 나타내지 않는다. 이러한 결과는 추출물이 혈관내피세포 및 혈관 평활근에 영향을 주지 않음을 나타내며 다른 여러 기전으로 뇌혈관 및 혈압 등에 영향을 미치지만 직접적인 작용은 나타내지 않음을 알 수 있다. 그러나 혼합차의 경우 저농도에 해당되므로 각각의 시료들을 달리 추출하여 고농도로 적용하였을 경우에는 다른 결과가 도출될 수도 있으므로 이에 관한 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다.

3. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품 개발

가. 동백차와 녹차 및 생약제의 배합조건 및 배합비율

1) 동백차와 녹차의 적정 혼합 비율

동백차와 녹차제품의 혼합은 각각의 잎 형태가 다르기 때문에 혼합 제품의 외관은 균일하지 못하였다. 이는 동백잎이 크고 잘 비벼지지 않을 뿐더러 잎의 엽육이 두텁고 매끄러워 잘 말려지지 않았기 때문이다. 동백 불발효차에서는 덖음차 보다 증제차(찐차)에서 제품의 색깔과 모양이 좋았다. 이는 동백엽 수확 후 증열을 할 경우 엽 자체가 단 시간 내에 고루 쪄지기 때문으로 보였다.

2) 동백차와 생약제의 적정 혼합 비율

동백차와 생약제의 혼합에서 제품 외형은 전반적으로 고르지 못하였다. 감국과 동백차 혼합시 감국의 꽃향이 짙은 편으로 동백차와 혼합이 잘되지 않은 편이었다. 유자피와 동백차의 혼합은 유자피(귤껍질)의 향이 약간 시큼해서 두 제품 혼합이 잘 되지 않은 편이었다.

구기자와 동백차의 혼합은 구기자 열매의 빨간색과 동백잎의 녹색, 갈색이 잘 어우러져 좋았다. 감초와의 혼합에서 감초는 노란색을 띄고있으며 절단된 면이 커서 동백차와 화합은 잘되나 감초의 독특한 맛이 강하여 동백차와 혼합이 잘되지 않은 편이었다. 산수유와 혼합은 산수유 열매의 빨간색과 동백잎의 녹색, 갈색이 잘 어우러져 좋았다. 대추와 동백차의 혼합에서 대추는 빨갛고 둥그런 과육을 얇게 절편을 내는 것이 양호하였다. 수삼과 동백차와 혼합에서 수삼은 수분함량이 높아 장기 보관이 어려운 단점이 있었다. 율무와 동백차의 혼합에서 율무는 용출이 잘 안되어 잘게 부수어 첨가하는 것이 좋았다.

박하와 혼합했을 경우 박하 특유의 향이 동백 차의 향을 지배하여 부적절하였다. 오미자와 혼합에서 오미자는 색깔이 분홍색으로 열매가 잘기 때문에 충분한 용출 시간을 주어야 용출이 되었다. 당귀와 혼합에서 당귀 자체가 갖는 향이 독특하여 혼합에는 부적절하였다.

나. 동백차와 녹차 및 생약 추출물을 이용한 음료형 혼합차 제조

현대를 바쁘게 살아가는 모든 사람들은 차를 마시고 나면 찌꺼기가 남아 이들을 처분하기가 어려워 차 마시기를 꺼리는 사람들도 있다. 이를 해소하기 위하여 용기형 캔타입의 차를 제조하게 되었다.

1) 동백차와 녹차 제품 추출물의 혼합 비율

동백차 제품은 외형에서는 녹차에 비하여 제품이 고르지 못하지만 추출물을 이용하는 것은 외형과는 관계가 없었다. 각각의 원료를 추출조건에 맞추어 추출한 후 혼합하였다. 혼합비율은 제품의 혼합 및 티백의 혼합 비율을 참고로 하여 조정하고 가장 좋은 조건을 도출하고 사용하였으며 그 결과는 표 44와 같다.

표 44. 동백차와 녹차 제품의 추출물 혼합 비율

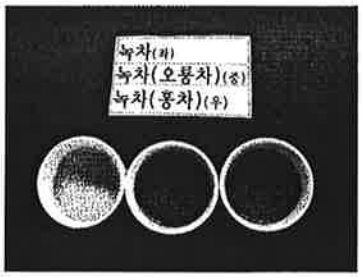
(동백차/녹차, %)

		녹 차		
		불발효차	반발효차	완전발효차
동백	불발효차	52±2/48±1	52±2/48	51/49
	반발효차	50±2/50±2	51±2/49	52/48
	완전발효차	53±1/47±2	52±1/48	53/47

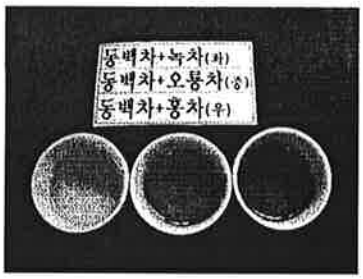
동백불발효차와 녹차 추출물의 혼합(52/48)은 녹색에 가까웠으며, 녹차 반발효차와 혼합(52/48)은 갈색을 띠었다. 녹차완전발효차와 혼합(51/49)은 갈색으로 제품은 양호하였다. 동백반발효차와 녹차의 혼합(50/50), 녹차반발효차혼합(51/49), 녹차완전발효차의 혼합 (52/48)의 제품은 양호하였다【그림 51～55】.

동백완전발효차와 녹차의 혼합(53/47), 녹차반발효차혼합(52/48), 녹차완전발효차의 혼합(53/47)은 양호하였다. 각 처리간에 혼합율 보다 수치가 적었을 때는 성분의 용출이 적었고, 수치가 높을 때는 용출이 많아 제품의 맛이 적절하지 못하였다.

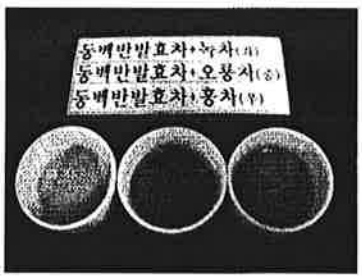
【그림 51】 동백차 추출



【그림 52】 녹차 추출



【그림 53】 동백차+녹차



【그림 54】 동백반발효차+녹차

【그림 55】 동백 완전발효차+녹차

자료출처 : 국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발 / 농림부

2) 동백차와 생약제 추출물의 혼합 비율

동백차와 생약제를 혼합한 용기차 제조를 위해 각각의 원료를 추출한 후 혼합하였다. 혼합비율은 제품의 혼합비율에서 가장 좋은 조건을 사용하였으며 관능검사를 거쳐 적정 혼합하고 가장 좋은 조건을 도출하였다. 그 결과는 표 45와 같다.

표 45. 동백차와 생약제의 추출물 혼합 비율

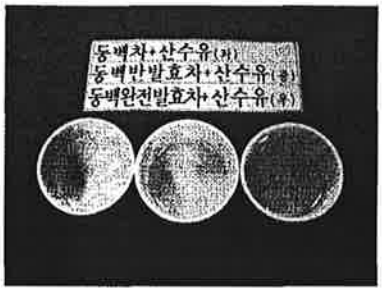
(동백차/약제, %)

		감국	유자피	구기자	감초	산수유	대추
동백	불발효차	61±2/39±1	66±1/34±1	55±1/45±1	63±1/36±1	61±1/39±1	66±1/34±1
	반발효차	64±1/36±1	65±2/35±1	54±1/46±1	62±2/38±1	62±2/38±1	63±2/37±1
	완전발효차	65±2/35±1	64±1/36±1	54±1/46±1	63±1/37±1	63±1/37±1	64±1/36±1

		수삼	율무	박하	오미자	당귀
동백	불발효차	63±1/37±1	62±2/38±1	66±1/34±1	63±2/37±1	68±2/32±1
	반발효차	62±2/38±1	62±1/38±1	65±2/35±1	64±1/36±1	66±1/34±1
	완전발효차	62±2/38±1	63±1/37±1	65±1/35±1	64±1/36±1	65±1/35±1

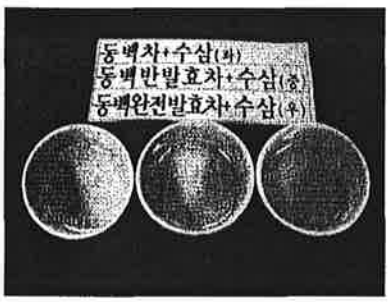
동백차와 불발효차의 배합에서 감국(61/39)은 감국의 독특한 꽃 향이 짙어서 이질감을 나타내었다. 유자피는 독특한 향이 동백차 향을 능가하며 두 제품 혼합시 기호도가 떨어졌다. 구기자(55/45)는 구기자 열매의 빨강색과 기능성 면에서 좋은 점을 보였다. 감초(63/37)는 감초의 독특한 맛이 강하여 동백차와 혼합시 기호도가 하락하였다. 산수유(61/39)는 산수유 열매에서 용출되는 옅은 붉은색이 혼합되어 제품뿐만 아니라 기능성 면에서 좋은 점을 보였다. 대추(66/34)는 혼합시 기호도가 떨어졌다. 수삼(63/37)에서 수삼의 용출액은 흰색에 가까웠으며 기능성과 맛이 독특하고 양호하였다. 율무(62/38)에서 율무의 용출색이 탁하였으며 맛은 시큼하여 기호도가 떨어졌다. 박하의 혼합(66/34)에서 박하 특유의 향이 있어 동백차의 향을 상쇄 해버리므로 혼합에서는 부적절하였다.
오미자의 혼합(63/37)에서 오미자는 분홍색으로 수색이 양호하였으며 기능성 면에서도 뛰어나 좋은 제품으로 평가되었다. 당귀의 혼합(68/32)에서 당귀는 향이 독특하여 동백차와 혼합시 이질감을 주어 기호도가 떨어졌다【그림 56~72】.

【그림 56】 동백차+구기자

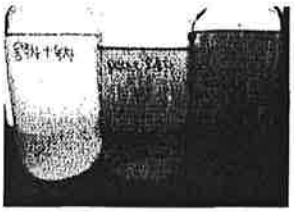


【그림 57】 동백차+산수유

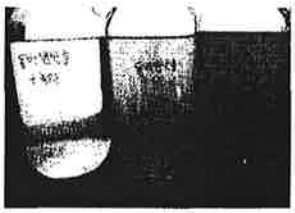
【그림 58】 동백차+오미자



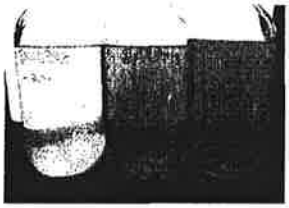
【그림 59】 동백차+수삼



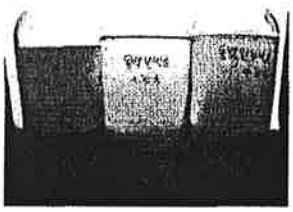
【그림 60】 동백불발효차 +녹차



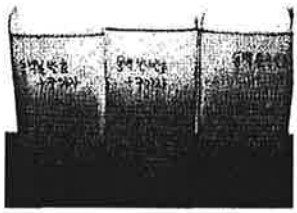
【그림 61】 동백반발효차 +오룡차



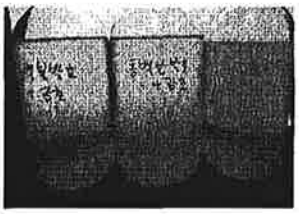
【 그림 62】 동백완전발효차 +홍차



【그림 63】 동백차+감국



【그림 64】 동백차+구기자



【그림 65】 동백차+감초

자료출처 : 국내 자생 동백속 식물을 이용한 기능성 차 개발 / 농림부

【그림 66】 동백차+산수유

【그림 67】 동백차+대추

【그림 68】 동백차+수삼

【그림 69】 동백차+율무

【그림 70】 동백차+박하

【그림 71】 동백차+오미자

【그림 72】 동백차+당귀

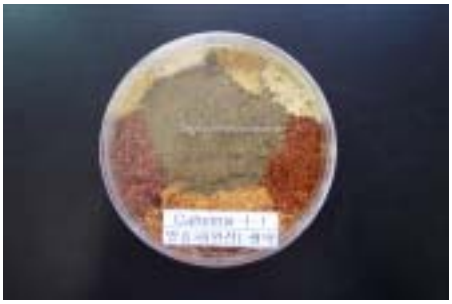
3) 동백차와 생약제 추출물의 혼합

동백차(50%)와 생약제(50%)를 표 46에서와 같이 혼합하여 차를 제조하고 관능을 검토하였다(Fig. 73). 혼합 결과 대추, 오미자, 구기자, 수삼은 원료가 분말화는 되었지만 수분함량이 많아 보관상 어려움이 많았다.

표 46. 동백차와 생약제 혼합차

명 명	원 료 명		배합비율(%)	pH
Cahemix-1	동백반발효차		50	4.37
	생약	대추 오미자 구기자 유자피 생강 감초 수삼	22 10 10 4 2 1 1	
Cahemix-1-1	동백완전발효차		50	4.30
	생약	대추 오미자 구기자 유자피 생강 감초 수삼	22 10 10 4 2 1 1	
Cahemix-2	동백덖음차		50	4.36
	생약	대추 오미자 구기자 유자피 생강 감초 수삼	22 10 10 4 2 1 1	
Cahemix-3	덖음화차		50	4.18
	생약	대추 오미자 구기자 유자피 생강 감초 수삼	22 10 10 4 2 1 1	

Cahemix-1



Cahemix-1-1

Cahemix-2

Cahemix-3

Fig. 73. The shape of mixed tea of camellia and herb tea ; cahemix-1, cahemix-1-1, cahemix-2 and cahemix-3

4) 동백차와 혼합 생약제 추출물

동백차와 혼합생약제의 제품을 혼합하고 온수에 추출한 후의 수색은 그림 74와 같다. 동백차와 복합적인 생약제의 혼합으로 인한 독특한 향이 이질감으로 나타났지만, 역겨운 감은 없었다. 특히 동백 완전발효차와 꽃차에서 품질이 좋은 것으로 나타났다.

【그림 74】 Cahemix 혼합 추출물의 수색

5) 동백차와 녹차 및 생약제 혼합 용액의 pH

동백차와 녹차 및 생약제의 혼합 용액의 pH는 표 47과 같으며, 모든 제품에서 산성에 속하였으며 그 중 산성에 가장 강한 것은 오미자 혼합(3.5전후)이었고, 다음이 산수유 혼합액(3.7전후)이었다. 녹차 불발효차, 감초, 율무, 당귀의 용액(5.0 이상)이 가장 높았다.

표 47. 동백차와 녹차 및 생약제 혼합 용액의 pH

		녹차			감국	유자피	구기자	감초	산수유	대추	수삼	율무	박하	오미자	당귀
		불발효	반발효	완전발효											
동백	불발효	5.42	4.71	5.07	4.59	5.01	4.87	5.17	3.71	4.70	4.54	5.93	4.72	3.31	5.47
	반발효	5.56	4.93	4.92	4.44	4.16	4.98	5.14	3.73	4.42	4.94	5.42	5.61	3.50	5.66
	완 전 발 효	5.32	5.05	4.90	4.25	3.89	4.05	5.17	3.67	4.49	4.89	5.09	5.32	3.46	4.75

4) 동백차와 녹차 및 생약제 혼합 용기(캔)차 제조

동백차와 녹차 및 생약제의 혼합 용기(캔)차 제조는 그림 75~88에서 보는 바와 같다. 동백차와 녹차 및 생약제를 혼합한 용기차 제조를 위해 각각의 원료를 추출한 후 가장 좋은 조건을 도출하고 혼합하였다. 혼합비율은 【표 45】와 같이 하였다.

【그림 75】동백차+ 감국

【그림 76】동백차+감초

【그림 77】동백차+구기자

【그림 78】동백차+당귀(반발효)

【그림 79】동백차+대추

【그림 80】동백불발효차+녹차

【그림 81】동백불발효차 +녹차반발효차

【그림 82】동백완전발효차 +녹차완전발효차

【그림 83】동백차+박하

【그림 84】동백차+산수유

【그림 85】동백차+수삼

【그림 86】동백차+오미자

【그림 87】동백차+율무

【그림 88】동백차+유자피

다. 동백차와 녹차 및 생약 제품의 티백차 제조

1) 동백차와 녹차 제품의 티백 제조

동백차와 녹차의 티백제조를 위해 제품을 건조한 후 분쇄기에 갈고 혼합하였다. 혼합비율은 제품의 혼합비율에서 가장 좋은 조건을 사용하여 도출하였으며, 티백 제조후 용출 결과 서로가 일치하지는 않아 가감하여 조정하였다. 그 결과는 표 48과 같다.

표 48. 동백차와 녹차 제품의 티백 제조

(동백차/녹차, %)

		녹 차		
		불발효차	반발효차	완전발효차
동백	불발효차	52±1/48±2	53±1/47±3	52±1/48±2
	반발효차	51±1/49±1	52±1/48±2	53±1/47±2
	완전발효차	50±1/50±2	50±1/50±2	50±1/50±2

동백불발효차와 녹차 혼합(52/48), 녹차반발효차의 혼합(53/47), 녹차완전발효차 혼합(52/48)에서 양호하였으며, 덖음차 보다는 찐차에서 양호하였다. 동백반발효차와 녹차제품의 각각의 혼합(51～53/47～49)은 품질이 떨어졌다. 동백완전발효차와 녹차반발효차제품의 혼합(50/50), 녹차반발효차와 혼합(50/50), 완전발효차와 혼합(50/50)이 양호하였다【그림 89～91】.

【그림 89】동백불발효차+녹차

【그림 90】동백반발효차+녹차

【그림 91】동백완전발효차+녹차

2) 동백차와 생약 제품의 티백 제조

동백차와 생약제품을 혼합하여 차로 이용하기 위하여 티백을 제조하였다. 동백차와 생약의 티백제조를 위해 제품을 건조한 후 분쇄기에 갈고 혼합하였다. 혼합비율은 제품의 혼합비율에서 가장 좋은 조건을 사용하였으며 그 결과는 표 5과 같다.

표 49. 동백차와 생약 제품의 티백 제조

(동백차/약제, %)

		감국	유자피	구기자	감초	산수유	대추
동백	불발효차	65±2/35±1	69±1/31±1	58±1/42±2	71±1/29±1	57±1/43±2	68±1/32±1
	반발효차	66±1/34±1	68±2/32±1	57±1/43±1	70±2/30±1	59±2/41±1	67±2/33±1
	완전발효차	64±2/36±1	67±2/33±1	56±1/44±2	73±1/27±1	58±1/42±1	66±1/34±1

		수삼	율무	박하	오미자	당귀
동백	불발효차	65±1/35±1	60±2/40±1	68±1/32±1	65±2/35±1	71±2/29±1
	반발효차	63±2/37±1	59±1/41±1	66±2/34±1	65±1/35±1	69±1/31±1
	완전발효차	64±2/36±1	58±1/42±1	67±1/33±1	66±1/34±1	70±1/30±1

동백차 불발효차와 감국 혼합(65/35)은 감국의 향이 짙어서 이질감이 강하게 나타나서 감국의 배합량을 감소시켜야했다. 유자피는 향이 독특해 기호도가 떨어졌다. 구기자 혼합(58/42)에서 구기자의 독특한 수색과 동백이 혼합하여 좋은 점을 보였다. 감초 혼합(71/29)에서 감초의 향과 맛이 강하였다. 산수유 혼합(57/43)에서 산수유의 옅은 붉은색과 기능성 면에서 좋은 점을 보였다. 대추(68/32)는 색과 맛에서 기호성이 약간 떨어졌다. 수삼 혼합(65/35)에서 수삼은 부패가 심하여 장기보관이 안되어 부적절하였으며, 제품의 장기 보관을 위해서는 건삼이 적절하였다. 율무 혼합(60/40)에서 율무의 용출색이 탁하고 맛이 무미여서 기호도가 하락되었다. 박하 혼합(68/32)에서 박하 향이 강하였다. 오미자 혼합(65/35)에서 기능성 면에서도 뛰어나 좋은 제품으로 평가되었다. 당귀 혼합(71/29)에서 당귀의 향이 강하여 당귀의 함량을 낮추는 것이 좋았다【그림 92~102】.

【그림 92】 동백차+감국

【그림 93】 동백차+감초

【그림 94】 동백차+구기자

【그림 95】 동백차+당귀

【그림 96】 동백차+대추

【그림 97】 동백차+박하

【그림 98】 동백차+산수유

【그림 99】 동백차+수삼

【그림100】 동백차+오미자

【그림 101】 동백차+율무

【그림 102】 동백차+유자피

라. 동백 분말(가루)차 제조

동백 분말차의 형태는 그림 103, 104와 같다. 지금까지는 마시는 차에서 먹는 차로 소비형태가 바뀌어 가고 있으며 이를 대처하기 위하여 분말차를 제조하였다. 분말 차는 분말도가 중요하며 분말도를 높이기 위해서는 어린 차엽시 차광 밀도와 기간이 중요하다. 엽록소 함량이 적고 안토시아닌 색소가 많아 약간 녹색이 바랜 듯이 보였으나 품질은 양호하였다.

【그림 103】동백 분말차

【그림 104】동백 분말차

마. 품질 및 관능평가

1) 동백차와 녹차 제품 및 혼합 제품의 추출후 관능평가

동백차 제품과 녹차류와의 혼합 결과 관능은 표 50과 같다. 동백차 중에서 덖음차 보다 증제차에서 제품의 색깔과 모양이 양호하였다. 동백 불발효차와 녹차 혼합과 동백완전발효차와 녹차혼합은 양호하였으나, 동백 반발효차와 녹차 혼합은 전체적인 면에서 수색 및 맛이 좋지 않았다. 각 처리간에 혼합율 보다 숫치가 적었을 때는 성분의 용출이 적었고, 숫자가 컷을 때는 용출이 많아 제품의 맛이 적절하지 못하였다

동백차와 녹차(불발효차)를 추출 후 혼합하였을 때 침전은 불발효차와 완전발효차에서 일부 발생되었지만 품질이 좋았다. 동백반발효차와 녹차(전제품) 혼합하였을 때 침전이 있었으며 맛, 향이 좋지 않았다. 동백차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)를 추출후 혼합하였을 때 수색은 약간 얕았지만 품질은 양호하였다.

표 50. 동백차와 녹차 혼합 제품의 관능평가

			녹차(불발효차)						녹차반발효차(오룡차)						녹차완전발효차(홍차)					
			외형	수색	침전	맛	향	평점	외형	수색	침전	맛	향	평점	외형	수색	침전	맛	향	평점
동백	불발효차	덖음	++	황	+	++	++	++	++	황	+	++	++	++	++	갈색	+	++	++	++
		증제	++	녹황	+	+++	++	+++	++	연황	+	+++	++	+++	++	갈색	+	+++	++	+++
	반발효		++	황	++	++	++	++	++	연갈	++	++	++	++	++	갈색	++	++	++	++
	완전발효		++	녹황	+	+++	++	+++	++	황갈	+	++	++	++	++	갈색	+	+++	++	+++

【관능】 양호 : ++++, 좋음 : +++ , 보통 : ++, 이질감 : +, 역겨움 : - , 【 침전】 다 : ++++, 중 : +++, 소 : ++, 무 : -

2) 동백차와 생약 혼합 제품 및 제품의 추출후 관능평가

동백차 제품과 생약제와의 혼합 제품의 관능은 표 51과 같다. 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀 등은 수색은 보통이었으나 향이 강하거나 맛이 독특하여 대부분이 이질감을 느낄 수 있었다. 동백제품과 구기자, 산수유, 수삼, 오미자와의 혼합 제품에서는 수색과 향, 맛이 양호하였다. 동백차와 생약제의 추출물 혼합에서 침전물이 심하게 발생되는 혼합은 당귀, 유자피, 율무, 감초 등으로 품질이 떨어졌다【그림 105】. 침전물이 없거나 일부 발생되지만 품질이 좋은 혼합은 수삼, 구기자, 오미자, 산수유였다. 대추는 침전은 없었지만 품질이 좋지 않았다.

용기차로서 좋은 혼합은 수삼, 구기자, 산수유, 오미자가 적합하였다. 용출 온도가 높거나 용출 시간이 길었을 때, 각각의 성분의 용출이 많아 관능에 영향을 미쳤다. 따라서 정확한 용출 온도와 용출 시간을 맞추는 것이 중요하였다.

표 51. 동백차와 생약 혼합 제품의 관능평가

		감국					유자피					구기자				
		수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점
동백	불발효	연청	++	+	+	+	황	+++	+	+	+	황	+	+++	++	+++
	반발효	녹황	+++	+	+	+	황	++	+	+	+	황	+	+++	++	+++
	완전발효	황	+++	+	+	+	황	++	+	+	+	황	+	+++	++	+++

		감초					산수유					대추				
		수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점
동백	불발효	연황	++	++	++	++	연록	-	+++	++	+++	연황	-	++	++	++
	반발효	연황	++	++	++	++	연황	-	+++	++	+++	"	-	++	++	++
	완전발효	황	++	++	++	++	황	-	+++	++	+++	"	-	++	++	++

		수삼					율무					박하				
		수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점
동백	불발효	연청	-	+++	++	+++	연황	+	+	+	+	암회	++	+	+	+
	반발효	연황	-	+++	++	+++	"	+++	+	+	+	황갈	++	+	+	+
	완전발효	황	-	+++	++	+++	"	++	+	+	+	황갈	++	+	+	+

		오미자					당귀				
		수색	침전	맛	향	평점	수색	침전	맛	향	평점
동백	불발효	연분홍	+	+++	++	+++	연황	++++	+	+	+
	반발효	"	+	+++	++	+++	"	++++	+	+	+
	완전발효	"	+	+++	++	+++	황	++++	+	+	+

【관능】 양호 : ++++, 좋음 : +++ , 보통 : ++, 이질감 : +, 역겨움 : - , 【 침전】 다 : ++++, 중 : +++, 소 : ++, 무 : -

【그림 105】 동백+생약 제품의 침전물

3) 동백차와 혼합 생약제 추출물의 관능평가

동백차와 혼합생약제의 제품의 관능은 표 52와 같다. 동백차와 생약제의 혼합으로 인한 독특한 향이 있어 이질감이 있었지만, 역겨운 감은 없었다. 특히 동백완전발효차와 꽃차에서 품질이 좋은 것으로 나타났다.

표 52. 동백차와 혼합생약제의 제품 관능평가

	Cahemix-1						Cahemix-1-1				
	수색	침전	맛	향	평점		수색	침전	맛	향	평점
동백 반발효	연황	+	+++	++	++	동백 완전발효	연황	+	++++	+++	+++
	Cahemix-1						Cahemix-1-1				
	수색	침전	맛	향	평점		수색	침전	맛	향	평점
동백 불발효 (덖음)	황	+	+++	++	++	동백 화차	연분홍	+	++++	+++	+++

【관능】 양호 : ++++, 좋음 : +++ , 보통 : ++, 이질감 : +, 역겨움 : - ,

3) 동백차 티백 제품의 관능평가

(1) 동백차와 녹차 혼합 티백 제품의 관능

동백차 제품과 녹차 제품과의 혼합 티백에서 동백 불발효차와 녹차 혼합과 동백완전발효차와 녹차혼합은 양호하였으나, 동백 반발효차와 녹차 혼합은 전체적인 면에서 수색 및 맛이 좋지 않았다. 각 처리간에 혼합율 보다 수치가 적었을 때는 성분의 용출이 적었고, 숫자가 컷을 때는 용출이 많아 제품의 맛이 적

절하지 못하였다. 용출 온도가 높거나 용출시간이 길었을 때, 각각의 성분의 용출이 많아 관능에 영향을 미쳤다. 따라서 정확한 용출 온도 및 용출 시간을 맞추는 것이 중요하였다.

(2) 동백차와 생약 혼합 티백 제품의 관능평가

동백차와 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 수삼, 박하, 당귀의 혼합으로 티백 제조는 수색 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 티백으로 좋은 것은 구기자, 산수유, 오미자가 적합하였다. 용출 온도가 높거나 용출시간이 길었을 때, 각각의 성분의 용출이 많아 관능에 영향을 미쳤다. 따라서 정확한 용출 온도 미 용출 시간을 맞추는 것이 중요하였다.

4) 동벡 가루(분말)차 제품의 관능평가

동백 분말차의 관능은 표 53과 같다. 동백 분말차는 녹차 분말차에 비하여 외형에서는 큰 차이가 없었으며 색은 엽록소 대신 안토시아닌이 많이 발현되어 황색에 가까웠으며 맛과 향은 양호하였다.

표 53. 동백가루차 제품의 관능평가

구분	외형	색	맛	향	평점
동백가루차	++++	+++	++++	+++	++++
녹차가루차	++++	++++	++++	++++	++++

양호 : ++++, 좋음 : +++ , 보통 : ++, 이질감 : +, 역겨움 : -

제4절 적 요

1. 혼합차의 주요성분분석 및 생리활성 검색

가. 혼합차의 주요성분분석

1) 일반성분 분석을 실시한 결과 cahemix가 catemix에 비해 수분함량이 많았고 조단백과 조회분은 catemix-1에 각각 5.64%, 2.47%로 많은 양이 함유되어 있었으며, 조지방은 catemix-2에 3.31%로 가장 많이 함유되어 있었다.

2) Catemix-2의 카페인 함량은 6.73%로 가장 많았고 생약과의 혼합인 cahemix-1, 2, 3의 함량은 비교적 적게 나타났다.

3) 폴리페놀류로서 차의 품질에 중요한 작용을 미치는 카테킨은 cahemix-1에 17.33%의 많은 양이 함유되어 있었고 재료의 종류에 따른 함량변화가 다양하게 나타났다.

4) Cahemix-3을 제외한 혼합차가 동백차보다 탄닌 함량이 감소하는 경향이 있다.

5) 테아닌은 혼합차 중 catemix-1이 0.9mg/100g으로 가장 많은 양을 함유하였다.

6) 비타민 C는 cahemix-1에 256.6 mg/100g으로 가장 많이 함유되어 있었다. 화차에 비해 화차 혼합차인 catemix-3, cahemix-3 모두 비타민 C의 함량이 감소하였다.

7) 유리아미노산의 함량을 측정한 결과 catemix-1, 2 및 cahemix-3에는 proline이, catemix-3, cahemix 1, 3에는 cystein이 많이 함유되어 있었다. 또한 aspartic acid의 함량은 cartemix-1과 cahemix-2에, glutamic acid는 cahemix-2에 많이 함유되어 있었다.

8) 핵산관련물질은 동백차에 비해 모든 혼합차에서 IMP의 함량이 높았고 GMP와 UMP의 함량은 감소하는 경향을 나타내었다.

9) 전체 유리당의 함량은 cahemix-3이 14.81unit로 높았으며 catemix에는 sucrose가, cahemix에는 glucose가 다른 당류에 비해 많이 함유되어 있었다.

나. 생리활성 검색

1) 항산화 활성을 조사한 결과 catemix-1과 2에서 2.07, 2.13AI의 비교적 높은 항산화 효과가 있었다.

2) 세포독성 테스트에서 cahemix-3이 가장 강한 독성 효과를 나타냈으며 catemix는 세포 독성 효과가 거의 나타나지 않았다.

3) AML-2/100 세포주를 이용하여 실험한 결과 chemosensitizing effect가 없었다.

4) 혈전용해 테스트를 실시한 결과 모든 혼합차에서 유의 할만한 활성이 나타나지 않았다.

5) 항미생물 활성테스트에서는 catemix-1에서 가장 강한 항세균, 항진균 효과가 있었다.

2. 생약을 이용한 혼합조건 확립 및 기능성 검증

중국에서 출판되어 약차에 관한 많은 내용을 다루고 있는 「藥茶-健身益壽之寶」와 「百病中醫藥茶療法」에 수록된 여러 종류의 茶 배합 재료들을 조사하여 그 중 전남 지역에서 재배하고 있으며 현재 한의학 임상 또는 민간 요법에서 많이 이용되고 있는 약재들을 선정하여 보았다. 그 결과 동백을 재료로 한 여러 차에 혼합되는 생약으로는 대추, 오미자, 구기자, 유자, 생강, 감초 및 수삼(인삼)을 선정하였다. 그 목적은 동백과 한약 재료들을 혼합하였을 경우 이때의 약리 활성 등을 확인하여 한약 배합 기능성 茶의 개발 가능성을 검토하고자 함이었다. 위에 열거된 한약재들은 모두 국내산 재료들로 이루어졌으며 만약 한약재를 포함한 기능성 음료의 개발이 가능해졌을 경우 모두 전남 지역 재배 약재로 충당할 수 있으며 이를 통해 농가의 소득이 증가되며 음료의 소비가 증가되었을 경우 새로운 농가 수입원이 될 수 있을 것이다. 또한 현재 민간 요법 등에서도 많이 사용되고 있어 일반인들이 동백차라는 새로운 음료에 이러한 한약재들이 포함되어 있다면 이에 대한 사용에 있어서의 친근함으로 인해 별 위화감 없이 음료에 적응할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 한약재들의 기능성에 대해서는 많은 연구 보고서들을 통해 자료가 충분히 확보되어있는 상태이지만 이에 대한 개발은 아직 미흡하므로 기능성 음료에 배합함으로써 그 가능성을 확인하고자 한다.

위의 한약재들과 동백이 배합되었을 경우 약리 활성을 띠는지 확인하기 위하여 뇌혈류량에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험 동물에 적용된 시료는 동백과 한약재 및 녹차 배합 추출물인 cahemix-1, 2, 3 및 catemix-1, 2, 3의 6종류의 메탄올 추출물을 사용하였다. 그 결과 catemix-3의 경우 뇌혈류량의 감소를 나타냄으로써 만약 질병 발생의 원인으로 뇌혈류량이 감소되었다가 다시 증가하는 과정에 catemix-3를 투여할 경우 허혈/재관류에 의한 과도한 혈액의 공급으로 인한 활성산소의 급격한 증가를 억제할 수 있으므로 강력한 약리활성을 띠는 것으로 보인다. 하지만 정상적인 상태에서의 투여는 반대로 인체에 손상을 줄 수 있으므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 생각된다. 기타의 다른 배합에서는 뇌혈류량을 증가시키는 결과를 보였으므로 뇌에 혈액이 원활히 공급되는 상태를 유지할 수 있으므로 뇌의 기능을 향상시킬 수 있는 기능성을 가진다고 보여진다. 우리나라 2001년 사망원인 순위가 암(1위), 뇌혈관질환(2위), 심장질환(3위), 당뇨병(4위), 간질환(5위) 순이며 4대 사망원인(암, 뇌혈관 질환, 심장질환, 당뇨병)이 전체 사망의 50.4%를 차지하고 있는 것으로 볼 때 동백을 이용한 기능성 음료 이외에 후속 연구를 통한 새로운 뇌혈관 질환 치료 약물의 개발도 가능할 것으로 생각된다.

배합 동백차의 뇌세포 독성에 대한 영향도 관찰하였다. 그 결과 동백의 신엽 발효차 및 신엽 덕음차와 녹차의 배합에서 고농도의 경우 뇌세포의 손상을 가져오는데 비해 덕음화차와 녹차가 50:50으로 배합된 경우 뇌세포의 손상으로부터 보호할 수 있으며 앞으로 이러한 기능을 이용한 제품 개발의 가능성을 시사하는 바가 큰 것으로 생각된다. 또한 배합에 따라서는 오히려 독성이 나타날 수도 있음을 나타내므로 이에 대한 지속적인 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

흰쥐의 흉부 대동맥 혈관에 미치는 영향도 관찰하였는데 동백 배합 음료들이 혈관내피세포 및 혈관 평활근에 영향을 주지 않았다. 이러한 결과를 통해 추출물들이 다른 여러 기전으로 뇌혈관 및 혈압 등에 영향을 미치지만 혈관에 직접적인 작용은 나타내지 않음을 알 수 있다. 그러나 혼합차의 경우 저농도에 해당되므로 각각의 시료들을 달리 추출하여 고농도로 적용하였을 경우에는 다른 결과가 도출될 수도 있으므로 이에 관한 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다.

추출물들이 혈청 중 glucose 및 콜레스테롤에 미치는 영향을 조사하였는데, 혈청 중 glucose 함량은 동백엽 발효차와 화차 추출물의 저농도 및 고농도에서 정상

생쥐에서와 유의한 차이는 없었으나 감소의 경향을 보였으므로 투여 농도와 기간을 변화시켰을 때는 다른 결과가 나타날 수도 있을 것으로 생각된다. 혈청 중 콜레스테롤 함량은 동백엽 발효차에서는 정상군에서는 변화가 없었지만 화차 추출물의 고농도 투여에서는 정상 생쥐에서와 유의한 차이가 있었다. 따라서 동백 추출물이 혈중 콜레스테롤 대사의 조절에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

위와 같은 결과를 통해 동백이 한약재 또는 녹차와 배합되어 기능성 음료로 효과적으로 사용될 수 있음을 보였으며 실험을 진행하는 과정에서 단순한 음료로서만이 아니라 여러 활성들이 충분히 검토되어진다면 특정 질환의 치료 목적 또는 인체 대사 조절 식품 등으로의 개발 가능성도 있는 것으로 기대된다.

3. 기능성 강화 혼합차의 배합조건 확립 및 제품개발

가. 동백차와 녹차 및 생약제의 배합조건

1) 동백차와 녹차 제품의 혼합

동백차와 녹차제품의 혼합은 각각의 잎 형태가 다르기 때문에 균일하지 못하였다. 이는 동백잎이 크고 엽육이 두텁고 메끄러워 잘 말려지지 않았기 때문이었다. 동백차와 녹차류와의 혼합에서 덖음차 보다 찐차에서 제품의 색깔과 모양이 양호하였다.

동백차는 탄닌 함량이 높기 때문에 혼합율이 떨어지고 동백불발효차와 동백완전발효차가 품질이 좋았으며, 동백 반발효차는 전체적인 면에서 수색 및 맛이 좋지 않았다

2) 동백차와 생약 제품의 혼합

동백차와 생약제의 혼합에서 제품 외형은 전반적으로 고르지 못하였다. 동백차와 생약제의 혼합에서 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 수삼, 박하, 당귀는 수색 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 그러나 구기자, 산수유, 오미자는 양호한 편이었다

나. 동백차와 녹차 및 생약 추출물을 이용한 혼합차 제조

1) 동백차와 녹차 제품 추출물의 혼합

동백차 제품은 외형에서는 녹차에 비하여 제품이 고르지 못하지만 추출물을

이용하는 것은 외형과는 관계가 없을 뿐더러 차를 이용한 후 남는 찌꺼기 등 처리가 간편하기 때문에 용기차를 제조하였다.

동백차와 녹차(불발효차, 반발효차, 완전발효차)혼합에서, 수색은 녹색, 갈색에 가까웠고, 수색 및 맛은 양호하였다. 동백반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합은 전반적으로 수색, 향과 맛이 좋지 않았다. 동백완전발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)의 혼합은 모두 수색, 맛이 양호하였다.

2) 동백차와 생약제 추출물의 혼합

동백차와 생약제를 추출한 혼합액의 경우 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀 추출물의 혼합차는 수색, 맛, 향 등이 너무 강하거나 약하여 이질감으로 인한 기호도가 떨어져 적절하지 못하였다. 동백차와 혼합에 적합한 생약제는 구기자, 산수유, 수삼, 오미자였다.

동백차와 녹차 및 생약제의 혼합 용액의 pH는 전반적으로 산성이었고 특히 오미자 혼합은 pH3.5의 강한 산성을 나타내었으며 그 다음으로 산수유 혼합액의 pH는 3.7이었다. 이들 강산성의 용액을 중성으로 조정하는 것이 바람직 하리라고 본다.

다. 동백차와 녹차 및 생약 제품 추출후 용기차 제조

1) 동백차와 녹차 추출물을 이용한 용기차 제조

동백차와 녹차를 혼합한 용기차를 제조한 결과 동백차는 찐차가 양호하였으며, 동백불발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효), 동백완전발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)를 추출한 후 혼합하였을 때 수색 및 품질이 양호하였고 기호도가 좋았다. 단. 동백반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효)추출물의 혼합시 맛, 향, 수색이 좋지 않았다.

2) 동백차와 생약제 추출물을 이용한 용기차 제조

동백차와 생약제 추출물을 혼합한 용기차를 제조한 결과 생약제인 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀의 추출물을 혼합한 용기차는 수색, 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 구기자, 산수유, 수삼, 오미자 등은 수색, 맛, 향 및 기능성에서 뛰어나 몇 가지 점만 보완한다면 충분한 보급 가치가 있다고 본다.

당귀, 유자피, 율무, 감초의 혼합액에서는 침전물이 생겨 품질이 떨어졌으며

이러한 현상에 대한 구체적인 원인은 확실하지 않다. 침전이 없거나 일부 발생되지만 품질이 좋은 혼합은 수삼, 구기자, 오미자, 산수유였다. 대추는 침전은 없었지만 품질이 좋지 않았다. 앞으로 침전물에 대한 연구가 더 진행되어야 하리라고 본다.

라. 동백차와 혼합 생약제 추출물의 관능평가

백차와 생약제의 혼합으로 인한 독특한 향이 있어 이질감이 있었지만, 역겨운 감은 없었다. 특히 동백 완전발효차와 꽃차에서 품질이 좋은 것으로 나타났다.

마. 동백차와 녹차 및 생약 제품의 티백차 제조

1) 동백차와 녹차 제품의 티백 제조

동백차와 녹차제품의 티백제조는 차를 마시고 난 후의 찌꺼기 처리 등 불편함을 해소하기 위하여 티백을 생각하게 되었으며 동백 혼합차의 티백의 품질은 전반적으로 양호한 편이었다. 동백차의 불발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합은 양호하였다.

동백차의 반발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)제품은 수색 및 맛에서 좋지 못하였다. 동백완전발효차와 녹차(불발효, 반발효, 완전발효차)의 혼합제품은 수색, 맛, 향이 양호하였다.

2) 동백차와 생약 제품의 티백 제조

동백차와 생약 제품인 감국, 유자피, 감초, 대추, 율무, 박하, 당귀를 혼합한 티백제품은 수색, 맛, 향 등에서 너무 강하거나 약하여 적절하지 못하였다. 수삼은 부패 변질되어 티백 제품으로는 부적절하였으며, 구기자, 산수유, 오미자 등은 수색, 맛, 향 등에서 가장 적합하였다.

바. 동백차의 분말(가루)차 제조

동백잎을 이용하여 분말차를 제조하기 위해서는 분말도가 중요하며 분말도를 높이기 위해서는 어린 차엽시 차광 밀도와 기간이 중요하다. 제조된 분말차는 엽록소 함량이 적어서 약간 녹색이 바랜 듯이 보였으나 수색, 맛, 향 등 품질은 양호하였다.

제 5 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

1. 목표달성도

본 연구를 통하여 동백나무과에 속하는 동백속 식물의 잎과 꽃을 이용한 제다 과정을 정립하여 덖음차, 찐차, 발효차, 반발효차 및 화차를 제다할 수 있었다. 또한 이들 차의 주요성분을 분석하였고 생리 ·약리활성을 검증하여 그 효과를 입증함으로서 기능성차 개발을 위한 성공적인 자료를 얻을 수 있었다. 더욱이 안전성 테스트를 거쳐 인체에 무해할 뿐만 아니라 건강의 유지 및 증진을 목적으로한 복합적 기능을 수행할 수 있는 신차의 개발에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

2차년도에는 동백과 녹차 및 한약재와의 혼합차 제조를 위한 적합조건 확립을 위해 연구를 실시하여 생리·약리효과를 조사하였고 그 기능성을 검증하기 위해 뇌혈류량에 미치는 영향, 뇌세포 세포독성 측정, 혈관에 미치는 영향 등을 알아보기 위한 동물 실험을 실시하였다. 그 결과 인체에 유용한 성분을 함유한 기능성 혼합차 제다조건을 확립하였고 용기형, 티백형, 캔타입 그리고 분말형 차로 제조할 수 있었다.

본 연구를 통하여 국내에서는 최초로 동백차를 체계적인 방법으로 제다함으로서 차를 다양화시켜 차문화의 대중성 및 보급에 혁신적인 공헌을 하고 나아가 국민건강에 기여하리라 사료된다

2. 관련분야에의 기여도

남부지방에 자생하고 있는 동백나무 잎과 꽃을 이용, 동백차의 제다 시기 및 적정 방법(덖음차, 찐차, 발효차, 반발효차, 화차 등)을 구명하여 각종 기능성 동백차를 개발함은 물론 대중화 및 대량생산 가능성을 검토하고 소비자의 취향에 맞는 다양한 차 제품을 생산 보급하므로서 국민의 정서 함양과 건강증진 및 소비 촉진을 통해 부가가치를 창출하므로서 농업인 소득증대를 통한 지역 경제의 활성화와 국토 공원화에 이바지하고자 하였다.

동백 식재면적의 70%가 전남지역에 분포하고 있어 지역의 자원을 이용하고 기능성 차의 개발이라는 목적에 합당한 동백속 식물의 재배의욕 고취와 함께 농가

의 수익증대 및 신차의 개발로 해외시장 개척을 통한 2004년 수입산 차 제품의 개방에 대응하기 위한 방안중의 하나가 되리라 기대한다.

제 6 장 연구개발결과의 활용계획

1. 후속 연구의 필요성

차의 애호가들이 즐겨마시는 녹차(차나무)는 식물분류학상 동백나무의 근연속인 동백나무과 동백나무속에 위치해 있다. 예로부터 차나무가 자생하지 않았던 지역에서는 동백나무의 어린잎을 채취해 차의 재료로 이용했다는 보고가 있으며 본초강목에서는 동백꽃을 山茶花라는 약재명으로 凉血·止血·散瘀·消腫 등의 효능이 있어 吐血·鼻出血·血崩·腸風下血·血痢·血淋·打撲傷·火傷 등을 치료하는데 사용하고 있다.

1년 후인 2004년이면 WTO 체제하에서 한국의 차시장이 일제히 개방될 위기에 놓여있다. 이를 대비해 중국에서는 중요한 국가정책적 차원에서 세계 차시장을 선점하기 위해 차의 다양화(현재 1000여종에 이름)와 경제성에 주력하고 있으며, 일본의 경우, 고품질의 차를 생산하기 위한 제다공법 개발과 자국민의 기호에 적합한 차를 우선적으로 개발하여 수입산 차의 맛과 차별화시킨다는 데 주력하고 있다.

본 연구의 재료인 동백나무의 잎과 꽃은 주요성분의 특성 및 생리·약리활성을 통한 차로서의 기능성을 검토해 볼때 녹차의 대용자원으로 활용할 만한 충분한 가치가 있고, 전남 지역의 특산식물(전국 식재면적의 70% 차지)을 차의 형태로 식용자원화 시킨다는 데에도 큰 의미가 있다고 사료된다. 단, 현재로서는 자생해 있는 거목의 동백나무로부터 잎과 꽃을 손으로 채취해야하므로 그에 따르는 인건비, 노동력, 대량생산 등에 현실적인 어려움이 있다. 따라서 차나무와 동일방식으로 기계화가 가능한 다원을 조성하기 위해서는 동백나무의 재배학적, 생리 생태학적 특성을 조사하기 위한 후속적 연구가 필요하리라 생각된다.

2. 타 분야에의 응용

동백나무의 엽은 차나무의 엽에 비해 엽면적이 넓고 엽육이 비대하다. 본 연구에서 확립된 동백엽차의 제다공법은 넓고 비대한 동백엽을 효율적으로 제다했다는 점에 비추어볼 때, 생리활성 및 약용가치는 좋으나 엽면적과 엽육 두께의 문제로 차로서의 제다가 불가능했던 타 유용식물에 대해서도 동백엽의 제다법의 활용이 가능할 것으로 사료된다.

차의 다양화 및 생리활성의 강화를 위해 본 연구에서는 동백엽차와 동백화차에 본초학적으로 성미가 맞는 수종의 생약(감초, 오미자, 박하, 구기자, 수삼, 대추, 유자피)을 가미하므로서 차의 기능성과 맛을 보완하였다. 기존에 개발된 차들에 대해서도 단일차 보다는 본 연구에서와 같이 차의 주재료의 장점을 강화시키고 단점을 보완한다는 측면에서 유용한 생약을 가미한 건강기능성 혼합차를 개발하는데 중요한 응용자료가 될 것이라 판단된다.

3. 기업화 추진방안

・최종결과보고서 제출(2003. 8.)

↓

・특허출원(2003. 8.~12.)

・시제품용 브랜드명, 포장, 디자인 설계(2003. 8.~12.)

↓

・시제품(동백화차 1종 1품목, 동백생약혼합차 1종 2품목) 완성(2004. 1.~5.)

・기업에 기술이전(2004. 1.~5.)

↓

・제품 생산 및 마케팅에 대한 현실적 타당성 검토

-대량생산을 위한 기본 인프라 구축(속성재배방식, 재배단지 조성 등)

-국내외 차시장 조사를 통한 수요, 공급률 검토

-생산비, 유통비, 판매비 등의 경제성 검토

・시제품용 브랜드명, 포장, 디자인 설계(2003. 8.~12.)

↓

・시제품(동백화차 1종 1품목, 동백생약혼합차 1종 2품목) 완성(2004. 1.~5.)

・기업에 기술이전(2004. 1.~5.)

↓

・제품 생산 및 마케팅에 대한 현실적 타당성 검토

-대량생산을 위한 기본 인프라 구축(속성재배방식, 재배단지 조성 등)

-국내외 차시장 조사를 통한 수요, 공급률 검토

-생산비, 유통비, 판매비 등의 경제성 검토

제 7 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 일본 국립차시험장의 연구현황(2001. 9. 28. 국외전문가 Yoshiyuki Takeda박사 초청세미나, Makurazaki Tea Station, National Institute of Vegetable and Tea Science, JAPAN) :

- 차의 유전자원 보유현황 ; 한국 자생 동백나무인 *C. japonica*를 포함하여 34종 보유
- 차나무 육종을 위한 소재로서 wild camellia의 문제점; hybrid을 얻기가 어려울 뿐만 아니라 형성된 hybrid도 매우 불안정하며, hybrid의 수분율이 "0"이거나 매우 낮다. 또한 hybrid를 차의 소재로 이용했을 경우, 차의 품질도 낮게 나타났으며, 저온에 대한 저항성도 저조하게 나타남.
- 야생 동백나무(*C. japonica*)와 차나무(*C. sinensis*) 사이의 tea breeding 및 cross compatibility를 위한 유용한 특성; 병 저항성, 저 함량의 카페인, 냉해 저항성, 새로운 향과 맛, 관상용 소재로서의 차나무 개발
- 야생 동백나무(*C. japonica*)와 차나무(*C. sinensis*, 품종명 Sayamakaori)의 교배체(*Chatsubaki)*의 주요성분함량

Table 52. Contents of caffeine, amino acid and catechin of the hybrids between *C. sinensis* and *C. japonica*

Hybrid	Caffeine (%)	Total amino acid (%)	Total catechin (%)
Hybrid No.1	0.34	0.963	2.10
Hybrid No.2	0.39	0.396	2.63
Hybrid No.3	0.26	0.811	4.28
Hybrid No.4	0.20	0.400	3.91
Hybrid No.5	0.46	0.898	3.56
Hybrid No.6	0.33	0.497	2.35
Hybrid No.7	0.47	1.860	2.00
Hybrid No.8	0.24	0.331	4.57
Hybrid No.9	0.33	1.502	2.07
Sayamakaori	3.15	1.290	10.93
C. japonica	0.00	0.162	0.71

Table 53. Caffeine and amino acid contents in leaves of plants from the genus camellia

	Caffeine	Catechin					Amino acids					
		EC	(+)C	EGC	ECG	EGCG	The	Arg	Gln	Asp	Glu	Ser
(Section *Thea*)												
C.sinensis	2.76	1.13	0.07	2.38	1.35	8.59	1.21	0.06	0.07	0.13	0.23	0.04
C.irrawadiensis	N.D.	0.72	0.03	0.12	0.67	0.21	0.21	0.38	0.02	0.07	0.10	0.02
C.taliensis	2.54	0.58	tr	0.80	1.90	6.84	0.27	0.15	0.01	0.05	0.06	0.01
(Section *Camellia*)												
C.japonica	N.D.	4.81	0.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.05	0.02	0.05	0.10	0.02
C.reticulata	N.D.	0.26	0.11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.24	0.04	0.08	0.09	0.02
C.pitardii	N.D.	6.64	0.25	0.46	N.D.	N.D.	N.D.	0.02	0.15	0.02	0.05	0.01
C.saluenensis	N.D.	0.35	0.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.54	0.17	0.20	0.24	0.04

초청연사인 Taketa 박사의 의견에 의하면 동백 잎으로 차를 만들어 이용가능성을 검토한바 있으나(1992) 다소 보완하여야 할 필요가 있다고 함.

2. 동백나무의 자생지역으로 유명한 일본의 야쿠시마와 오오시마에서는 소량이지만 동백꽃을 음건하여 화차(본초명;산다화)를 만들어 관광상품으로 판매하고 있는 데, 이에 관한 과학적인 근거를 살펴보면, 일본에서는 예로부터 동백나무의 말린 꽃을 민간에서 토혈증(hematemesis)에 사용하고 있으며(Itokawa et al., 1981), 항원충작용 및 진경작용(Bhakuni et al., 1988), 치석형성 억제효과(Namba et al.,1984), 알콜 흡수 억제(Yoshikawa et al., 1994), 미백 작용(Mori and Nishimiya, 1988)이 보고되기도 하였다.

3. 중국 차의 다양성(2002년 9월 13일. 국외전문가 Quan Bingwu박사 초청세미나, 중국 연변대학 장백산 연구원) : 중국은 세계최대의 녹차수출국으로 2001년 현재 135,778톤을 수출하고 있어 한국 녹차 생산량의 약 80배에 해당된다. 2002년 1월 현재 중국에서 제다되고 있는 차의 종류는 무려 1000여종에 이른다. 그 중 대표적인 차로는 綠茶(불발효차;太平猴魁 외 17종), 白茶(약발효차;政和白화銀針 외 3종), 黃茶(弱後發酵茶;君山銀針 외 3종), 靑茶(반발효차;鐵羅漢 외 24종), 紅茶(전

발효차;愼紅 외 1종), 黑茶(後醱酵茶;愼山遺珍 외 8종), 花茶(毛峰香片 외 6종)등이 있다.

4. 베트남은 중국 다음으로 녹차 수출이 많은 나라로 2001년 현재 14,500톤을 수출하고 있으며 해마다 수출량이 급격히 증가하고 있어 2005년 녹차 수입개방 이후, 한국 녹차산업을 위협할 최대 경쟁국 중의 하나로 주목할 만하다.

5. 가공면에서 볼 때, 일본의 경우 한국과 같은 소형 개인공장들은 점차 줄어들고 있고 생엽처리에서부터 마지막 가공공정까지 완전 자동화할 수 있는 공장들이 증가하고 있다. 이러한 완전자동화 대형공장들의 설립은 많은 투자비용이 요구되기 때문에 일본은 근처의 차 농가들이 조합을 이루거나 법인을 형성하여 대규모의 완전자동화 설비를 갖추고 있다. 1970년도에 개인공장 6,357개 , 공동공장 891개, 법인공장 67개이었던 것이 1999년에 들어서는 개인공장 2,996개, 공동공장 563개로 현저히 줄어든 반면, 법인공장은 118개로 약 2배의 증가를 보이고 있다.

Table 54. 일본 시즈오카현의 황차 공장수의 추이(시즈오카통계정보사무소)

구 분	1960년	1970년	1981년	1987년	1993년	2001년
개인공장	7,186	6,357	5,230	4,600	3,770	2,996
공동공장	912	891	805	746	673	563
법인공장	87	67	78	82	102	118

6. 2004년 국제 차시장의 전망 : 2004년에는 우리 차업계가 춘추전국시대로 접어들 전망이다. WTO가 명시한 대로 다가오는 1년후면 간세 완화로 인해 2000억 차시장을 노리고 물밀 듯이 세계 각국의 녹차류가 한국으로 몰려올 것이다. 세계가 한국의 차시장을 주목하는 까닭은 현재 한국의 차 인구와 차문화에 대한 관심도가 급격히 상승하고 있는 반면, 한국 차업계가 차수요를 충당하지 못하고 있을 뿐 아니라 다양한 품종 역시 개발하지 못하고 있기 때문이다.

우리나라와 마찬가지로 수입개방을 맞이하는 일본의 경우, 차 업계의 고품질 차생산 전략으로 일본내 수요층을 탄탄하게 확보하고 있다. 무엇보다도 일본차의 80%를 차지하는 센차(前茶)는 자국민들이 가장 선호하는 차로써 전통과 품질을

유지하고 있다. 이는 일본 자국민의 입맛에 맞는 차를 개발했다는 점에서 성공한 경우라 할 수 있다.

제 8 장 참고문헌

1. Bhakuni D. S., Goel, A. K., jain, S., Mehrotra, B, N.., Patnaik, G. K. and Pradash, V. (1988) Screening of Indian plants for biological activity (Part Ⅲ), Indian J. Exp. Biol., 26(11), 883-904.

2. Buttke TM and Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. Immunol Today. 1994;15:7-10.

3. Chen, S.T., Hsu, C.Y., Hogan, E.L., Maricque, H., Balentine, J.D. : A model of focal ischemic stoke in the rat : reproducible extension cortical infarction, Stroke 17 : 738~743, 1986.

4. Choi, D.W. : Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system, Neuron 1 : 623~634, 1988.

5. Dezwart L. L., Hermanns R. C. A., Meerman J. H. N., Evaluation of Urinary Biomarkers for Radical-Induced Liver Damage in Rats Treated with Carbon Tetrachloride., *Toxicology & Applied Pharmacology*, V. 148, 71~82, 1998.

6. Fujita, Y., Fujita, S. and Yoshikawa, H.(1973) Comparative biochemical and chemo-taxonomical studies of the plants of Theaceae(Ⅰ). Essemtial oils of *Camellia sasanqua* Thunb., *C. japonica* Linn., and *Thea sinensis* Linn., 大阪工業技術試驗所季報, 25(4), 198-204.

7. Hase K., Ohsugi M., Xiong Q. B., Hepatoprotective Effect of *Hovenia Dulcis* THUNB. on Experimental Liver Injuries Induced by Carbon Tetrachloride or D-Galactosamine/Lipopolysaccharide, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, V.20 N.4, 381~385, 1997.

8. Itoh, O., Uetsuki, T. Tamura, T. and Matsumoto, A. (1980) Characterization of triterpene alcohols of seed oils from some species of Theaceae, Phytolaccaceae and Sapotaceae, Lipids, 15(6), 407-411.

9. Ip S. P., Ko K. M., The Crucial Antioxidant Action of Schisandrin B in Protecting Against Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity in Mice : A Comparative Study with Butylated Hydroxytoluene., *Biochemical Pharmacology*, V.52, 1687~1693, 1996.

10. Ji-Hyun Lee, Young-So Kim, Chong-Kil Lee, Hyuk-Koo Lee and Seong-Sun Han(1999). Antiviral Activity of Some Flavonoids on Herpes Simplex Viruses. Kor. J. Pharmacogn. 30(1) : 34~39

11. Jin-Won Hyun, Kyoung-Hwa Lim, Jin-E Shin, Min-Sook Sung, Yong-Jin Won, Yeong-Shik Kim, Sam-Sik Kang, Il-Moo Chang, Won-Sick Woo, Woo-Hyun Paik, Hyoung-Ja Kim, Eun-Rhan Woo, Ho-Koon Pard and Jae-Gahb Park(1994). Antineoplastic Effect of Extracts from Traditional Medicinal Plants and various Plants. Kor. J. Pharmacogn. 25(2) : 171~177

12. Jai-Hoon Yim, Hong-Jung Woo, Byung-Woon Kim, Youn-Mun Ha, Seung-Hoon Lee, Sang-Yun Nam and Yong-Mook Choi(1987). Experimental Studies on Antitumor Activity of Herb Drugs(Ⅱ), Sensitivity Testing of Tumor Cell to Drugs. Kor. J. Pharmacogn. 18(2) : 127~135

13. J. W. Kim, H. G. Choi, J. H. Kim, The Current Status of Tea Cultivation and Utilization in Taiwan. J. Kor. Tea Soc. pp.93~104. 1998.

14. Kothakota S, Azuma T, Reinhard C, Klippel A, Tang J, Chu K, McGarry TJ, Kirschner MW, Koths K, Kwiatkowski DJ and Williams LT. Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological

change in apoptosis. Science. 1997;278:294-298.

15. Louis H., Van Laethem J. L., Wu W., et al., Interleukin-10 controls neutrophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice., *Hepatology*, V. 28 N. 6, 1607~1615, 1998.

16. Motoaki D and Michael SR. Postharvest characteristics of cut *Camellia japonica* L. `Kumasaka', Postharvest Biology and Technology. 1996;7(4):331-340.

17. Matsuzaki, T. and Hara, Y.(1985) Antioxidative activity of tea leaf catechins. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 59, 129.

18. Mori and Nishimiya (1988) 美自化粧科, 日本公開特許公報, 63-303910, 12 Dec. 1988, appld. 3 Jun.

19. Michael, C. A. Dominic, A. S. and Anue, M : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res*. 48, 589(1988)

20. Namba, T., Tsunezuka, M., Takehana, Y., Nunome, S., Takeda, K., Shu, Y. W., Kakiuchi, N., Takigi, S. and Hattori, M. (1984) Studies on dental caries prevention by traditionla Chinese medicines. Ⅳ. Screening of crude drugs for anti-plaque action and effects of Artemisia capillaris spikes on adgerence of Streptociccus mutans to smooth surfaces and synthesis of glucan, Shoyakugaku Zasshi, 38(3), 263-26.3

21. Owen, R. F., Food Chemistry, Macel Dekker. Inc., New York, p. 386

22. Pedroso, M. C. and Pais, M. S.(1994) Early detection of embryogenic competence and of polarity in *Camellia japonica* L. by electron probe X-ray microanalysis, Plant Science, 96, 189-201.

23. Polverino AJ and Patterson SD. Selective activation of caspases during apoptotic induction in HL-60 cells. Effects of a tetrapeptide inhibitor. J Biol Chem. 1997;272:7013-7021.

24. Sanzgiri U. Y., Srivatsan V., Muralidhara S., Uptake, Distribution, and Elimination of Carbon Tetrachloride in Rat Tissues Following Inhalation and Ingestion Exposures., *Toxicology & Applied Pharmacology*, V.143, 120~129, 1997.

25. Soo-Chul Kang and Young-Hee Moon(1992). Isolation and Antimicrobial Activity of a Naphthoquinone from *Impatiens balsamina*. Kor. J. Pharmacogn. 23(4) : 240~247

26. Sakata, Y., Nagayoshi, S. and Arisumi, K. I.(1981) Studies on the flower colours in the Camellia, Mem. Fac. Agr. Kagos)(hima Univ., 17, 79-94.

27. Tsushida, T. and Takeo, T.(1984) Occurrence of theanine in *Camellia japonica* and *Camellia sasanqua* seedings, Agr. Biol. Chem., 48(11), 2861-2862.

28. Tim Mosmann : Rapid colorimetric assay fir cellular groath and survival : Applicational to proliferation and cytotoxity assaya. *J. of Immunological Method*. 65, 55(1983)

29. Yoshikawa, M., Harada, E., Murakami, T., Matwuda, H., Yamahara, J.

and Murakami, N. (1994J) Camellia saponins B1, B2, C1 and C2, new type inhibitors fo ethanol absorption in rats from the seeds of Camellia hapinica L., Chem. Pharm. Bull., 42(3), 742-744.

30. You-Hui Lee and Jong-Dae Park(1999). Cytotoxic Activities of Herbal Drugs Against Human Cancer Cell Lines(Ⅱ). Kor. J. Pharmacogn. 30(2) : 105~110

31. Woon-Hoon Lee, Ji-Cheon Jeong, Jong-Dae Kim, Cheorl-Ho Yoon, Woon-Gyo Sec, Hyun-Chul Shin, Dong-Mok Lee, Hai-Bum Song, Hang-Woo Lee and Kyung-Soo Nam(1998). Effect of Buthus martensi Karsch on Natural Killer Cell Activity in Mice. Kor. J. Pharmacogn. 29(4) : 293~299

32. Wee, J. H and Park, K. H.(1997) Retardation of Kimchi fermention and growth inhibition of related microorgani는 by tea catechins. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 1275-1280

33. Wyllie AH, Kerr JF and Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. Int Rev Cytol. 1980;68:251-306.

34. Yasuda S., Watanabe S., Kobayashi T., Effects of dietary unsaturated fatty acid and chronic carbon tetrachloride treatment on the accumulation of oxidation products, alpha-tocopherol and liver injury in mice., *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, V. 21 N. 10, 1050~1056, 1998.

35. Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutschg A and Wang X. Apaf-1, a human protein homologous to C. elegans CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. Cell. 1997;90:405-413.

36. 김미지, 이순재(1994), 한국산 녹차, 우롱차 및 홍차 음료의 Cadmium 제거작용에 관한 연구, 한국영양식량학회지 23(5) : 784-791

37. 노승길. 농업기술개발을 위한 2000년 시험연구사업 계획서, 전라남도농업기술원. p194~210 .2000.

38.박종철, 최명락, 동백나무의 부위별 활성검색 및 활성화합물의 분리, 고유농수산품목 세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도(1996), 205-238.

39. 박용구. 차의 기원을 찾아서. 경북대 출판부. p22~67. 1997.

40. 이세군. 다수재배학. 절강대. p35~83. 1998.

41. 일본다업협회. 신다업전서. 정강현. p65~73. 1988.

42. 이종욱, 은종방, 윤석후, 동백기름을 이용한 다양한 유지가공식품 개발에 관한 연구, 고유농수산품목세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도(1996), 239-327.

43. 안호균, 손보균, 임한진, 동백기름을 활용한 다양한 산업용 유지개발, 고유농수산품목 세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도(1996), 427-526.

44. 정선영, 이수정, 성낙주, 조종수, 강신권(1995) 감(*Diospyros kaki* Thumb)잎차의 화학 성분, 한국영양식량학회지 24(5), 720-726

45. 정강현차시. 차생산지도지침. 정강현p35~57. 1998.

46. 최옥자, 김용두, 강성구, 동백종실 및 유박의 활용방안, 고유농수산품목 세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도(1996), 329-426.

47. 최성희. 우리차 세계의차 , 도서. p41~59. 1999.

48. 차 재배와 가공기술, 전라남도 농촌진흥원 보성차시험장. 1997

49. 한옥수, 박노동, 동백기름을 이용한 모발 및 피부용 화장품 개발, 고유농수산품목 세계화 대상품목의 연구조사, 전라남도(1996), 527-577.

50. 金明培. 일본의 다도. 保林社. p26~33. 1987.
51. 崔啓遠. 우리차의 재조명. 三陽出版社. p32~58. 1983.
52. 崔凡述. 한국의다도. 보연각(寶蓮閣). p28~55. 1975.
53. 楊思澍 等 編著, 百病中醫藥茶療法, 學苑出版社, 北京, 1991.
53.·周錫 編著, 藥茶-健身益壽之寶, 中國建材工業出版社, 北京, 1993.
54.·高柳博次, 阿南豊正(1986) 荒茶製造工程에 있어서 茶葉의 理化學性의 變化, 茶葉研究報告, 第64號, p39
55.·池谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正(1990) 茶의 分析法, 日本茶業研究報, 71, 43
56.·今川弘, 龍野慶則, 淸水正夫(1973) 茶의 뉴클레오티드에 관한 研究, 日食工誌, 20, 143
57.·中島宣郎, 市川恒平, 鎌田榮一郎(1961) 5'-nucleotide의 食品化學化研究, 日本農藝化學會誌, 35, 803

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.

3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.