

나노 기술을 이용한 가루녹차개발 및 카테킨 추출 정제 개발

Process Development for Fine Green Tea Powder and High Purity Catechin by Using Nano-Technology

주관연구기관	제주다원
연구책임자	고대수
발행년월	2006-11
주관부처	산업자원부
사업관리기관	한국산업기술평가원
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201200001610
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 15:42:38

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

최 종 보 고 서

나노 기술을 이용한 가루녹차개발 및
카테킨 추출 정제 개발

Process Development for Fine Green Tea
Powder and High Purity Catechin
by Using Nano-Technology

연 구 기 관
제 주 다 원

산 업 자 원 부

지역산업기술개발사업 최종보고서 (지역산업공통기술개발)							
과 제 명	나노 기술을 이용한 가루녹차개발 및 카테킨 추출 정제 개발 Process Development for Fine Green Tea Powder and High Purity Catechin by Using Nano-Technology						
주 관 기 관	제주다원		총 괄 책 임 자		고 대 수		
총 개 발 기 간	2004 . 12 . 1 . ~ 2006. 9. 30 . (2 년)						
당 해 년 도 개 발 기 간	2005 . 10 . 1 . ~ 2006 . 9 . 30 . (1 년)						
총 사업비 (천 원)	정부 출연금	200,000	민 간 부 담 금	현금 33,500 현물 34,500	계	268,000	
당 해 연 도 사업비(천원)	정부 출연금	100,000	민 간 부 담 금	현금 20,100 현물 13,900	계	134,000	
참 여 기 업	신성산업 (주)						
위 탁 기 관	제주특별자치도 농업기술원						
주 제 어 (6 ~ 10 개)	· 나노 기술 (Nano-Technology) · 나노 분말 (Nano-Powder) · 차 카테킨 (Tea Catechine) · 카테킨 추출 정제 (Catechine Extraction and Purification) · 가루 녹차 (Green Tea Powder) · 입도 분석 (Particle Size Analysis)						

제 출 문

산 업 자 원 부 장 관 귀 하

본 보고서를 “나노 기술을 이용한 가루녹차개발 및 카테킨 추출 정제 개발 ” (개발기간 : 2004. 12. ~ 2006. 9.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006. 11. .

주관기관 : 제주다원

(대표자) 고 대 수 (인)

참여기업 : 신성산업 (주)

(대표자) 이 현 주 (인)

위탁기관 : 제주특별자치도 농업기술원

(대표자) 조 연 동 (인)

총괄책임자 : 고 대 수

연구 원 : 이 현 주

" : 조 연 동

" : 양 석 훈

" : 이 정 아

" : 이 호 상

" : 이 광 재

" : 백 남 기

" : 문 세 미

" : 양 영 택

" : 강 애 신

기술지원 : 서 인 수

지역산업진흥사업 관리지침에 따라 보고서 내용을 관련기관에 널리 배포함에 동의합니다.

요 약

녹차는 최근 건강음료 시품으로 많은 주목을 받고 있는 세계 10대 식품중에 하나이다. 세계 음료중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있는 녹차는 현재 각국에서 널리 음용되고 있다. 특히 건강에 대한 관심과 웰빙 문화의 영향으로 그 수요가 꾸준히 증가하는 추세이다. 녹차는 다당류, 비타민 B, 비타민 C, 비타민 E 등과 같은 다양한 유용성분을 포함하고 있다. 녹차를 포함한 카테킨의 효능은 항산화 및 항암 효과, 피부미용등등 많은 효능을 가지고 있다. 카테킨중에서도 EGCG (Epigallocatechingalate)가 다른 성분들 중에서 가장 효과가 뛰어난 성분으로 일반 화장품의 항산화제로 많이 쓰이고 있으며, 비타민 C보다는 20배, 비타민 E보다는 30배 강한 항산화 효과를 가지고 있다.

본 연구는 나노 기술을 이용한 가루녹차 개발 및 카테킨 추출 정제 기술개발 관련 연구를 수행하였다.

우선 차나무 품종에 따른 카테킨 함량을 조사분석한 결과는 녹차원료로 이용되는 어린순의 수확시기에 따른 카테킨류의 변화는 대체로 첫물차 원료로 생산하는 시기인 4월에 가장 많이 함유하였고, 이후 점차 낮아지다가 8월에 증가하는 경향이 었다. 어린순을 2~3번 수확하는 시기에 생산하는 두물차 및 세물차에서 카테킨 함량이 매우 낮게 나타난 것으로 보아 녹차의 품질을 기능성으로 접근 할 때, 첫물차가 가장 좋다고 판단되었다. 차나무 부위별 카테킨 함량은 잎의 함량이 매우 높았고, 어린가지의 함량이 비교적 높았다. 특히 EC (Epicatechin)은 어린가지의 함량이 잎과 비슷한 수준을 나타냈다. 품종에 따른 잎부위의 카테킨 함량은 메이료꾸가타 품종에 비해 총함량이 높은 수준이었고, 후순이 다소 낮은 함량을 나타냈다.

나노급 가루녹차를 생산하기 위해서 개량된 분쇄기는 작업시 안정성 확보를 위해여 보강 장치를 하였고, 작업을 하는데 있어서 연속 작업을 가능하게 하고, 분쇄물 투입 속도를 향상시키기 위해서 스크류 타입에서 로타리 타입을 변경을 하였다. 또한 원료를 투입속도를 향상시키기 위해서 원료투입구 밑부분에 진동장치를 설치를 하였고, 투입구 내부에 코팅을 함으로써 원료들이 투입구 내부에 달라 붙지 않게 개량을 하였다. 마지막으로 분쇄관 토출구 형상을 변경을 함으로써 이물질 발생억제 및 분쇄기 내부 절삭 현상을 제거할 수 있게 되었을 뿐만아니라, 이송관 형

상을 파이프 타입에서 환봉 타입으로 개량 함으로써 분쇄물 내 이물질 제거 기능을 향상시켰다. 두 번째는 입자 크기를 선별할 수 있는 분급기의 개발을 하였다 . 1차년도에서는 하나의 원형분급기를 가지고 분쇄를 하였으나 입도 사이즈가 나노급을 생산할 수 없었던 관계로 2차년도에서는 5단 이상의 분급기 뿐만아니라 원형에서 관형을 분급기를 개발을 하였다

시제품은 제주다원에서 '04년 9월에 수확한 녹차 잎을 본 연구에서 개발한 초미세분말 제조공정을 통하여 시제품을 생산하고 이를 기존의 동원(보성), 티젠, 태평양, 다견원(일본) 제품에 대하여 pH, 입도, 색도, 분산안전성, SEM 분석, 관능 검사에 대한 비교 시험 분석을 하였다. 5개 샘플들의 pH는 5.5~6.0 정도의 pH 분포를 가지고 있으면, 5종류의 분말녹차를 입도분석기로 분석한 결과, 티젠과 제주다원의 평균 입도 사이즈는 각각 $12\mu\text{m}$ 와 $9\mu\text{m}$ 를 나타내었고, 태평양과 동원의 샘플의 평균 입도 사이즈는 각각 $52.83\mu\text{m}$ 과 $41.37\mu\text{m}$ 를 나타내어 상대적으로 입자가 큰 분포되었다. 또한 색도가 가장 높지만 샘플간의 백색도의 값은 큰 차이를 보이지 않은 반면, 다른 샘플들에 비해 태평양과 제주다원이 샘플의 빠른 침전속도를 보였고, 다견원의 샘플은 상대적으로 가장 늦은 침전속도를 보였다. 티젠 샘플에서는 그 중간단계의 침전속도를 보였다. 1차년도의 관능검사는 제주다원의 샘플이 선택과 향기 맛 등에서 다른 샘플들에 비해 매우 낮은 기호도를 얻었던 반면, 2차년도의 관능검사는 종합적인 기호도에서는 제주다원에서의 샘플의 가장 좋은 선호도 점수를 얻었다.

본 연구에서는 2차년도에서 수행할 카테킨 추출 정제에 대한 방법을 확립하였다. 고순도의 카테킨 함량을 얻기 위한 최적의 pH 7에서가 가장 좋은 카테킨함량을 얻었다. 카테킨은 산성과 염기성에서보다 중성에서 카테킨 농도가 높으므로 중성용매에서 추출효율이 높음을 확인되었다. 또한 카테킨 추출을 위한 최적 온도 조건은 80°C 로, 이때의 카테킨 함량이 각각 15.8%를 얻었다. 시간에 따른 카테킨함량은 분석을 해본 결과 60분이후에는 거의 비슷한 수준인 3.0%~3.3%으로 나타내었다. 이실험 결과로 카테킨을 추출을 하는데 최적 시간은 60~90분으로 정하였다. 에틸아세테이트에서 얻어진 카테킨함량은 80%이상 얻을수 있었다. 결과적으로 아세테이트 분배방법을 이용함에 따라 카테킨함량이 가장 높은 결과를 얻을 수 있었다. 앞에서 얻은 최적조건상태에서 얻은 추출물을 가지고 HPLC를 분석한 결과 12.696 시간에서 EGCG가 확인 되었다. 액/액 분리를 통해서 추출하고자하는 카테

킨은 항산화 및 항암 효과, 피부미용등 효과 가장 우수한 EGCG를 얻을 수 있었다. 그러나 액/액분리를 통해서 얻은 EGCG와 그밖의 성분은 유기용매를 사용하기 때문에 식품업계뿐만 아니라 폐수처리 비용이 많이 든다는 단점을 가지고 있다. 이런 단점을 보완을 하기 위해서는 유기용액인 클로로포름과 에틸아세테이트 공정 대신 컬럼 크로마토그래피를 도입을 하여 연구를 수행하였다. 컬럼 크로마토그래피의 장점은 유기용매를 쓰지 않고도 카테킨이라는 성분을 추출이 가능하다는 것과 우리가 원하는 성분 하나를 선택을 해서 추출이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 이 결과로써 컬럼 크로마토그래피를 이용하여, HPLC를 분석한 결과 EGCG 성분은 12.466시간에서 나왔다. 앞으로 이 방법을 개선을 한다면 카테킨 뿐만 아니라 다른 원료 추출물들을 좀 더 쉽고, 우리가 원하고자 하는 고순도의 카테킨 또는 추출물을 얻을 수 있을 것이다.

- 목 차 -

제 1 장 서론	1
제 1 절 연구 배경	1
1. 녹차 / 차나무 / 고급차/ 가루 녹차	1
2. 분쇄기	6
3. 카테킨이란?	10
제 2 절 연구 목표	17
1. 최종 연구목표	17
2. 년차별 연구목표	17
제 2 장 기술개발 내용 및 방법	18
제 1 절 연구 내용	18
제 2 절 추진 체계	18
제 3 절 기관 및 역할	21
제 4 절 실험 방법	22
제 3 장 연구 결과	34
제 1 절 제주 녹차 특성 연구	34
1. 차나무 채엽 시기별 카테킨 분석	34
2. 차나무 부위별 카테킨 조성	36
3. 품종 및 부위에 따른 카테킨 함량	36
제 2 절 초미세 가루녹차의 개발	38
1. 미세 분쇄기 · 분급기 개량 및 개발	38
2. 초미세 가루녹차 생산	41

제 3 절 시제품 비교 분석	43
1. 분말 녹차의 pH 비교분석	43
2. 분말 녹차의 입도 비교분석	44
3. 분말 녹차의 색도 비교분석	44
4. 분말 녹차의 분산 안정성 비교분석	45
5. 주사전자현미경(SEM)을 이용한 분말녹차의 미세구조 분석	46
6. 분말 녹차의 관능 검사	49
7. 1,2 차년도 관능 검사 비교분석	49
 제 4 절 카테킨 추출 · 정제 조건 확립	 51
1. 카테킨 추출을 위한 최적 pH 조건 확립	52
2. 카테킨 추출을 위한 최적 온도 확립	53
3. 카테킨 추출을 위한 최적 시간 확립	55
4. 카테킨 추출을 위한 최적 분배방법 확립	56
5. 액/액분리를 이용한 카테킨 공정 개발	57
 제 5 절 카테킨 추출용 신규 공정의 개발	 60
1. 관 크로마토그래피 도입	60
2. 관 크로마토그래피 실험방법	61
3. 관 크로마토그래피 연구 결과	63
 제 4 장 결 론	 68
제 1 절 주요 결과 요약	68
제 2 절 기대 및 파급효과	70
 제 5 장 부록	 72
제 1 절 참고 문헌	72
제 2 절 관능평가 용지	80
제 3 절 연구 실적	81

제 1 장 서 론

제 1 절 연구 배경

1. 녹차 · 고급차 · 가루녹차 · 차나무

1-1. 녹차 시장의 증가

차는 커피, 와인과 더불어 세계3대 기호식품으로 전 세계인들이 즐겨 마신다. 특히 최근 차는 그 효능이 많은 연구 논문으로 알려지면서 1991년 국내 일인당 연 녹차 소비는 8.5g에서 2003년 80g 으로 불과 4년 사이에 10배나 증가하는 양상을 보이고 있다. 재배면적도 1991년 507ha, 1995년 715ha, 2000년에 1,505 ha로 큰 폭으로 늘어나고 있다. 영국이나 일본의 경우 연간 일인당 녹차 소비량이 2,330g 과 1,080g이라는 사실과 전통적으로 차를 마시는 문화가 존재하고 있는 국내의 경우 웰빙문화가 보편화되면서 녹차 시장의 잠재 수요가 현재 30배 이상으로 확대될 것으로 예측된다.

또한 녹차 재배는 다른 작목보다 수익성이 높고 1차산업인 농업뿐만 아니라 제조업 관광산업까지 연계 할 수 있어 관광도시인 제주도에 적합한 작물이라 할 수 있다. 뿐만 아니라 평균기온이 높고 강수량이 많아서 다른 지역보다 품질이 좋은 차를 생산 할 수 있어 제주도의 청정이미지와 맞물려서 산업화한다면 충분한 경쟁력을 확보할 수 있다. 최근 제주도의 경우 감귤산업의 대체작목의 하나로 타 작물에 비해 경제성이 높은 녹차를 선정하여 산업 활성화에 움직임을 보이고 있으며 그 재배 면적도 계속하여 증가하고 있다. 그러나 위와 같은 여러 가지 장밋빛 전망에도 불구하고 한편으로 녹차산업에 위협요인 또한 있는 것이 현실이다. 현재는 513.6%의 높은 녹차수입관세로 인해 국내 녹차 시장이 보호 받고 있지만 FTA 협정이 진행되고 있는 현 시점에서 가까운 시일 내에 일본 베트남, 인도네시아, 중국으로부터 값이 싼 녹차가 대량 유입될 것은 분명하다. 이러한 시장 환경을 고려하지 않고 국제 경쟁을 준비 하지 않는다면 제주도의 농업경제에 큰 손실을 초래할 것으로 예상된다.

Table 1. 녹차(생엽)과 타 작물과의 10ha당 경제성 비교

단위 :천원(%)

작목별	차	쌀 (전남)	양파	노지감귤 (제주)	참다래
조수익	3,093 (100.0)	969 (31.3)	1,521 (49.2)	1,084 (35.0)	3,392 (109.7)
소득	2,250 (100.0)	693 (30.8)	1,024 (45.5)	356 (15.8)	2,090 (92.9)

(자료) 「한국녹차산업 신패러다임과 발전방안」 ,

한국정보시장연구소, 2004

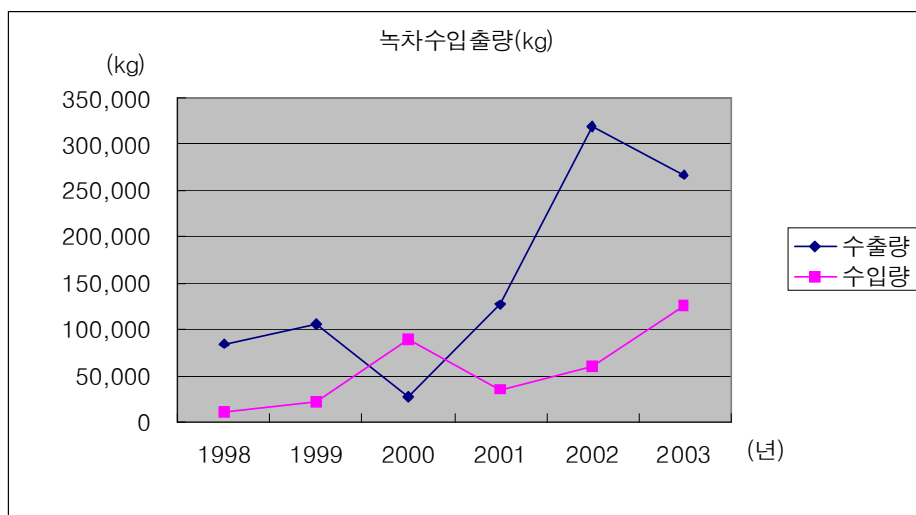


Figure 1. 녹차의 수입·수출량

Symbol: ◆: 녹차 수출량 ■: 녹차 수입량

1-2. 차나무

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntz)는 다년생 상록 관목수로 연평균 기온이 13℃이상 되어야 하며, 생육에 적합한 연평균 기온은 14~16℃라고 알려져 있다. 2005년 국내 차 재배면적은 약 3,415ha이고, 생산량은 3,524M/T에 이른다. 이 중 제주지역은 302ha, 576M/T으로 전남 보성과 경남 하동 다음으로

널리 재배되고 있다.

차잎 중에는 약 75~80%의 수분과 나머지 고형성분으로 구성되며, 고형성분은 수용성과 불용성 물질로 구분된다. 차는 주로 물에 우려서 이용하기 때문에 수용성 물질이 매우 중요하다. 차의 주요성분은 카테킨, 카페인, 아미노산, 비타민 및 무기질이 있으며, 이들 화학성분들은 여러 가지 생리활성과 약리효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다. 특히 카테킨류에 의한 항산화, 항암, 항균 및 충치 예방 등의 작용과 강심, 이뇨, 항천식 및 대사항진 등의 효과가 알려져 있다.

이러한 차의 주요 성분은 채엽시기, 차나무 품종, 토양기상 등 차나무 재배환경, 제다법 등에 따라 차이가 나는데, 일반적으로 카테킨은 늦게 채엽할 수록 함량이 많은 것으로 알려져 있다.

본 연구는 급격히 확대되고 있는 제주지역 차 재배 현실에서 잎차의 대안으로 떠오르는 다양한 차의 성분 이용·개발 추세에 따라 대표적 기능 성분인 카테킨의 성분 분석 정립과 녹차산업의 체계화를 위한 채엽 시기 및 보관 등 DB화 기초를 확립하고자 수행하였다.

1-3. 고급녹차

소비자들의 기호가 고급화됨에 따라 국내 녹차 생산량이 증가함에도 불구하고 일본 고급 가루녹차의 수입 또한 동시에 증가하는 현상이 일어나고 있다. 제한적인 녹차재배 면적을 보유할 수밖에 없어 가격 경쟁에서 하위권에 속하는 국내 녹차산업은 녹차 제품의 고급화가 선택이 아닌 필수인 상황이다.

일반적으로 차는 제조 시기나 발효 정도, 차잎 형태, 재배 방법, 품종 생산지역 등에 따라 여러가지로 분류된다.

우전차는 곡우 이전에 수확하여 제조한 차로서 그해의 제일 처음 수확하는 차로, 차잎이 가장 연하고 맛이 제일 부드럽고 감칠맛과 향이 아주 뛰어난 차이다. 차잎이 연하므로 늦서리가 있을 경우 피해를 받기 쉬워 수확하지 못할 때도 있다.

곡우차는 곡우날(4월 20일) 차를 수확하여 제조하며, 국내에서 녹차는 곡우전과 곡우 후 수확하는 차의 품질을 다르게 취급하며 등급화 하고 있다. 곡우 이전의 차를 최고급의 차로 여기고 곡우 이후의 차는 품질이 좀 낮은 차로 취급한다

(Table 2).

Table 2. 녹차 채배 지역과 수확시기의 따른 가격차

구분	보성			화개			제주		
가격	우전	곡우	세작	우전	곡우	세작	우전	곡우	세작
	70,000	40,000	18,000	80,000	40,000	20,000	90,000	40,000	20,000

첫물차는 차잎을 4월 20일 경부터 5월 중순까지 채엽하여 제다한 차를 말하며 차의 맛이 부드럽고 감칠맛과 향이 뛰어난 고급 제품의 차이다 일반적으로 첫물차는 손으로 수확하는 경우가 많아 노력이 많이 들고 생산량은 적은 편이다.

두물차는 차잎의 수확시기를 6월 중순에서 하순 사이에 수확하는 차를 두물차라고 하며 잎의 약간 거칠고 차의 맛이 강하고 감칠맛이 떨어진다. 수량이 많은 관계로 제다 과정도 기계로 하는 것이 보통이다.

세물차는 차잎의 수확시기가 8월 초순에서 중순 사이에 따는 차로 세물차라고 하며 이때는 여름의 무더운 관계로 차의 떫은맛이 강하고 아린맛이 약간 있으며 차잎의 말림 정도가 거칠어 전반적이 품질이 떨어진 제품이 많다.

네물차는 차잎의 수확시기가 9월 하순에서 10월 초순까지 수확하는차를 네물차로 분류한다. 네물차는 차잎 중 섬유질이 많아 형상이 거칠고 아미노산 함량이 적어 번차용으로 사용한다. 네물차를 수확할 때는 다음해 차 수확을 생각하며 그해의 마지막 관리가 된다 (Figure 2).

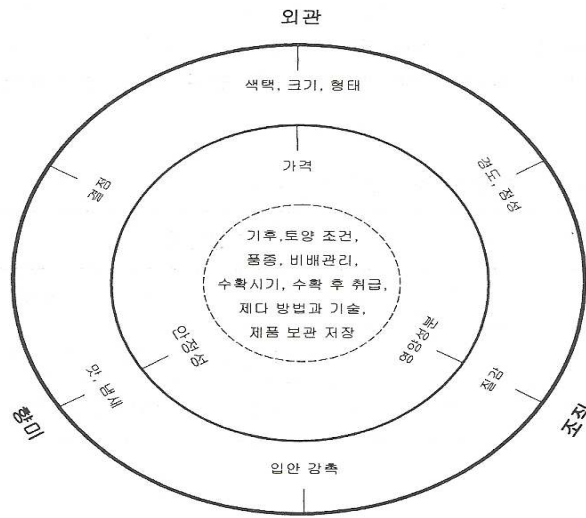


Figure 2. 녹차의 품질

차의 품질은 색택, 형태, 크기, 맛과 향기, 마실때 입안에서의 촉감과 작용 및 영양가치와 안전성에의해 결정된다. 그러나 품질요인에 영향을 주는 것이 차의 화학성분과 향기와 질감이다. 이것들은 차나무를 재배하는 기후와 토용조건 품종과 비료, 차잎의 수확시기 및 수확후의 취급 제다방법과 기술, 제품의 보관과 저장상태에 따라 달라진다. 소비자의 기호에 맞는 제품을 생산하기 위하여 나라마다 서로 다른 차 품질평가 기준을 사용하고 있어 고급녹차에 대한 정립이 어려우나 국내 소비자들은 맛과 향을 매우 중시하는 경향이 있으며 차의 수확시기가 늦어질수록 탄닌의 쓴맛이 우려 나와 수확시기가 빠른 차일수록 가격이 높고 맛과 향이 순하여 고급녹차로 분류되어지고 있다.

1-4. 가루녹차

현재 일반화되고 있는 우려먹는 녹차의 경우 그 성분이 30%만이 체내에 흡수 되고 나머지 섬유질 및 비수용성 유효 성분은 버려지고 있다 (Figure 3). 최근 천연물의 유효성분에 대한 관심이 높아지면서 잎 전체를 분말화 하여 잎 전체의 유효 성분을 섭취하면서 녹차 본연의 맛과 향을 음미 할 수 있는 가루녹차 개발이 녹차의 고급화 방법으로 꼽히고 있다.

게다가 녹차를 미분화 하여 분말로 만들 경우 마시는 녹차가 뿐만 아니라 화장품 섬유에 이르기까지 다양하게 접목할 수 있어 녹차의 활용 범위를 높일 수 있

다는 점에서 그 가치가 크다. 가루녹차의 고급화는 분쇄하는 과정에서 맛과 향, 색이 변하지 않으면서 미분 할 수 있는 분쇄 기술이 핵심이며, 본 연구에서는 초미세 가루녹차에 적합한 분쇄기 및 분급기 개발에 주력하였다.

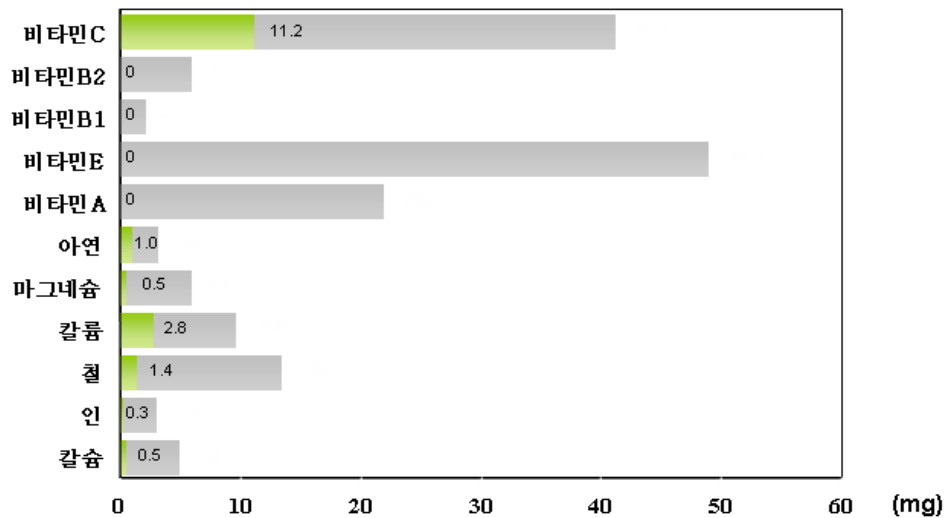


Figure 3. '마시는 차'와 '먹는 차'의 영양 차이
 ■: 마시는 차(잎차) ■: 먹는 경우(가루녹차)

2. 분쇄기

일반적으로 분쇄기는 분쇄 목적과 방식에 따라 다양한 형태로 나누어지며, 생성되는 입자의 크기에 따라 조분쇄, 중간분쇄, 미분쇄, 초미분쇄로 나뉘어진다.

조분쇄의 경우 입자의 크기가 수 cm 수준이고, 미분쇄를 위한 전 처리에서 많이 쓰인다. 중간분쇄는 수 mm이고, 미 분쇄의 경우 100-10 μm 수준이며, μm 이하의 분쇄는 초미분쇄 라고 한다.

조분쇄기에 해당하는 분쇄기에는 Jaw Crusher 이 있으며 20-30도의 각도로 벌어져 있는 V자 모양의 Jaw에 재료를 넣고 압축하여 분쇄 한다.

중간분쇄기에는 Crushing roll과 Hammer mill이 있으며 Crushing roll의 경우 서로 반대방향으로 회전하는 roll 사이에 원판이 압축되어 분쇄되는 장치로 roll

사이의 간격을 조절하여 1mm 이하의 크기로 분쇄 할 수도 있다. Hammer mill은 원통형의 틀 안에서 회전하는 Hammer가 달린 고속회전자에 의해 원료가 충격력에 의해 분쇄되는 장치로 하부에 screen이 설치되어 있어 분쇄된 것만 빠져 나가는 분쇄기이다. 경질재료는 부적당하지만 석탄, 석회석, 석면 등의 분쇄에 적합하지만 스크린, 회전자등의 마모에 대한 유지비가 비싸게 드는 단점이 있다.

현재 통용되는 초미분쇄기에는 Ball mill과 에어를 이용한 Jet Mill이 있다. Ball mill의 경우 금속, 실리카 광물, 자기, 알루미늄, 고무 등으로 만든 볼 (1-5 inch)을 원형의 통 안에 넣어서 회전시킴으로 입자가 볼이 회전정점에서 낙하될 때의 충격력에 의해 시료를 미 분쇄 하는 회전물이다. Jet mill은 고압의 압축공기 또는 가열 수증기를 지름이 수 mm인 nozzle로 통과시킬 때 얻어지는 제트기류로 입자를 가속하여 입자끼리의 상호 충돌에 의해 시료를 초미분쇄 하는 분쇄 장치이다.

유체 에너지 밀의 일종인 Jet mill의 경우는, 일반적인 다른 분쇄기에 비해 성분 변화는 비교적 적지만 공급되는 재료의 입자가 250 μ m이하로 제한되므로 원료가 이보다 클 경우는 별도의 분쇄 장비를 이용하여 250 μ m이하로 파쇄 한 다음 사용하여야 하기 때문에 분쇄 시간이 길어지고, 이는 분쇄원가 상승으로 이어진다.

위와 같이 기존의 분쇄기의 경우 여러 가지 문제가 지적되고 있다 제주산 고급 가루녹차의 맛과 향과 색을 살림과 동시에 대량 생산하기위해서는 가루녹차에 적합한 분쇄기 및 분급기를 개발해야한다. 앞에서 설명된 분쇄기 장·단점은 Table 3에서 보여주고 있다.

Mana mill은 기존 분쇄기의 단점을 보완하여 설계하였다. 원료를 연속 투입하게 제작하여 분쇄시간을 단축 하므로 분쇄 가동 후 1-2분 이후부터 생산이 가능하고 -40℃까지 조절함으로서 분말이 폭발 및 고열로 인한 형질의 변화를 방지 할 수 있게 설계 하였다. 가공 소재의 입도를 수 mm로 하여 타 방식에 비해 공정 축소로 인한 원가 절감이 가능하다. 뿐만 아니라 투입부터 완전 밀폐 분쇄 방식이라 에너지 소모를 줄일 수 있다. 밀폐식 구조는 분진 등이 거의 발생하지 않게 하여 환경적으로 긍정적인 효과를 볼 수 가 있고 식품, 금속, 플라스틱, 광물에서 분유, 중성 세제 등 분무 건조품도 미 분쇄가 가능하다. 전체가 찰 탁식으로 이루어져 있어 신속하게 수리가 가능하고 유지보수 비용을 절감할 수 있다.

분쇄 원리로는 호퍼내에 채워진 피분쇄물이 준비되면 제 1이송 파이프내로 공기 유입구와 냉매 공급관을 통해 각각 고압 공기와 냉매를 공급한다. 이러한 고압

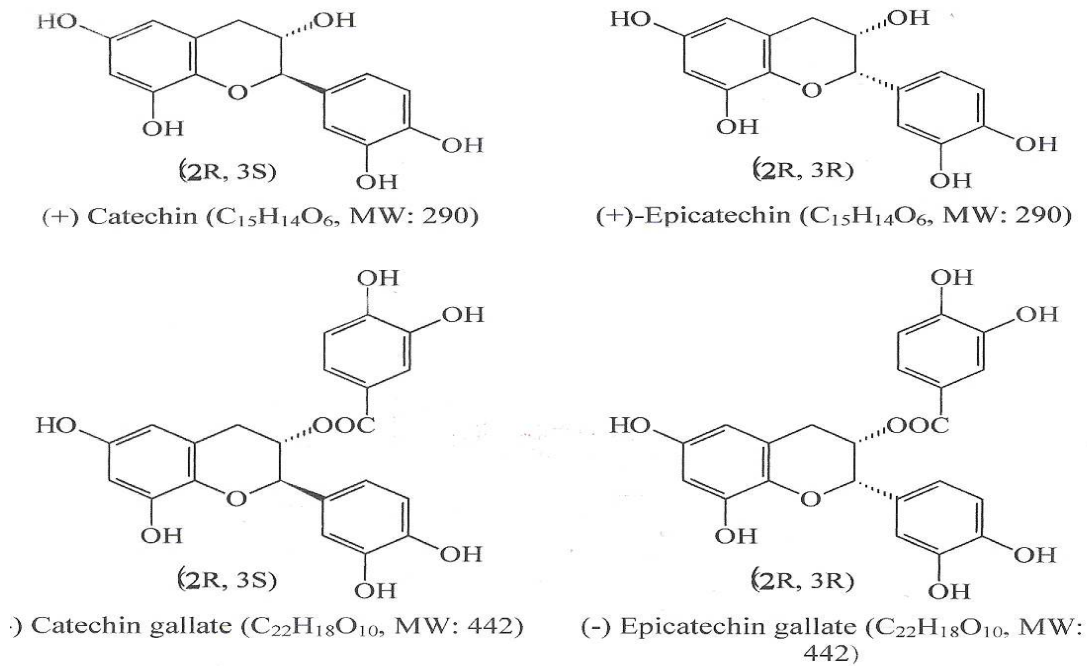
공기와 냉매의 공급과 동시에 모터를 구동시켜 이송스크류에 의하여 호퍼로 부터 유출되는 피분쇄물을 피분쇄물 공급관으로부터 유입공을 거쳐 제1이송파이프내로 강제 공급시킨다. 공급되는 피분쇄물은 제1이송파이프 내를 고속으로 통과하는 고압공기 및 냉매와 혼입 후 노즐을 향해 빠르게 이송된다. 이때 고압 공기가 통과되는 제1 이송파이프와 이에 연통되어 있는 호퍼 사이에 압력차가 발생하여 제1이송파이프내로의 피분쇄물 이송이 원활 하게 이루어지지 않을 우려가 있으나 이는 호퍼와 피분쇄물 공급관 사이를 연결하여 설치되는 내압유지용 파이프가 제1이송파이프의 내부 공기압력과 호퍼의 내부압력을 동일하게 유지시키는 작용을 함으로서 해결할 수 있다. 냉매에 의해 소정의 온도로 냉각된 상태에서 고압공기에 의해 제1이송파이프내를 빠르게 통과하는 피분쇄물은 노즐을 통과하면서 초고압으로 분사되어 분쇄헤드에 충돌하며 초고압의 분사압에 의해 미분쇄가 이루어진다. Mana Mill은 분쇄기에 관한 것으로서 보다 상세하게는 고압의 공기에 피 가공소재를 혼합 이송하여 초고압 분사하여 굴절시킨 이동 경로에 타격시켜 피 가공 소재를 미립화하는 건식 분쇄기이다. 이 분쇄기는 PCT 특허 출원(10-2003-0035884)을 하였다.

Table 3.분쇄기의 장·단점 비교

평가항목	Mana Mill	Jet Mill	Turbo Mill	Ball Mill
분쇄중 온도 상승	-40℃이하	0℃이하	40℃이상	습식
영양소 파괴	없음	없음	있음	있음
색상 및 향의 변화	없음	없음	있음	있음
Sticking/Caking	거의 없음	약간 있음	있음	있음
입도 조절 능력	입도분급장치	모터속도 변환	모터속도 변환	입도 망 교환
분쇄후의 청소	간단	복잡	복잡	복잡
년간 유지 보수비	1	1	2	1.5
섬유질, 지방 함유율	가능	가능	약간 어려움	불가능
진공건조/ 동결건조제품	가능	가능	불가능	불가능
포도당, 당류	가능	가능	불가능	불가능
생산성	높다	낮다	높다	낮다
분쇄물의 장입,배출	간단	간단	간단	복잡
제품수율	높다	높다	높다	낮다
중금속 발생	허용기준 이내	허용기준 이내	허용기준 이내	허용기준 이상
장점	분쇄시간이 빠름 초나노분쇄가능 열발생 없음	분쇄시간이 빠름 초미분쇄 가능 열발생량 적음	분쇄시간이 빠름 단시간내 초미분 진공/불활성가능	경질재료 미분쇄 적합 시험용으로 적합
단점	초기 설치비가 상대적으로 높음 시스템 단위구성	청소복잡 분쇄량이적음 전처리과정 필요	내부 열 발생, 입도분포 넓음 청소 복잡 동력사용 많음	습식분쇄로 제한적 사용 내부 오염가능 장시간 분쇄

3. 카테킨이란?

카테킨(catechin)이란 플라보노이드(flavonoid)에 속하며 녹차가 함유하고 있는 가장 대표적인 기능성분이다. 녹차의 쓴맛은 카테킨에서 비롯되며, 차 카테킨의 종류에는 EGCG (Epigallocatechingalate), EC (Epicatechin), ECG (Epicatechingalate) 및 EGC (Epigallocatechin) 등이 있다 (Figure 4).



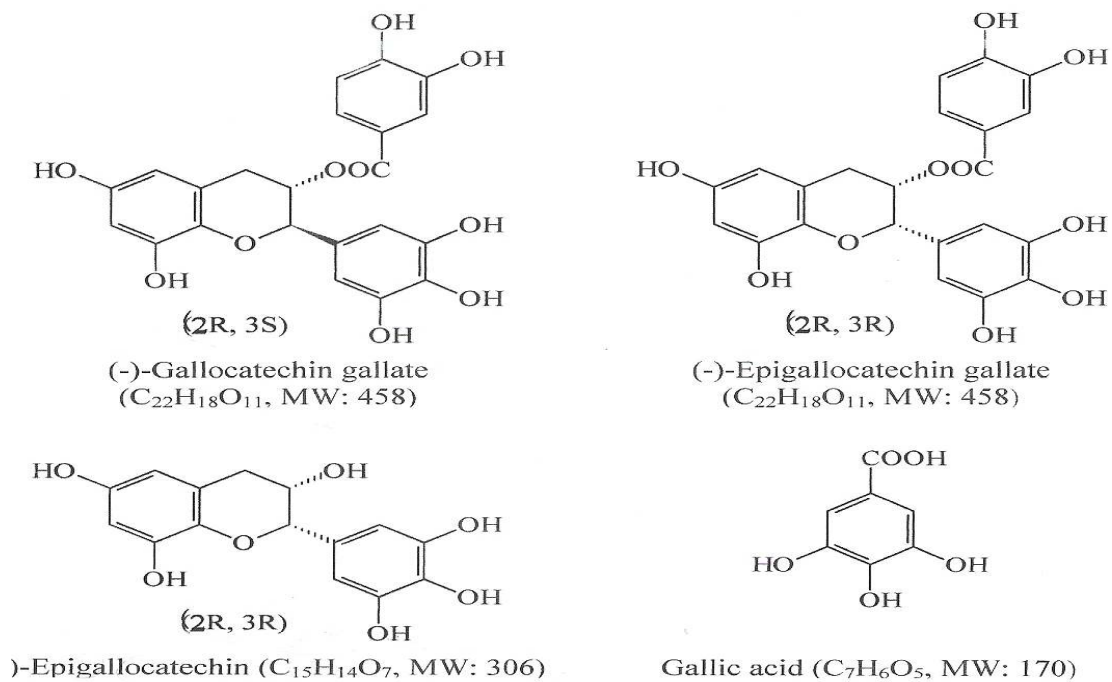


Figure 4. 카테킨의 구조

카테킨류는 건조 차잎중에 약 10~18% 함유되어 있으며, 1980년 초기까지 10여종이 분리되어, 최근까지 약 70종이 분리되어 그 구조가 밝혀져 있다. 화학구조상 플라보노이드(flavonoid)류에 속하며 차의 쓴맛 뚝은 맛의 70~75%에 기여하는 성분으로, EC, ECG, ECG, 그리고 EGCG가 대표적이다. 그러므로 많은 과학자들은 카테킨의 기능성에 주목하였고 그 효능은 매우 커서 현재 가장 활발히 연구되고 있는 분야이다. 카테킨 효능에 관하여 요약하면 다음과 같다 (Table 5).

Table 5. 카테킨류의 효능

카테킨의 효능	
(1) 항종양, 발암억제 작용 (2) 돌연변이 억제 작용 (3) 항산화작용 (4) 노화억제 및 활성산소 제거 (5) 혈중 콜레스테롤 저하 (6) 고혈압과 혈당 강하 작용	(7) 항바이러스 작용 및 해독 작용 (8) 치석합성 효소 저해 작용 (9) 항아レルギー 및 면역계 활성화 작용 (10) 구취 및 악취 제거 (11) 중금속 제거 효과 (12) 체지방 축적 억제 작용

3-1. 항종양, 발암억제 작용

WHO의 발표에 의하면 암 사망 원인의 35%가 음식물에 의한 것이라고 하고, 그 원인의 60~90%가 니트로소 화합물에 의한다고 한다. 녹차 추출물은 질산염이 환원되어 아질산염이 되는 것을 방지하고 특히, 카테킨류의 용액을 이용하면 그 작용이 현저하다. 담배의 발암물질을 쥐에게 투여하면 폐암이 발생하는데 녹차 카테킨을 마시게 되면 암 발생율이 반감된다. Hare는 쥐에 카테킨을 넣은 먹이를 공급하고 종양세포인 Sarcoma 180을 피하 이식한 결과 대조군에 비해 카테킨군의 쥐가 현저한 종양 억제 효과를 나타내는 것을 밝혔다.

3-2. 돌연변이 억제 작용

녹차 추출물이나 차 카테킨류가 항돌연변이 작용을 가진다는 최초의 연구는 Okuda로서 차의 카테킨 EGCG가 탄 생선이나 탄 육류의 돌연변이 물질인 아민과 벤조피렌의 변이원선을 현저히 낮춘다고 했다. 그 밖의 연구로는 EGCG가 고초균과 자연 돌연변이 빈도를 강하게 억제하는 것과 차 카테킨류가 자외선(UV)조사에 의한 대장균의 DNA 손상의 복원 능력을 가지는 것이 있다.

3-3. 항산화작용

차 카테킨류의 가장 근본적인 생리작용은 강한 환원성과 단백질의 결합성에 있고, 그 효과는 카테킨의 구조가 분자중에 페놀성 OH기를 많이 가지고 있기 때문이다.

3-4. 식용유지의 산화방지

차잎의 항산화 작용에 관한 연구로는 대두유 유래 카테킨류를 첨가한 결과 강한 항산화성을 나타내는 것이 밝혀졌고, 또 그것은 카페인과 상승 작용을 한다는 것이 알려졌다. 비타민 E로는 효과가 없었던 대두유나 채종유 등의 식물성 유지와 어유에 대해 강력한 산화 방지 효과를 나타내었다.

3-5. 체내지질 및 과산화지질의 억제

카테킨류의 항산화성의 연구에서 EGCG는 간장종의 지질이 산화를 억제시키는 것이 밝혀졌다. 또한, 카테킨 성분은 비타민 E, C와 구연산 및 주석산 등이 공

존할 때 그 상승 효과가 크다고 한다.

3-6. 천연색도의 퇴색 방지

카로틴, 파프리카 등 퇴색이 빠른 천연 색소에 대해 퇴색 방지 효과가 있어 음료나 과자 등의 품질 향상에 효과가 기대 된다.

3-7. 노화 억제 효과 및 활성산소 제거

스트레스를 받으면 아드레날린과 노르아드레날린이 분비되면서 근육이 긴장되고, 활성산소가 다량 발생한다. 내인적 혹은 외인적 요인에 의해 생성되는 유리기(Free radical) 및 활성산소는 지방중의 불포화 지방산을 산화시켜 과산화지질을 형성, 조직에 축적 혹은 손상시켜 노화나 성인병 즉 동맥경화, 암, 뇌졸중, 심근경색, 위궤양, 알레르기 등을 유발시킨다.

3-8. 혈중 콜레스테롤 저하 효과

고콜레스테롤 혈증은 동맥경화, 심근경색, 뇌출혈 등의 순환기계질병의 위험인자이므로 이들 질병의 예방에는 혈중 콜레스테롤치를 정상으로 유지할 필요가 있다. Muramatsu는 차 카테킨이나 EGCG를 0.5~2.0% 첨가한 콜레스테롤(나쁜 영향을 미치는 콜레스테롤)의 농도 상승이 현저히 억제된다고 하였다. 특히 차에 가장 많이 있는 카테킨류의 EGCG는 콜레스테롤의 장관 흡수를 강하게 억제하였다.

3-9. 고혈압과 혈당 강하 작용

고혈압은 안기오텐션과 같은 물질에 의해 조절된다. 즉, 불활성 안기오텐션 I은 안기오텐션 변환효소(ACE)에 의하여 혈압의 상승 작용이 강한 안기오텐션 II로 변환된다. 따라서 ACE의 작용을 저해하는 화합물의 혈압 강하작용을 가진다. Hara는 ECG, EGCG가 ACE에 대한 현저한 저해 효과를 나타냄을 밝혔다.

3-10. 항균 및 해독 작용

최근 카테킨류에 강한 항균, 항바이러스 활성이 있는 것이 증명되었다. Hara는 식중독 세균인 황색포도상구균, 장염비브리오균 등에 대해 차 카테킨류와 홍차의 테아플라빈(theaflavin)류는 강한 항균 활성을 가진다는 것을 밝혔다. 또한 차

차테킨은 콜레라균, 이질균등의 병원성 세균에 대해 살균 효과가 있고 해독 작용이 있다는 것을 확인했다. 차 카테킨 용액을 인플렌자 바이러스 A, B에 가하면 매우 묽은 농도에서도 바이러스의 증식을 완전히 억제시켰다.

3-11. 치석 형성의 억제 작용

충치는 충치균(*Streptococcus mutans*)의 치석 합성 효소에 의해 치석형성을 유발시키지만, 차 카테킨류는 충치균에 대해 살균 효과가 있을 뿐 아니라 치석 합성효소를 저해하는 일에 의해 치석의 형성을 억제한다.

3-12. 항알레르기 및 면역계 활성화 작용

알레르기 발생 원인 중 하나는 이물이 조직 중에 존재하는 마스트세포(mast cell)의 표면에 부착하고 있는 면역 글로블린 IgE항체와 특이적으로 결합, 활성화된 마스트 세포로부터 알레르기 증상을 유발하는 히스타민 등이 방출되어 염증이 일어나는 과정을 거친다. Maeda는 녹차 추출물과 차 카테킨류에 마스터 포의 히스타민 유리 억제 활성이 있는 것을 보고했는데 특히 EGCG가 강한 활성을 나타내었다고 한다.

3-13. 구취 및 냄새 제거

암모니아, 트리메치아민(비린 냄새), 유화수소, 메칠멜캅탄은 4대 악취로 불리어진다. 차 카테킨은 플라보노이드의 일종으로 강한 소취 효과가 있어 악취성분을 효과적으로 제거한다.

3-14. 중금속 제거 효과

녹차의 경우 중금속 흡착 효과가 강한 것으로 나타났다.

일본의 기무라교수는 차잎 0.5g을 사용 카드뮴을 비롯한 9가지 중금속 이온을 함유한 시료 용액에 첨가하여 30분간 혼합시킨 후 여액중의 중금속을 측정한 결과 카드뮴은 77%, 납은 80%, 구리는 61% 흡착율을 나타내었다.

3-15. 체지방 축적억제 작용 및 다이어트 효과

습식에 의한 체지방의 흡수를 억제하고 체지방의 축적을 억제하는 것을 동물

실험에서 확인되었다. 녹차는 열량을 내는 성분이 거의 없으므로 저칼로리 음료이며 녹차를 마시고 운동을 하면 지방이 소모되므로 지방축적 억제 효과가 있다.

최근 천연 화장품 산업의 성장이나, 생활용품, 천연 제재화 등 천연 기능성 물질에 대한 관심이 증가하고 있어 녹차 카테킨의 부가가치는 매우 높다고 할 수 있다. 그러나 현재 국내 녹차 카테킨 추출물의 대부분은 일본에서 수입하고 있어, 관련 기술의 국산화가 기술개발이 필요한 실정이다 (Figure 5).

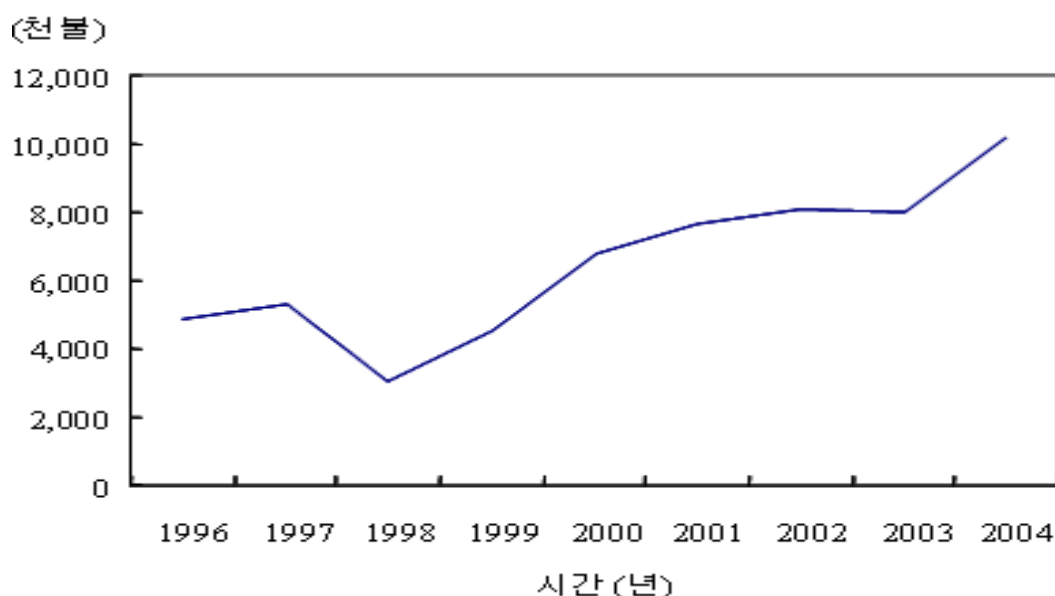


Figure 5. 녹차 추출물 수입량 (출처 : 관세청 자료, <http://www.customs.go.kr>)

또한 녹차의 고급화 방법 중에 하나로 녹차 유효성분의 핵심인 카테킨을 추출 정제 하여 섭취하는 방법이 있다. 실제로 일본의 경우 녹차 자체가 아닌 녹차의 핵심 물질인 카테킨을 식품에 첨가하여 판매하거나 카테킨 자체를 정제 알 형태로 하여 기능성 보조식품으로 판매하고 있으며 국내에서도 녹차 카테킨을 이용한 건강 보조 식품이 하나 둘씩 생겨나고 있다 (Table 4).

Table 4. 녹차 카테킨을 이용한 건강 보조식품

제품명	제조사	성분	비고
그린 알파	태평양	베타카로틴, 녹차카로틴	엽록소 함유식품
티그린 97	파마넥스	녹차 카테킨, 클로렐라 분말, 비타민	칼슘함유 식품
샤크그래파인	네이처스선샤인	녹차 추출물, 포도시, 소나무껍질	혈행개선 효과
여성초	종근당	홍차 추출물, 복숭아 분말	영양 보충용
트롬보큐	폴무원	녹차, 홍차, 포도씨, 은행잎	구취제거, 충치예방
한방채감원	신동방메딕스	녹차 ,인삼, 여성초	충치예방
마라톤	생그린	녹차 추출물, 글루코사민, 비타민류	
알로에 녹차캔 디	알로에 마임	녹차 카테킨, 알로에, 비타민 C	
Bioratio	동 food techno	녹차 카테킨, 여췌	
산페논	태양화학	녹차 카테킨, 30, 60, 75% 함유	

(태평양 식의약연구소 건강기능식품 연구팀)

제 2 절 연구 목표

1. 최종목표

제주 녹차의 특성 연구로 차나무의 채엽 시기별, 부위별, 품종및 부위에 따른 카테킨 함량을 조사하고 녹차의 품질 변화에 대한 DB를 작성을 하고, 녹차의 추출 공정개발을 카테킨 성분의 고효율 추출을 하고, 분석법을 개발 및 신규 공정 시스템을 개발을 함으로써 카테킨을 추출을 한다. 가루녹차의 초미세분말을 위하여 식품의 나노분쇄기술을 개발을 함으로써 녹차 분말 평균입자를 초미세로 생산을 하여 품질 평가를 통해서 가루녹차 시제품을 생산을 한다. 카테킨 추출법에 대해서 국내 특허 출원을 최종목표로 이 연구를 수행을 하고자 한다.

2. 년차별 연구목표

연구 범위	연구 수행 방법	구체적인 내용
제주녹차의 특성 연구	제주 녹차의 품질, 수확시기별 특징 조사	녹차 원료 선정 (품종별, 기후별, 부유별)
		녹차의 품질변화에 대한 DB작성
가루녹차 제품의 개발	기존 가루녹차의 생산	가루녹차품질 평가
		가루녹차 시제품 생산
녹차 추출공정 개발	고순도 카테킨 성분 추출	카테킨 추출의 위한 최적 조건 확립
		카테킨 분석법 개발 (HPLC 분석)
		액/액 분리를 이용하여 카테킨 추출
		컬럼 크로마토그래피을 이용하여 카테킨 추출
식품 나노분쇄 기술 개발	녹차 성분의 나노 분말화 연구	분쇄기 개량
		분급기 개발
특허 출원	녹차 나노 분말화 및 추출법 관련 특허 출원	“관컬럼 크로마토그래피을 이용한 카테킨추출 방법 개발” 특허 출원 예정

제 2 장 기술개발 내용 및 방법

제 1 절 연구 내용

목표	내용
1 차년도 (2004. 12. 1~ 2005. 9. 30)	• 기존보다 개선된 가루 녹차 제조 • 나노화 분쇄기의 가루녹차 제조 최적화 방안 도출 • 녹차 분석법 개발 (위탁) • 녹차재료 DB 구축 (위탁) - 제주 녹차의 품질, 수확시기별 특징 조사
2 차년도 (2005. 10. 1~ 2006. 9. 30)	• 녹차의 유효 활성성분(카테킨) 추출기술 확보 • 녹차의 유효 활성성분(카테킨) 정제기술 확보 • 고급 초미세 가루녹차 제조를 위한 나노분쇄기 개량 • 녹차의 카테킨 고도 분석법 개발 (위탁) • 녹차 재료 DB 구축 계속 및 보완 (위탁)

제 2 절 추진 체계

본 연구에서는 고급 가루녹차에 적합한 녹차 원료를 선정하기 위하여, 녹차 잎, 순, 어린가지를 월별로 채집·보관하여, 향후 녹차 부위, 채집시기별 DB화를 위한 기초 자료로 활용한다. 동시에 가루녹차 제조에 적합하도록 분쇄기 및 분급기를 개량하고, 이를 활용하여 가루녹차 제조공정을 확립한다. 또한 본 연구에서 제작된 분쇄기를 사용하여 제조된 미세 녹차분말 시제품과 기존 시판 제품과의 비교실험 및 판넬 테스트를 진행하여 객관적으로 품질을 평가한다.

본 연구에서 개발된 미세 가루녹차의 입도 감소로 단위부피당 표면적 증가가 가능하게 되어 카테킨 추출 효율이 향상될 수 있을 것으로 예측되는 바, 2차년도 연구의 기초실험으로서 카테킨 추출·정제 방법에 관한 예비실험을 수행하고, HPLC, Spectrophotometer 등을 활용한 카테킨류의 정량분석 기법을 확립한다.

본 연구의 기술개발목표를 달성하기 위한 1차년도와 2차년도 기술개발 체계는 다음과 같다.

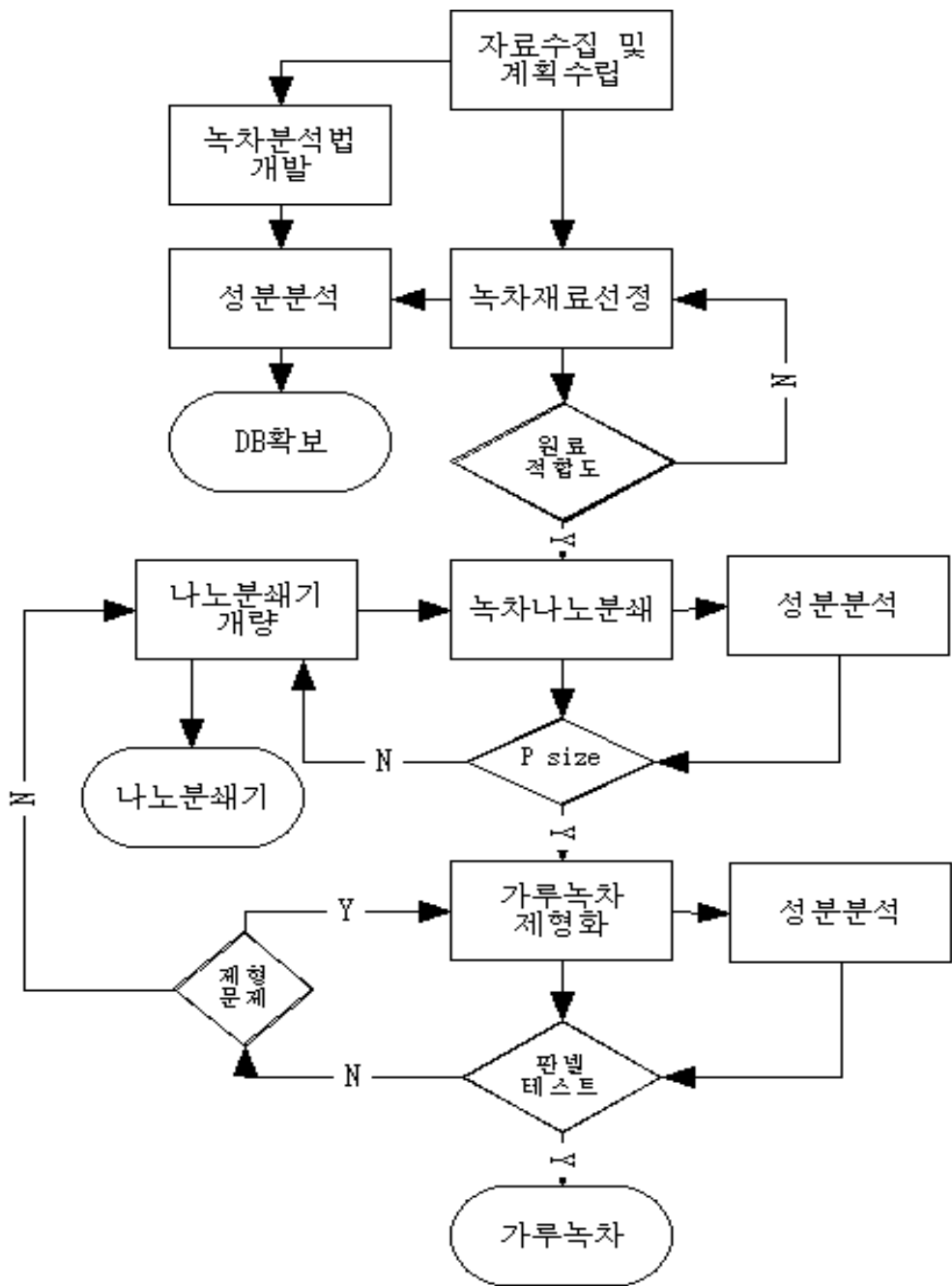


Figure 6. 1차년도 기술개발 체계

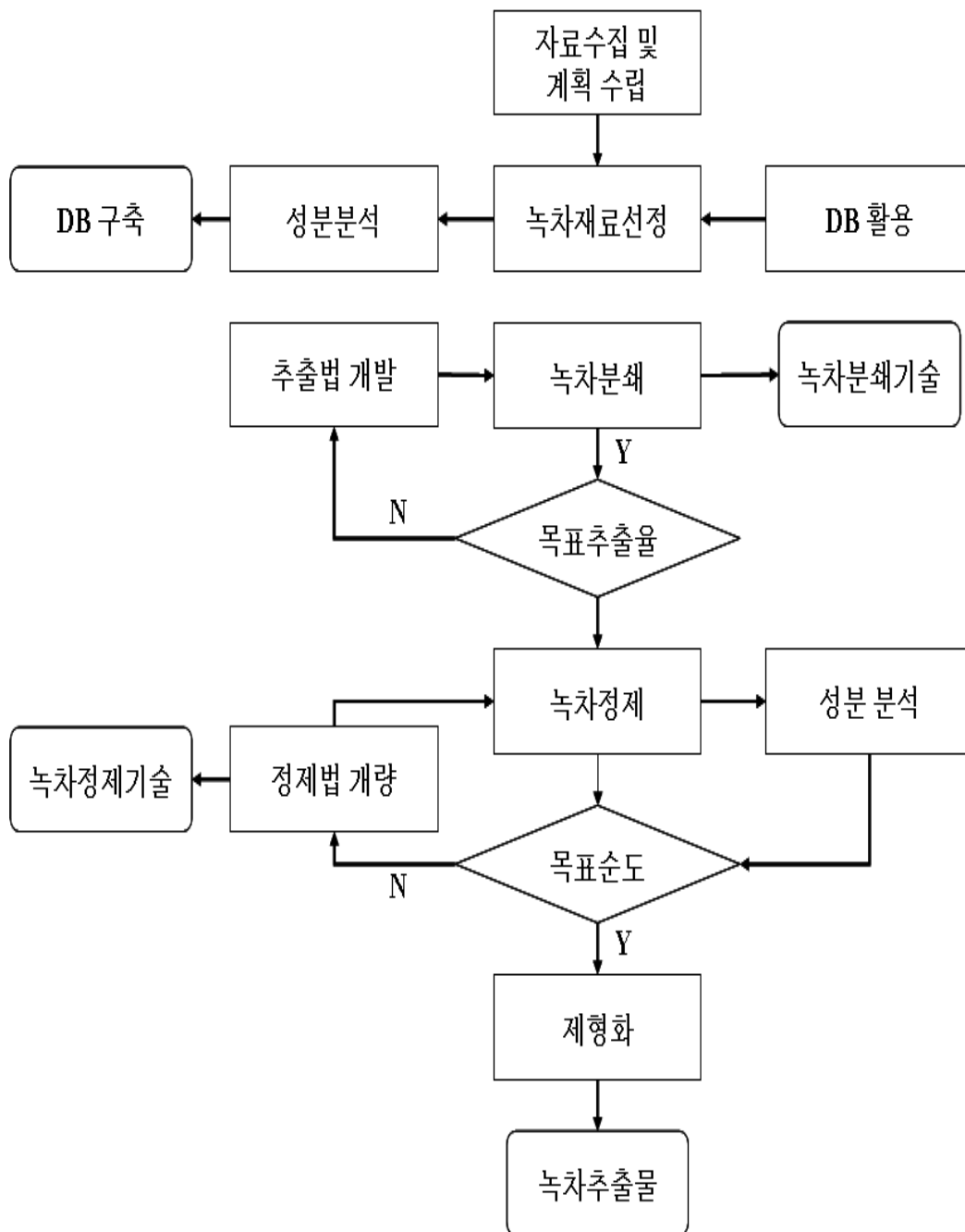
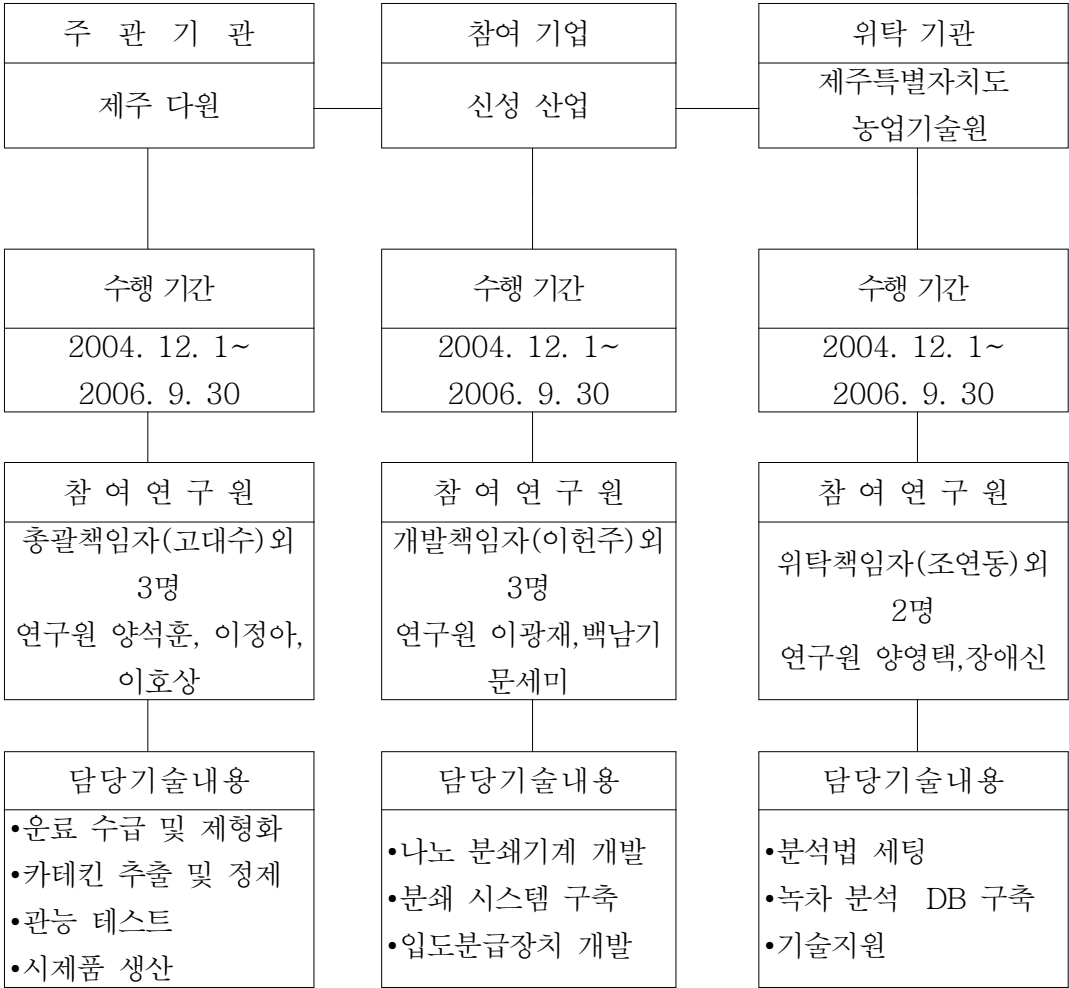


Figure 7. 2차년도 기술개발 체계

제 3 절 기 관 및 역 할



※ 기술지원: 제주하이테크산업진흥원 (서인수 연구원)

Figure 8. 참여 연구 기관의 역할

제 4 절 실험 방법

1 시기별 녹차 원료의 채집 및 분석기법 확립

1.1 녹차 DB화를 위한 시료 수집

일반 식물과 같이 녹차 또한 시기나 날씨에 따라 함량 성분이 변화하게 된다. 기존 보고에 따르면 카테킨의 경우 기온이 높은 7, 8, 9월에 많다는 것이 일반적이다. 가루녹차의 결정적인 변수는 맛에 기인하는데 카테킨 함량과는 반대로 기온이 낮고 어린 순에서 부드러운 맛을 내어 상품적 가치가 높다. 따라서 가루녹차와 카테킨에 적합한 녹차로 분류 할 필요가 있다.

차나무(*Camellia sinensis* O. Kuntz) 시료는 2005~2006년에 수확시기, 품종 및 부위에 따른 카테킨류 성분의 변화 양상을 조사하기 위하여 각각 채취 장소 및 시기를 달리하여 채집하였다 (Figure 9,10).

수확시기에 따른 시료는 제주지역에서 가장 많이 재배되는 야부기다 품종을 선정하였고, 서귀포시 색달동에서 7년간 조성되어진 제주다원에서 2005년 4월 ~8월에 녹차 원료로 주로 이용되는 어린순을 일정 시기별로 5회에 걸쳐 채엽하여 사용하였다. 또한, 가루 녹차의 가공원료 및 천연 녹차 카테킨 소재를 탐색하기 위한 차나무의 부위별 시료는 2006년 6월에 제주시 아라동 소재의 4년생 야부기다 품종을 선정하여 신엽(young leaf), 구엽(oid leaf), 어린가지(branch), 줄기(stem), 뿌리(root)로 각각 분류한 것을 사용하였다. 그리고 차나무의 품종은 제주지역 농가에 대표적으로 보급되어 있는 야부기다(중생종)와 후순(만생종), 앞으로 품종 안배 차원에서 보급이 유망시 되는 것 중에서 중조생종인 메이료꾸와 만생종인 오꾸미도리를 선정하였다. 품종별 시료는 2006년 6월에 제주특별자치도 농업기술원 차나무 품종전시포(제주시 애월읍 봉성 소재)에서 4년간 조성되어진 각각의 품종을 잎, 녹화가지(green branch), 줄기, 뿌리로 분류하여 채취하여, 녹차의 부위별, 시기별 성분특성을 DB화하기 위한 시료의 수집 및 보관에 주력하였다.



Figure 9. 제주다원 전경과 녹차 채취 장면



Figure 10. 농업기술원 차나무 품종전시포 전경 및 시료 채집

1차년도에는 제주도내 녹차 생산지를 품종별, 기후별로 분류하여, 매월 일정량 (50Kg 수준)의 녹차 어린순, 잎, 어린가지 샘플 확보하였다 (Figure 9,10). 채취한 녹차시료의 보존을 위하여 각 시료는 동결건조(영하 70℃)한 후 미분쇄하여 냉장보관 하였다 (Figure 11). 2차 년도에는 냉장 보관된 시기별 녹차의 물성 및 유효성분에 결정적인 작용을 하는 카테킨의 성분 변화를 확인하고, 가루녹차의 제조 및 카테킨 추출·정제에 적합한 녹차를 시기별로 정리하여 DB화 하였다.

- 채취 시기 : 4월 29일, 5월 10일, 5월 23일, 6월26일, 8월 22일
- 채취 장소 : 서귀포 색달동에 위치한 제주다원



Figure 11. 녹차시료의 분류 및 동결

1.2 카테킨 정량분석기법 확립

1차년도에는 식품에 일반적으로 적용되고 있고 식품 첨가물 공전에 의거한 분석법인 습식법을 바탕으로 카테킨 농도를 분석하였다. 습식법의 경우 현장에서도 간편하게 사용 할 수 있다는 장점이 있다. 추출, 여과, 정제시 각 단계별로 시료를 채취 한 후 주석산 철시액, pH7.5 인산완충용액을 가한 것을 시험용액으로 하고 물을 대조액으로 설정하였다. 그리고 물 100ml 당 물식자산에틸 (표준품)을 농도 별로 함유하도록 한 시액을 표준용액으로 하여 표준곡선을 작성 하였다 (Figure 12). 2차년도에는 이를 토대로 Spectrophotometer를 이용하여 카테킨 농도를 분석하였고, 추출 정제 각 단계별 카테킨 농도 변화를 모니터링 하면서 순도 60% 카테킨의 최적화 목표에 도달하였다 (Figure 13).

[참고: 식품 첨가물 공전 중 카테킨 분석법]

Optical density (540nm), 식품 첨가물 공전의 카테킨 함량의 의거함
(전처리: Sample 1/10 희석액 1ml + pH=7.5 인산완충용액 3ml + 주석산철시액 1mL)

$$\text{카테킨류의 함량(\%)} = \frac{C \times 1.5 \times 100}{\text{검체의채취량(mg)} \times (100 - W)} \times 100$$

* C : 표준곡선에서 얻어진 시험용액 중의 몰식자산에틸농도(mg/100ml)

* 1.5: 몰식자산에틸 1mg이 나타내는 흡광도는 차카테킨 1.5mg의 흡광도에 상당

* W : 수분함량(%)

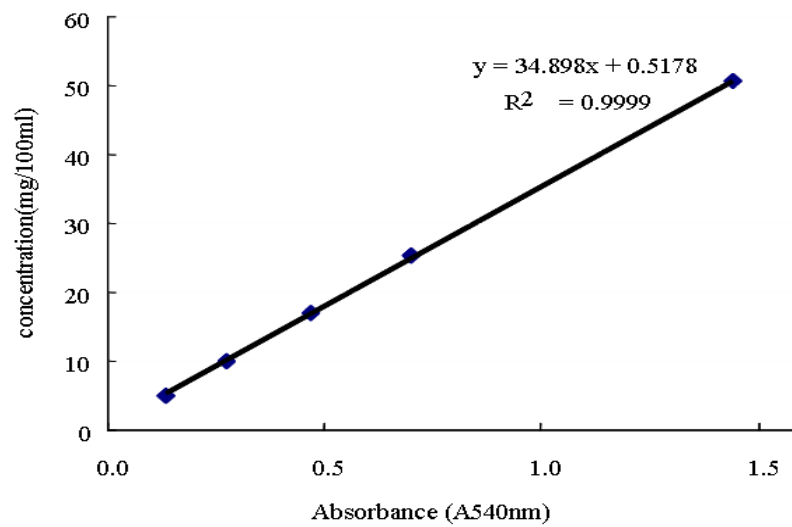


Figure 12. Ethyl gallate 검량 곡선

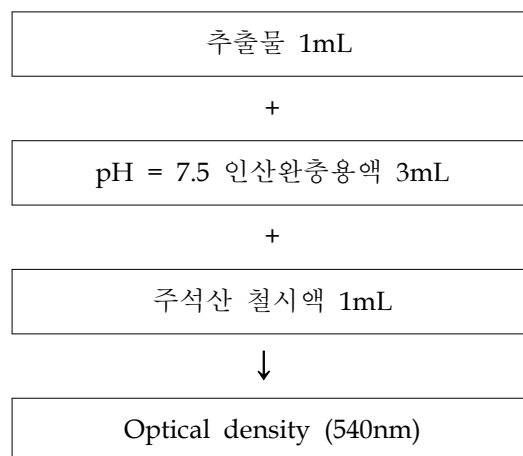


Figure 13. 카테킨류 정량 분석 개요도

1.3 HPLC에 의한 분석법

가. 녹차잎을 가지고 HPLC 분석을 통한 카테킨 추출

또한 본 연구에서는 카테킨의 정량분석을 위하여 HPLC를 이용한 분석법을 확립하였고, HPLC에 의한 EGCG standard와 카테킨 다른 성분 standard를 100% 물과 아세틸나이트릴을 이동상 용매로 선정하여 UV파장 280nm에서 1mL/min 으로 흘려주었다. HPLC 작동 방법은 Table 6에서 나타내었다. 각각의 카테킨 성분은 시료농도 5mg/10mL을 가지고 HPLC를 분석을 하였다. HPLC 분석조건은 Table 7에서 나타내었다. 2차년도 연구시 추출 여과 정제의 과정을 거친 최종 샘플은 카테킨 standard 4가지(EC, ECG, EGC, EGCG), 그리고 카페인을 가지고 확립한 method에 의해 HPLC을 분석하였다. 그리고 각각의 카테킨의 standard와 카페인은 Figure 14에 나타내었다.

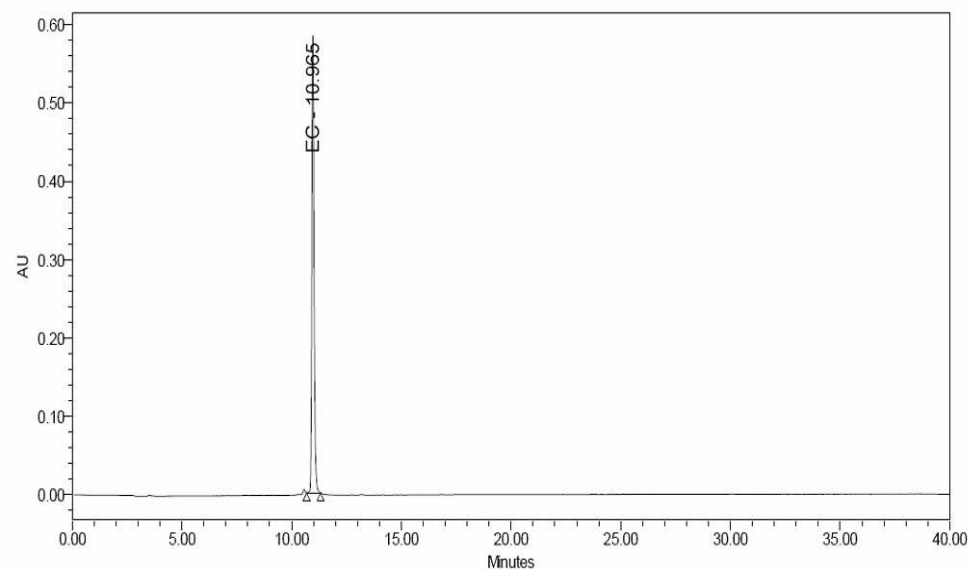
Table. 6 HPLC 분석 조건

Column	RP18 5 μ m (4.6 $\times$ 250mm)
Flow rate	1.0mL/min
Detection wavelength	280 nm
Injection volume	10 μ L
Mobile phase	A: H ₃ PO ₄ , B: Acetonitrile

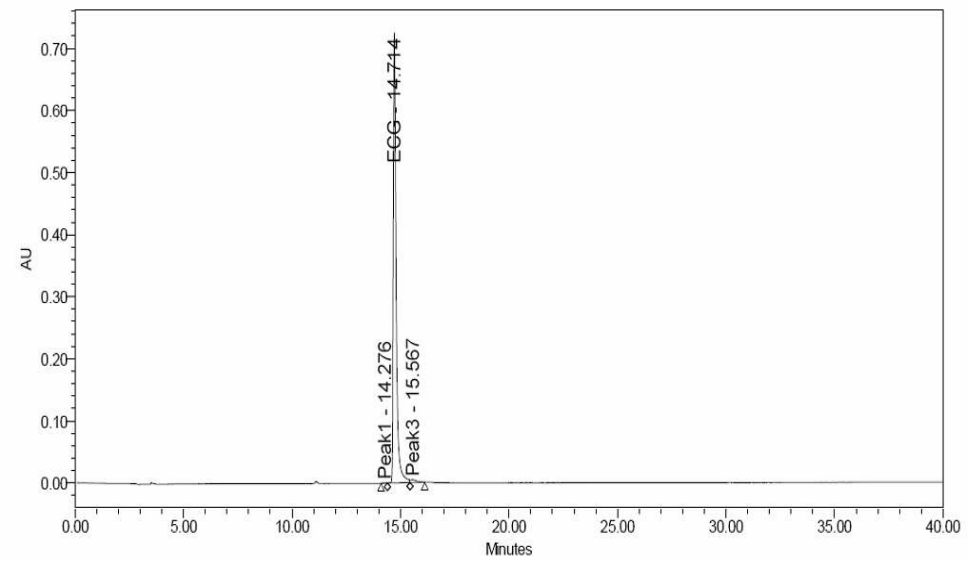
Table. 7 HPLC 분석 방법

Retention Time (min)	0.1% H ₃ PO ₄	% Acetonitrile
0.00	92.0	8.0
35.00	22.0	78.0
36.00	22.0	78.0
40.00	92.0	8.0

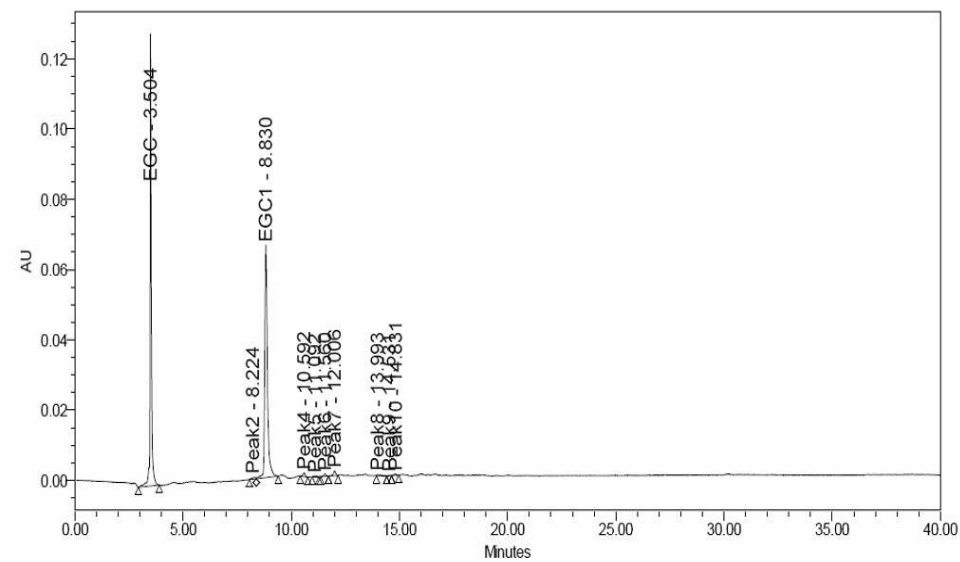
(a)



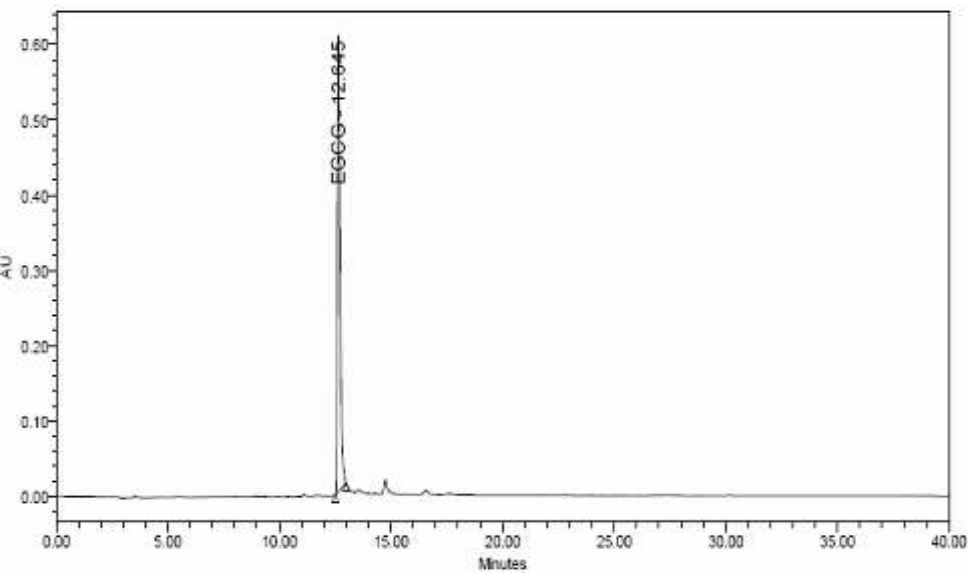
(b)



(c)



(d)



(e)

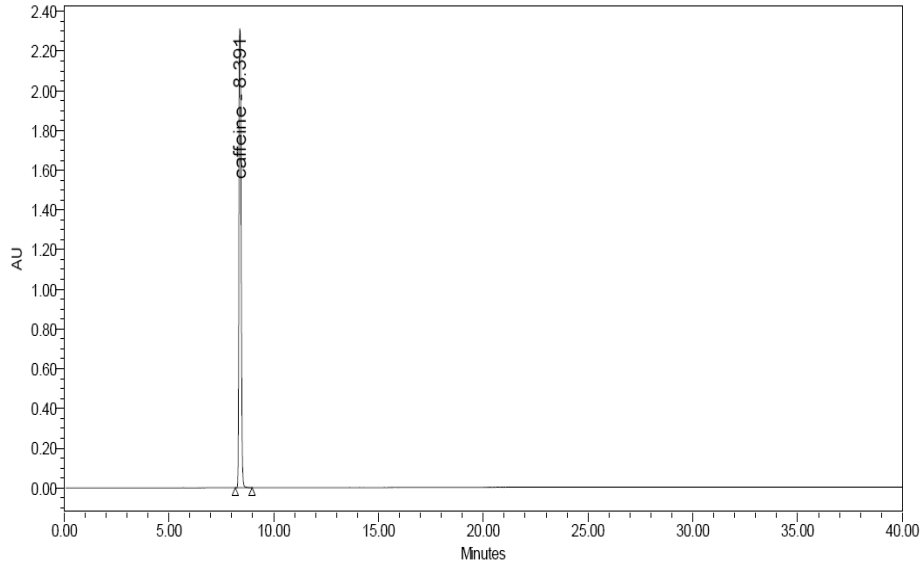


Figure 14. 카테킨 standard 분석 결과

(a) EC (b) ECG (c) EGC (d) EGCG (e) caffeine

나. 채엽 시기, 품종 및 부위별로 채취하여 HPLC 분석을 통한 카테킨 추출

차나무의 지표물질이면서 대표적 유효성분인 카테킨류의 추출 및 분석은 다음과 같은 방법으로 실시하였다.

채엽 시기, 품종 및 부위별로 채취하여 전처리 후 각각의 차나무 동결건조시료를 11ml extraction cell에 충전시킨 다음 추출용매는 50% 메탄올을 사용하여 가속용매추출기로 100℃, 1,800psi에서 15분씩 3회 추출한 다음, 정용한 분석용 시료액을 30% 메탄올로 분석조건에 알맞도록 100~2,500배량 희석한 다음 0.2 μ m membrane filter로 여과한 것을 HPLC 분석용 검액으로 하였으며, 이때 가압은 질소가스를 사용하였다. 9종의 카테킨류 표준품은 0.1~25 μ g/ml로 조제하여 0.2 μ m membrane filter로 여과한 것을 HPLC 표준액으로 사용하였다.

카테킨류의 정량분석을 위하여 표 2와 같이 HPLC 분석방법을 확립하였으며, Table 8, 9의 분석조건에서 표준액과 각각의 분석용 검액을 측정된 다음 검량선

을 작성하여 9종의 카테킨류 함량을 산출하였다. 이 때, 표준액 및 차나무의 부위에 따른 대표적인 카테킨류 성분에 대한 크로마토그램은 Figure 15과 같으며, 이 때 각각의 크로마토그램은 카테킨류가 지니는 고유 흡수 스펙트럼 중에서 280nm를 기준하여 나타내었다.

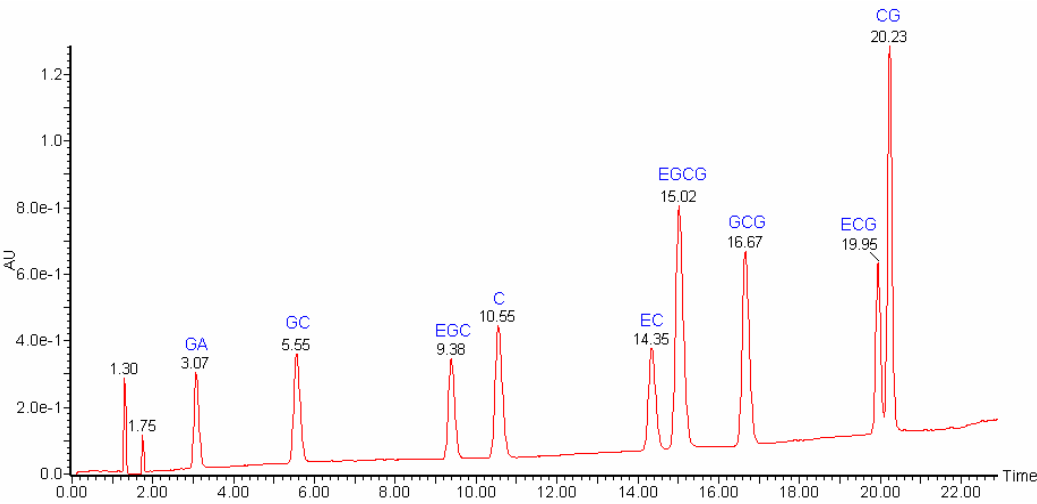
Table. 8. 차나무 카테킨류의 HPLC 분석조건

Column	Symmetry C18, 3.9×150 mm (Waters)
Flow rate	1.0mL/min
Detection wavelength	PDA 260 ~ 400 nm
Injection volume	10 μ L
Mobile phase	0.1% H ₃ PO ₄ : Acetonitrile = Gradient

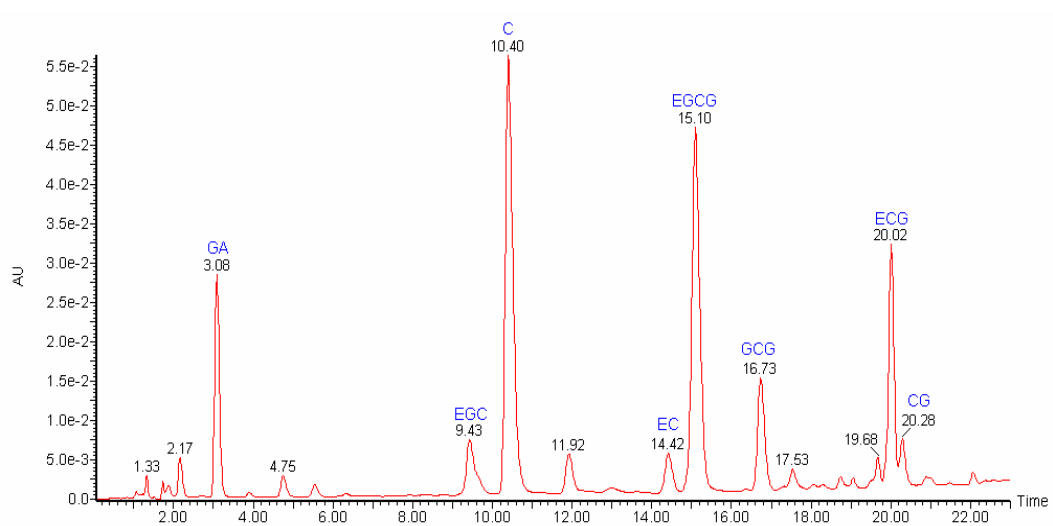
Table. 9. 차나무 카테킨류의 HPLC 분석 방법

Retention Time (min)	0.1% H ₃ PO ₄	% Acetonitrile
0.00	95.0	5.0
15.0	85.0	15.0
23.0	70.0	30.0
26.0	5.0	95.0
29.0	5.0	95.0
32.0	95.0	5.0
35.0	95.0	5.0

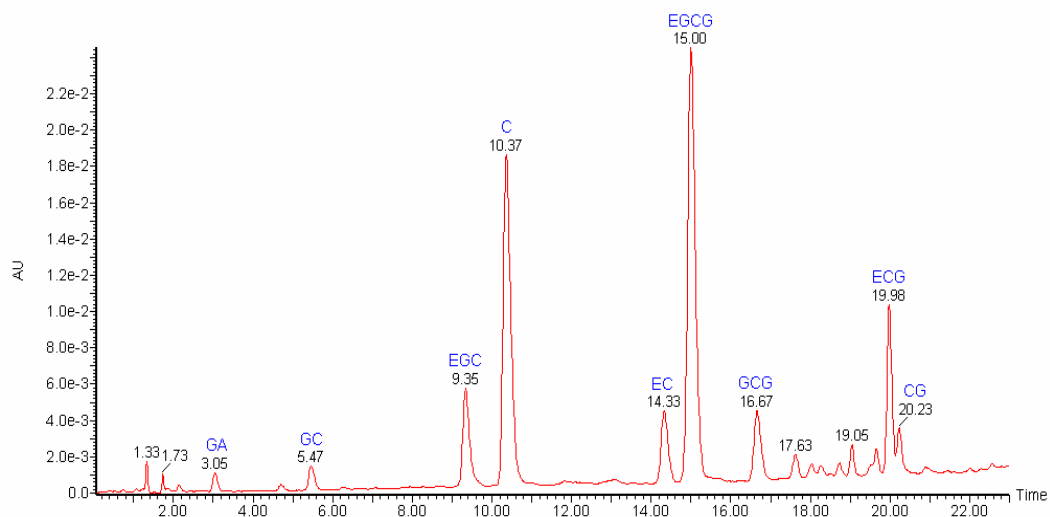
(a)



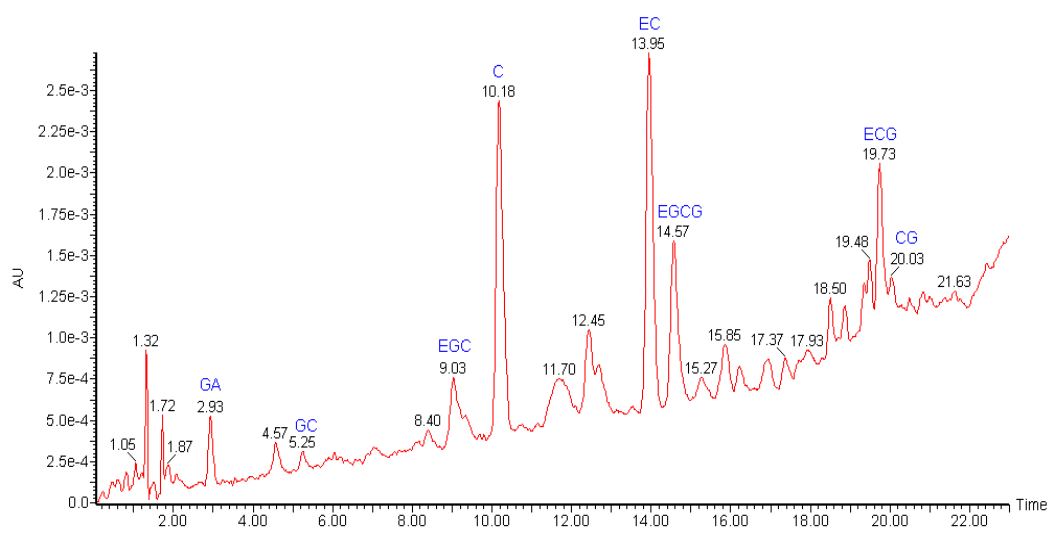
(b)



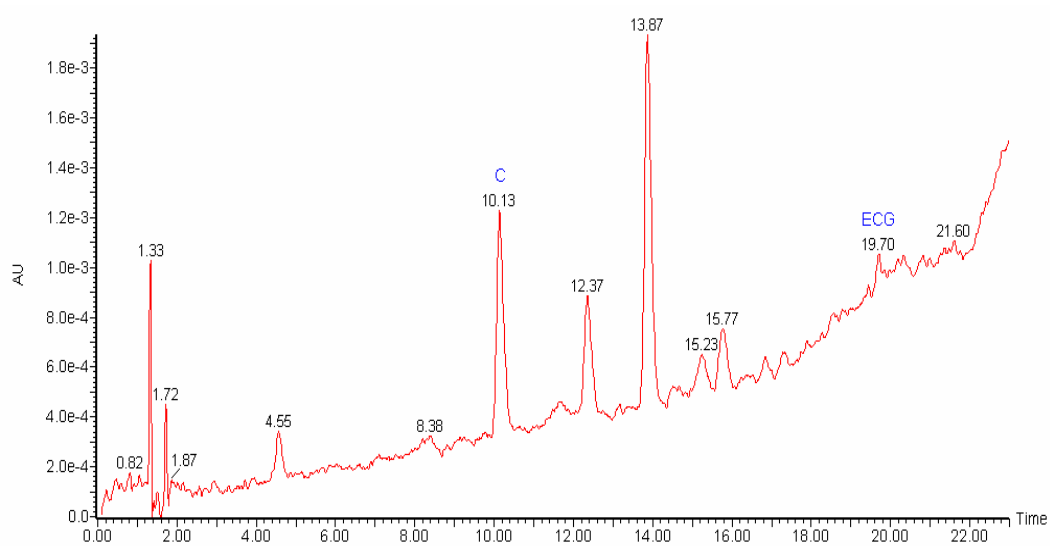
(c)



(d)



(e)



(f)

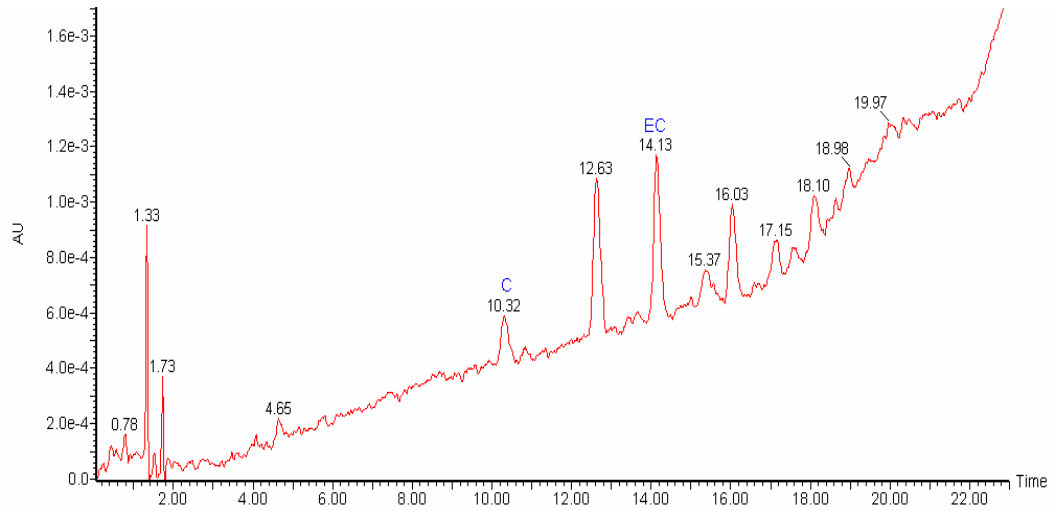


Figure 15. 차나무 부위별 카테킨 표준 조성

- (a) 카테킨류 표준용액, (b) 차나무 어린순(shoot), (c) 차나무 잎(leaf),
(d) 차나무 녹화가지(green branch), (e) 차나무 줄기(stem), (f) 차나무 뿌리(root)

제 3 장 연구 결과

제 1 절 제주 녹차 특성 연구

카테킨류는 $C^6-C^3-C^6$ 형 탄소 골격을 가진 물질로서 수소의 결합 방향에 따라 catechin 및 epi-catechin 등 총 9종을 대상으로 차나무 채엽시기, 차나무의 부위(신엽, 구엽, 녹화가지, 뿌리, 줄기), 차나무 품종에 따른 카테킨 함량을 조사분석한 결과는 다음과 같다.

1. 차나무 채엽 시기별 카테킨 분석

녹차원료로 이용되는 어린순의 수확시기에 따른 카테킨류의 변화는 대체로 첫물차 원료로 생산하는 시기인 4월에 가장 많이 함유하였고, 이후 점차 낮아지다가 8월에 증가하는 경향을 보였다. 어린순을 2~3번 수확하는 시기에 생산하는 두물차 및 세물차에서 카테킨 함량이 매우 낮게 나타난 것으로 보아 녹차의 품질을 기성으로 접근할 때, 첫물차가 가장 좋을 수 있다.

8월에 카테킨 함량이 높은 것은 온도, 광 등이 높은 여름철 시기에 카테킨 함량이 증가한다는 보고와 일치하였으며, 8월 이후 시기에도 검토가 이루어진다면 녹차가루 제품 및 카테킨 소재로 활용하는 가공원료의 수확시기를 설정할 수 있을 것으로 판단되었다. 카테킨의 추출, 정제를 위한 차나무에서 어린순의 채엽시기는 카테킨 함량이 8월에 급증하는 것으로 보아 8월 이후에 채엽하는 것이 경제적이고 수율을 많이 하는 시기라 판단된다.

시기별 카테킨류의 조성을 보면, 대부분 4월이 가장 높은 함량을 보였고, 이후 감소하다가 8월에 증가하는 경향이였다. EC 성분은 4월에서 8월까지 변화가 거의 없이 일정한 함량을 유지하였고, EGCG, GCG는 8월에 급격히 증가하는 경향이며, GC는 4월부터 8월까지 지속적인 증가하였고, GA는 5월 가지 급격히 감소한 다음 이후 일정한 함량을 유지하는 변화 양상을 보였다.

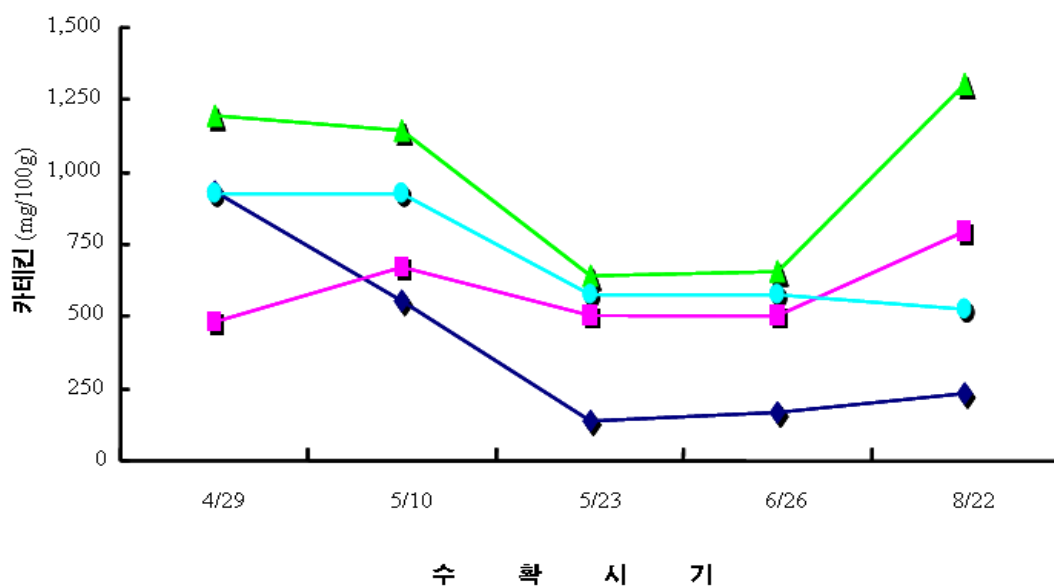
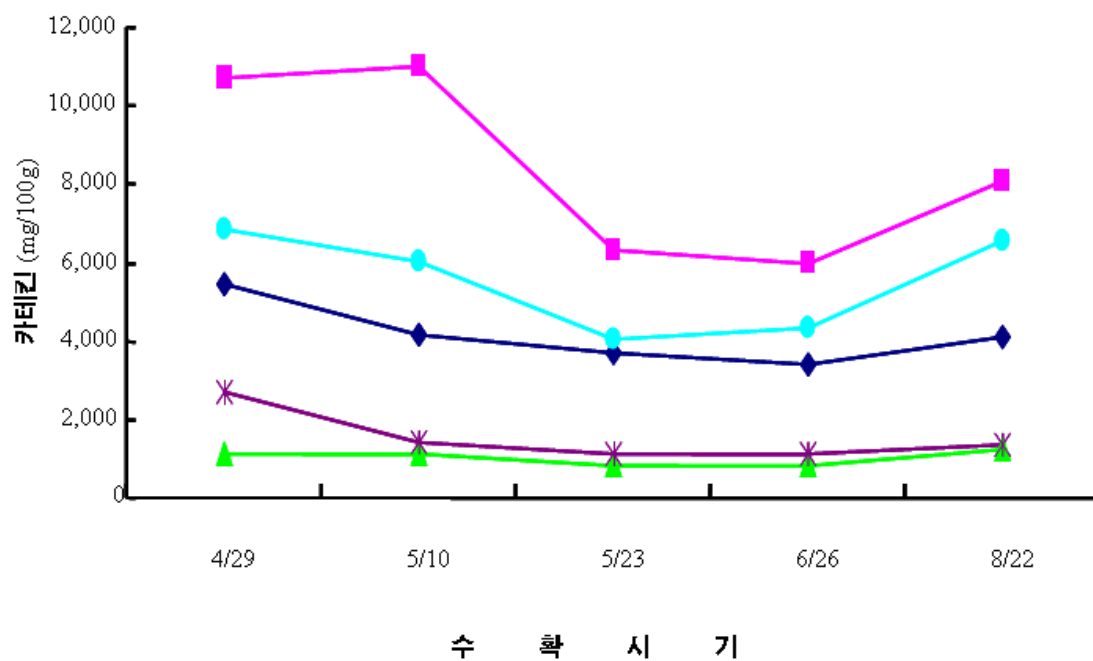


Figure 16. 채엽시기에 따른 카테킨 함량 변화

◆: GA, ■: GC, ▲: GCG, ●: CG

2. 차나무 부위별 카테킨 조성

차나무 부위별 카테킨 함량은 잎의 함량이 매우 높았고, 어린가지의 함량이 비교적 높았다. 특히 EC는 어린가지의 함량이 잎과 비슷한 수준을 나타냈다. 잎중에서도 어린 신엽이 구엽에 비해 다소 카테킨 함량이 높게 나타났으며, 줄기와 뿌리는 소량 함유하고 있는 것으로 나타났다.

Table 10. 차나무 부위별 카테킨 함량

부 위	카테킨 함량(mg/100g)									
	총량	GA	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG
신엽	11,543	98	282	3,303	3,036	990	2,460	189	800	386
구엽	9,654	43	290	2,762	1,730	1,015	2,241	230	830	42
어린가지	1,535	6	6	62	181	832	42	15	389	11
뿌리	265	tr	tr	5	45	189	11	tr	7	tr
줄기	274	tr	tr	15	17	219	5	tr	9	tr

3. 품종 및 부위에 따른 카테킨 함량

품종에 따른 잎부위의 카테킨 함량은 메이료꾸가 타 품종에 비해 총함량이 높은 수준이었고, 후순이 다소 낮은 함량을 나타냈다. 특히 건강 기능 효과와 음용시 맛에 영향을 미치는 EGC와 EGCG의 함량은 야부기다와 메이료꾸의 경우 총함량의 56.3%, 52.7%로 높은 경향이였다. 그러나 수세가 강건하며 수량성이 높은 후순의 경우 44%로 낮은 경향이였다.

Table 11. 품종별 잎의 카테킨 함량

품 종	카테킨 함량(mg/100g)									
	total	GA	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG
메이료꾸	19487.1	41.8	599.6	5665.0	5611.8	987.8	4603.4	388.6	740.9	848.2
야부기다	17726.5	56.7	493.5	4386.7	4871.1	931.4	5593.9	625.2	234.6	533.4
후 순	14133.4	53.7	442.6	3189.2	4759.0	1026.0	3030.2	391.1	828.9	412.7
오꾸미도리	16856.5	55.2	616.7	4528.8	4437.4	1051.6	4135.5	542.2	895.0	594.1

Table 12. 품종별 녹화가지의 카테킨 함량

품 종	카테킨 함량(mg/100g)									
	total	GA	GC	EGC	C	EC	EGCG	GCG	ECG	CG
메이료꾸	2421	22.1	39.5	745.1	584.2	645.5	242.2	16.2	85.8	40.4
야부기다	2504	31.1	22.5	845.4	589.2	566.5	270.7	10.6	139.2	28.6
후 순	2291	23.7	19.3	362.3	826.5	802.1	143.5	5.5	88.0	20.5
오꾸미도리	2565	26.0	51.8	803.6	599.4	613.8	319.2	16.8	124.8	9.1

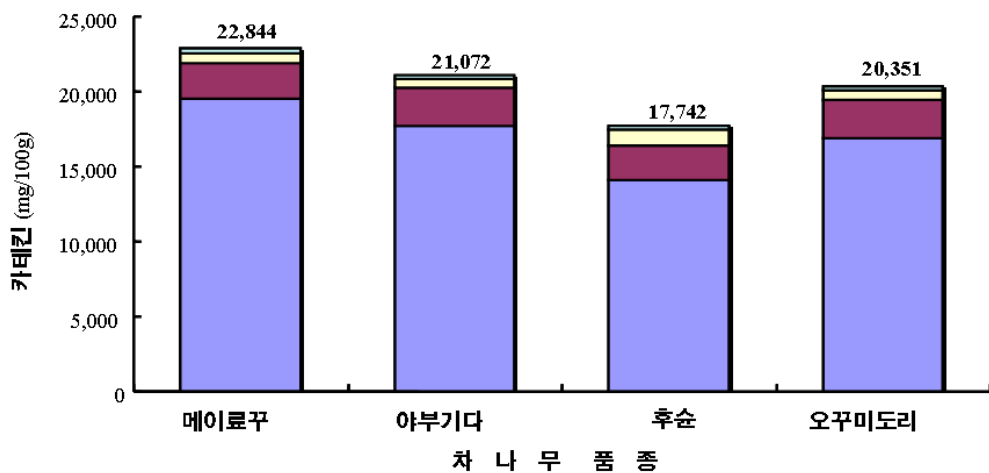


Figure 17. 품종 및 부위별 카테킨 함량

■: 잎, ■: 녹화가지, ■: 줄기, ■: 뿌리

제 2 절 초미세 가루녹차의 개발

1. 미분쇄기 분급기 개발 및 분쇄기 개량

녹차의 섬유질인 셀룰로스와 당 성분은 녹차를 미세화 하는데 방해 물질로 작용한다. 따라서 본 연구에서는 제주산 녹차를 활용하여 고급 가루 녹차를 최적화할 수 있는 분쇄기 및 분급기를 활용한 제조공정을 개발하였다 (Figure 18).

본 연구에서 활용한 Mana Mill은 기존 분쇄기의 단점을 보완하였다. 에어를 이용하되 와류 방식을 피하고 압축력과 충격력, 전단력, 마찰력이 복합적으로 작용할 수 있도록 제작하여 분쇄 입자의 크기를 더 미세하게 할 수 있는 시설을 갖추었다. 일반 분쇄기에서 생산된 입자의 경우 다양한 형태의 힘 중 한 가지 힘만이 강하게 작용되므로 입자의 모양이 균일하지 않지만, 본 연구에서 활용한 Mana Mill의 경우 여러가지 형태의 힘이 복합적으로 동시에 작용되어 입자의 모양이 균일할 뿐만 아니라 표면적이 넓은 분말 생산이 가능하다. Mana Mill은 분쇄기에 관한 것으로서 보다 상세하게는 고압의 공기에 피 가공소재를 혼합 이송하여 초고압 분사하여 굴절시킨 이동 경로에 타격시켜 피 가공 소재를 미립화하는 건식 분쇄기이다. 이 분쇄기는 PCT 특허 출원(10-2003-0035884)을 하였다.

또한 원료의 연속 투입하여 분쇄시간을 단축 함으로써 분쇄 가동 후 1~2분 이후부터 생산이 가능하게 하였다. 고형물의 마찰열에 의한 분쇄를 피하여 가공 중 고열로 인한 형질 변화와 기능성분의 손실을 막을 수 있게 설계 하였다. 또한 분쇄 시스템 자체가 저온을 유지하기 때문에 분쇄 도중 영양소, 맛, 향, 색이 변하지 않는다는 장점이 있어 식품에 유리하게 적용 될 수 있다.

실제적으로 녹차를 분쇄에 적용한 경우 섬유질의 셀룰로스 성분과 점도를 유발하는 당성분 으로 인하여 입도가 10 μm 이하부터는 분쇄효율 (시간당 분쇄량)이 급격히 감소하는 것이 관찰 되었다. 이와 같은 현상은 선인장 열매와 감귤 분말 제조에서도 발생하였다.

특히 녹차의 잎과 줄기를 한번에 분쇄할 경우 분쇄 효율이 급격히 떨어지는 현상이 나타났다.



Figure 18. 초미세 분말 제조 시스템

이는 분말의 입도가 작아짐에 따라 표면적이 증가하여 발생 하는 것이며 보통 입자의 표면적의 증가는 촉매능, 이물질의 흡착능, 빛의 산란 및 반사능 개선 등의 장점을 유발 하지만 미세 분말 가공에서는 실내의 수분에 대한 반응도를 높여 분말이 상온의 습기를 흡수하면서 점도를 유발하고 뭉치는 현상이 발생한다.

따라서 본 연구에서는 초미세 가루녹차의 질을 높이고 생산 효율도 높게 하여 대량생산에 최적화 할 수 있도록 분쇄기 개량을 하고, 동시에 분급기 개발에 주력 하였다. Mana Mill은 기존 분쇄기의 단점을 보완하여 설계하였고, 원료를 연속 투입하게 제작하여 분쇄시간을 단축 하므로 분쇄 가동 후 1~2분 이후부터 생산이 가능하고 -40°C 까지 조절함으로서 분말이 폭발 및 고열로 인한 형질의 변화를 방지 할 수 있게 설계 하였다.

본 연구에서는 초미세 가루녹차 생산을 위하여 Mana Mill의 성능의 개선에 주력하여, 분쇄 작업시 안정성 확보를 위한 보강 장치를 추가하고, 연속 분쇄 작업이 가능케 하고, 분쇄물 투입 속도를 향상시키기 위해서 스크류 타입에서 로타리 타입을 변경을 하였다. 또한 원료를 투입속도를 향상시키기 위해서 원료투입구 밑부분에 진동장치를 설치한 하였고, 투입구 내부에 코팅을 함으로써 원료들이 투입구 내부에 달라 붙지 않게 개량을 하였다. 마지막으로 분쇄관 토출구 형상을 변경을 함

으로써 이물질 발생억제 및 분쇄기 내부 절삭 현상을 제거할 수 있게 되었을 뿐만 아니라, 이송관 형상을 파이프 타입에서 환봉 타입으로 개량을 함으로써 분쇄물 내 이물질 제거 기능을 향상시켰다 (Figure 19).

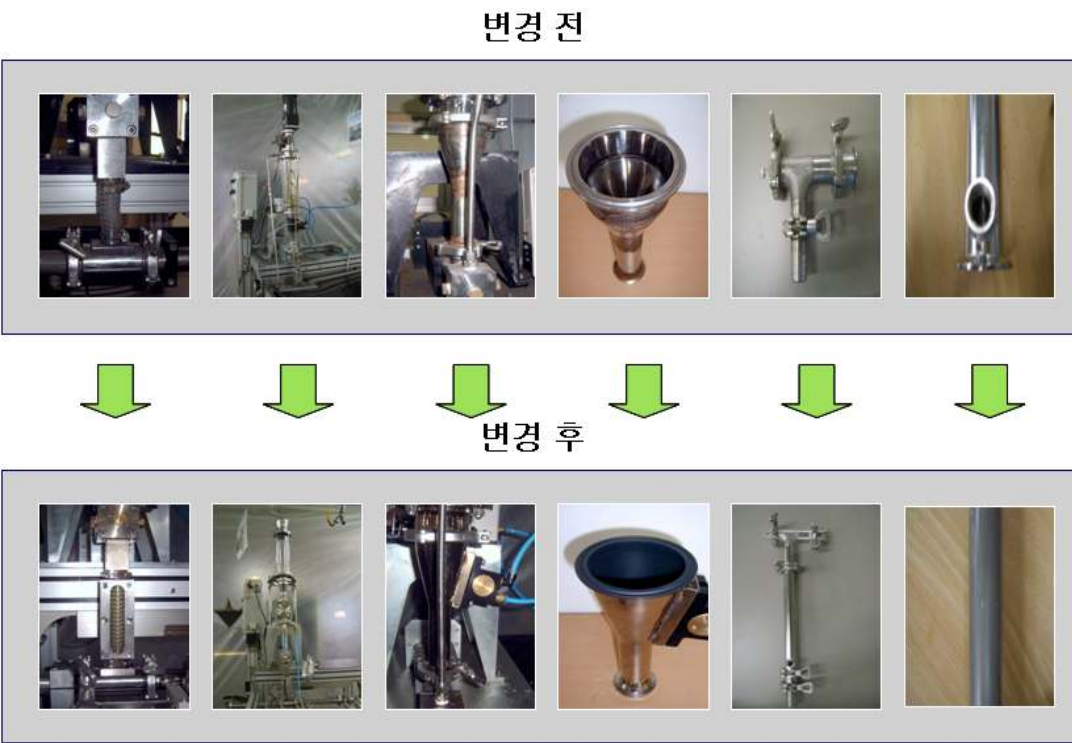


Figure 19. 분쇄기 개량

동시에 본 연구에서는 입자 크기를 선별할 수 있는 분급기의 개발을 하였다 . 1차년도에서는 하나의 원형분급기를 가지고 분쇄를 하였다. 그러나 입도 사이즈가 나노급을 생산할 수 없어서, 2차년도에서는 5단 이상의 분급기 뿐만아니라 원형에서 판형을 분급기를 개발을 하였다 (Figure 20). 초미세 나노급 가루녹차를 생산을 하기 위해서 분쇄기 개량 및 분급기 개발을 하였다. 이에 대한 기술개발내용은 Table 13에 나타내었다.



Figure 20. 분급기 개발

Table 13. 초미세 가루녹차 제조를 위한 분쇄기 개량 및 분급기 개발

분야	Mana Mill의 개량	입도 분급기 개발
기술	- 분쇄시간의 단축 - 혼합분쇄시 효율적	- 가루녹차 가공에 적합한 입자선별 필요 - 입자의 크기가 큰 입자만 선별 하여 recycling을 통한 입자 균일화
개발	- 나노급 분쇄가능	
내용	- 흡습문제 해결 - 조분쇄시 열손상 해결	- 카테킨 추출 정제시 추출 효율을 최적 화 하기위한 입자 선별

2. 초미세 가루녹차 생산

호퍼내에 채워진 피분쇄물이 준비되면 제 1이송 파이프내로 공기 유입구와 냉매 공급관을 통해 각각 고압 공기와 냉매를 공급한다. 이러한 고압공기와 냉매의 공급과 동시에 모터를 구동시켜 이송스크류에 의하여 호퍼로부터 유출되는 피분쇄물을 피분쇄물 공급관으로부터 유입공을 거쳐 제1이송파이프내로 강제 공급시킨다. 공급되는 피분쇄물은 제1이송파이프 내를 고속으로 통과하는 고압공기 및 냉매와 혼입 후 노즐을 향해 빠르게 이송된다. 이때 고압 공기가 통과되는 제1 이송파이프와 이에 연통되어 있는 호퍼 사이에 압력차가 발생하여 제1이송파이프내로의 피분쇄물 이송이 원활 하게 이루어지지 않을 우려가 있으나 이는 호퍼와 피분쇄물 공급관 사이를 연결하여 설치되는 내압유지용 파이프가 제1이송파이프의 내부 공기압력과 호퍼의 내부압력을 동일하게 유지시키는 작용을 함으로서 해결할 수 있다. 냉매에 의해 소정의 온도로 냉각된 상태에서 고압공기에 의해 제1이송파이프내를 빠르게 통과하는 피분쇄물은 노즐을 통과하면서 초고압으로 분사되어 분쇄헤드에 충돌하며 초고압의 분사압에 의해 미분쇄가 이루어진다 (Figure 21).

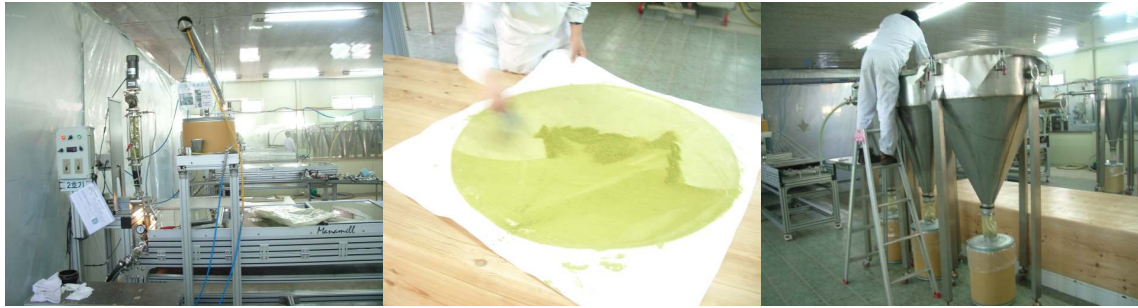


Figure 21. 녹차 분말화 과정

이와 같은 방법으로 개발된 분쇄기와 분급기를 이용하여 제주다원에서 재배된 녹차 원료를 가공하여 다음의 시제품을 개발 및 생산하였다 (Figure 22).



Figure 22. 가루 녹차 시제품 생산

제 3 절 시제품 비교 분석

본 연구에서 개발된 가루녹차 시제품을 기존 시판 제품과의 비교·분석 및 판넬 테스트를 통해 기호도 조사를 실시하여 시제품의 특성을 도출하였다.

시제품은 제주다원에서 '04년 9월에 수확한 녹차 잎을 본 연구에서 개발한 초미세분말 제조공정을 통하여 생산하였고, 기존 제품으로 동원(보성), 티젠, 태평양, 다견원(일본)을 직접 구입하여 비교실험을 수행하였다. 이때 pH, 입도, 색도, 분산안전성, SEM 분석, 관능검사를 시제품 포함 총 5종 각각에 대하여 실험하였고, 객관성 및 신뢰성을 확보하기 위하여 한국식품개발연구원의 협조하에 연구를 진행하였다.

1. 분말 녹차의 pH 비교분석

실험방법으로는 증류수 100ml에 가루녹차 1g을 분산시키고 pH meter (530 pH meter, Corning, NY, U.S.A)를 이용하여 pH를 측정하였다. Table 14는 증류수에 각 시료를 용해시켜 pH meter로 pH를 측정한 결과를 나타내었다. 5개의 샘플들의 pH는 5.5~6.0 정도의 pH 분포를 가지고 있으며, 일본에서 만든 다견원의 샘플이 6.0으로 가장 높은 pH를 나타내었고, 동원과 제주다원 시료는 5.5 수준의 가장 낮은 pH를 보였으며, 티젠과 태평양 시료는 중간정도의 pH값을 나타내었다.

Table 14. 분말녹차의 pH 측정

Sample	동원(보성)	다견원(일본)	티젠(중국)	태평양	제주다원
pH	5.55	6.03	5.75	5.83	5.47

2. 분말 녹차의 입도 비교분석

가루녹차의 입자크기 분석은 Particle size analyzer (Compagnie Industrielle Des Lasers, CILAS 1064, France)을 이용하여 입자직경이 0.4~1000 μm 범위에서의 분포비율(부피%), qq평균입자 직경과 비표면적을 측정하였으며, 분석용 시료의 분산매로는 증류수를 이용하였다.

Table 15는 분말녹차 5종류의 입도를 분석한 결과로, 각 샘플의 입도를 살펴 보았을 때 티젠과 제주다원의 평균 입도 사이즈는 각각 12 μm 와 9 μm 를 나타내고 D₉₀이 26과 20인 아주 미세한 미립자로 구성되어진 것을 확인할 수가 있었다. 반면에 태평양과 동원의 샘플의 평균 입도 사이즈는 각각 52.83 μm 과 41.37 μm 를 나타내어 상대적으로 입자가 큰 분포와 입도 사이즈를 보였으며, 다견원의 샘플은 평균 입도 사이즈가 27.79 μm 로써 시료들의 중간정도의 입도를 보였다.

Table 15. 분말녹차 입도분포표 (단위 : μm)

Sample	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	Mean Diameter
동원(보성)	4.72	35.05	90.40	41.37
다견원(일본)	2.72	14.44	81.07	27.79
티젠(중국)	2.00	9.00	26.35	12.58
태평양	9.40	45.15	110.23	52.83
제주다원	1.84	7.24	20.65	9.52

3. 분말 녹차의 색도 비교분석

가루녹차의 색도는 Chroma meter(CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 L (Lightness, 백색도), a (redness, 적색도), b (yellowness, 황색도)값을 측정하였다.

각 샘플의 색도를 분석한 결과 티젠과 제주다원 샘플의 L값이 68 정도를 나타내어 백색도가 가장 높지만 샘플간의 백색도의 값은 큰 차이를 보이지 않았다. 적색도는 모두 음의 값을 나타내었고 다견원에서의 색도 a 값의 -17.48로 가장 짙은 녹색을 나타내었고 시료 동원은 적색도의 값이 -8.35로 가장 낮았다. 황색도는

제주다원의 샘플이 32.54로서 가장 높았고 동원과 태평양 시료에서 가장 낮은 값을 나타내어 황색도 수치에서는 대조군들이 비슷한 수치를 나타내었다 (Table 16).

Table 16. 분말녹차의 색도분석

Sample	Hunter color parameters ¹⁾		
	L	a	b
동원(보성)	63.75±0.83	-8.35±0.20	23.26±0.50
다견원(일본)	66.19±0.39	-17.48±0.13	28.27±0.14
티젠(중국)	68.62±0.26	-13.18±0.07	27.36±0.27
태평양	61.52±0.69	-10.87±0.16	23.85±0.61
제주다원	68.70±0.51	-10.56±0.16	32.54±1.31

¹⁾ L: degree of whiteness (white +100 ↔ 0 black)
a: degree of redness (red +100 ↔ 0 ↔ -80 green)
b: degree of yellowness (yellow +70 ↔ 0 ↔ -80 blue)

4. 분말 녹차의 분산 안정성 비교분석

50ml 증류수에 녹차 1g을 넣고 완전히 분산된 상태에서 10ml을 뷰렛에 넣어 정치시킨 후 시간경과에 따른 침전물의 부피를 관찰한 결과, 작은 입자들이 많이 포함된 샘플(입도분석 결과 참조)에서 분산안정성이 높은 것으로 나타났다.

시간에 따른 분산 안정성 실험결과를 Table 17에 나타내었다. 다른 샘플들에 비해 태평양과 제주다원 샘플이 빠른 침전속도를 보였고 다견원의 샘플은 상대적으로 가장 늦은 침전속도를 보였다. 티젠 샘플에서는 그 중간단계의 침전속도를 보였다.

Table 17. 시간에 따른 분말녹차의 분산안전성 (단위 : mm)

Samples	Time (hr)							
	2	3	5	8	11	14	24	3days
동원(보성)	5	8	25	38	46	48	50	51
다견원(일본)	1	1	2	3	4	5	9	14
티젠(중국)	7	9	12	18	23	31	48	55
태평양	11	15	20	30	38	45	47	51
제주다원	10	13	17	24	30	39	56	60

5. 주사전자현미경(SEM)을 이용한 분말녹차의 미세구조 분석

주사전자현미경 (S-2380N Scanning Electron Microscope, Hitachi, Japan)을 이용하여 분체 표면의 특성을 관찰하였다. 준비된 시료는 SEM ion sputter coater를 이용하여 gold-palladium 층으로 진공상태에서 60초간 코팅시킨 후 15kV에서 관찰하였으며 대표적인 화상을 file로 저장하여 표면의 형태를 비교 분석하였다. Figure 23는 본 연구에서 사용한 SEM의 사진을 보여주고 있다.



Figure 23. 주사현미경(SEM)의 사진

SEM을 이용하여 분말녹차 시료의 표면을 500, 800, 1,000 배로 확대 분석한 결과입자의 크기와 모양은 시료마다 차이가 있음을 확인할 수 있었다 (Figure

24). 동원 샘플은 길게 각진 모양을 하고 있는 것들이 확인되었고 티젠과 제주다원의 샘플은 가장 입도가 작음을 확인할 수 있었다. 티젠의 샘플은 간간이 입도에 비해 큰 입자가 하나씩 보이는 것이 확인되었고, 그 결과로는 티젠의 샘플은 입자 사이즈가 일정하지 않다는 것을 알 수 있었다.

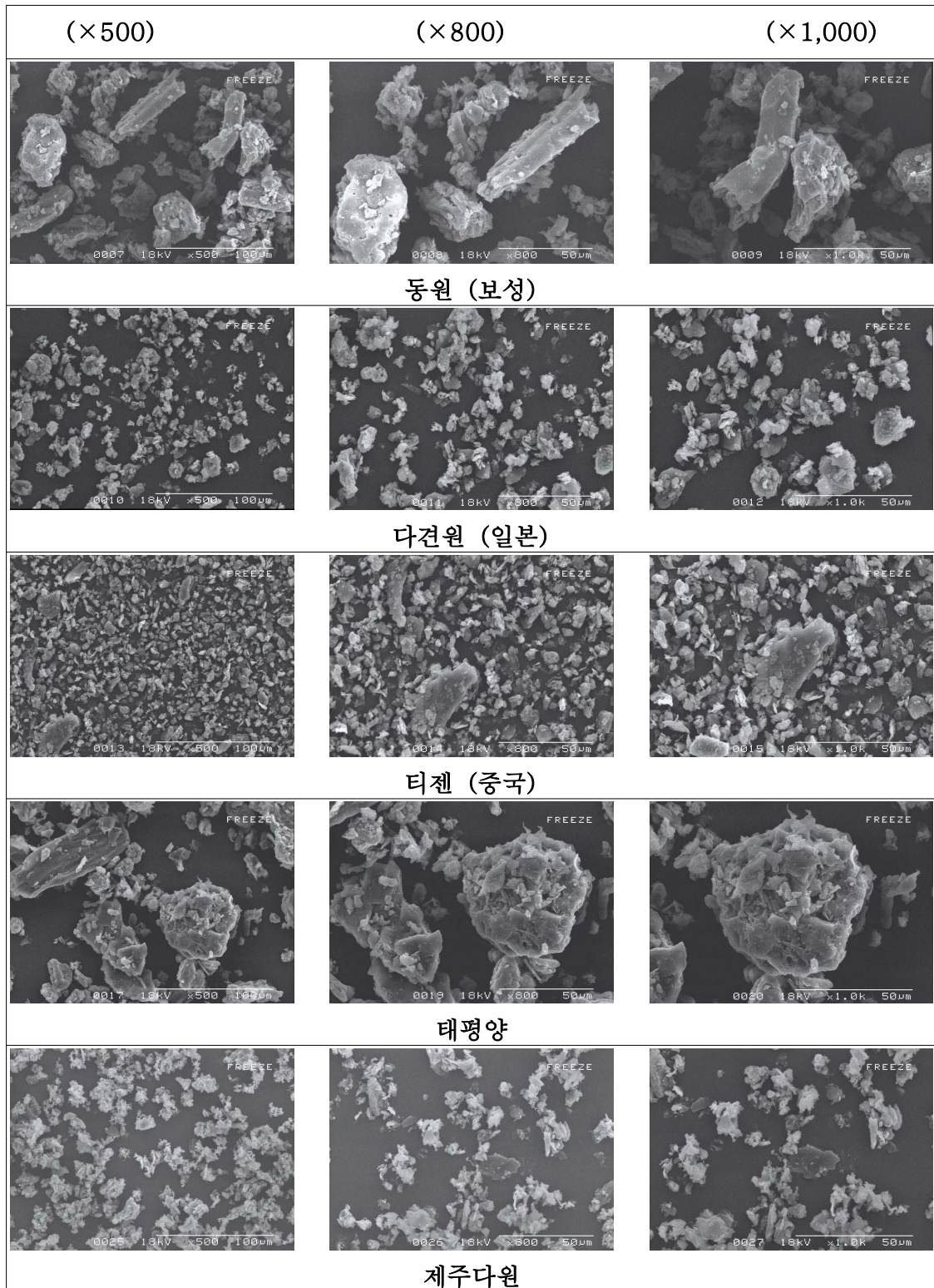


Figure 24. SEM을 이용한 분말녹차의 표면분석 (사진의 Bar는 50 μ m로 동일한 배율임)

6. 분말 녹차의 관능 검사

분말녹차 샘플별로 물 100ml당 0.5g의 농도가 되도록 분말녹차를 제조하여 색택, 향기, 맛, 기호도에 대한 관능평가를 실시하였다. 통계처리는 SPSS package를 이용하여 각 변인마다 평균과 표준편차를 구하였고 각 실험구의 평균치간의 유의성은 $\alpha=0.05$ 수준에서 Duncan's muli test에 의해 다중검정을 실시하였다.

실험 결과는 Table 18에 나타내었다. 녹차의 색택은 동원과 제주다원에서의 샘플의 가장 좋은 선호도를 보였고, 향기에 대한 선호도는 티젠과 제주다원에서의 샘플의 가장 높았으나, 전반적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 그리고 맛에 대한 평가에서는 동원과 제주다원에서의 샘플의 다른 샘플들에 비해 상대적으로 높은 점수를 받았다.

Table 18. 분말녹차에 대한 관능검사

	색택	향기	맛	종합적 기호도
동원(보성)	5.9 $\pm$ 1.6	4.5 $\pm$ 1.1	5.2 $\pm$ 1.6	5.5 $\pm$ 1.7
다견원(일본)	3.5 $\pm$ 1.9	4.1 $\pm$ 2.0	4.0 $\pm$ 2.1	3.9 $\pm$ 2.1
티젠(중국)	2.8 $\pm$ 1.3	4.9 $\pm$ 1.6	3.8 $\pm$ 1.6	3.9 $\pm$ 1.6
태평양	3.7 $\pm$ 1.3	4.5 $\pm$ 1.8	4.0 $\pm$ 1.6	4.3 $\pm$ 1.4
제주다원	5.6 $\pm$ 1.7	4.8 $\pm$ 1.5	5.8 $\pm$ 1.1	5.7 $\pm$ 1.0

7. 1,2 차년도 관능 검사 비교분석

1차년도의 관능검사는 제주다원의 샘플이 색택과 향기 맛 등에서 다른 샘플에 비해 매우 낮은 기호도를 얻었다. 그 결과는 Figure 25에 나타내었다. 이는 동원, 티젠, 태평양, 다견원(일본)의 제품이 샘플의 원료, 증제과정, 건조과정, 분쇄기술에 의한 차이에 의한 것으로 판단되어, 제주다원의 분쇄기를 개량과 분급기 개발에 의해서 제주다원에서 시제품의 생산하여 2차년도에 다시 분석을 하였다. 그 결과 아래의 Figure 26에 나타내었다. 2차년도의 관능검사는 종합적인 기호도에서는 제주다원에서의 샘플의 가장 좋은 선호도 점수를 얻었다. 앞으로도 분급기 개발 및 분쇄기 개량으로 기호도가 더 좋은 시제품을 개발 할 수 있을 것이라고 기대된다.

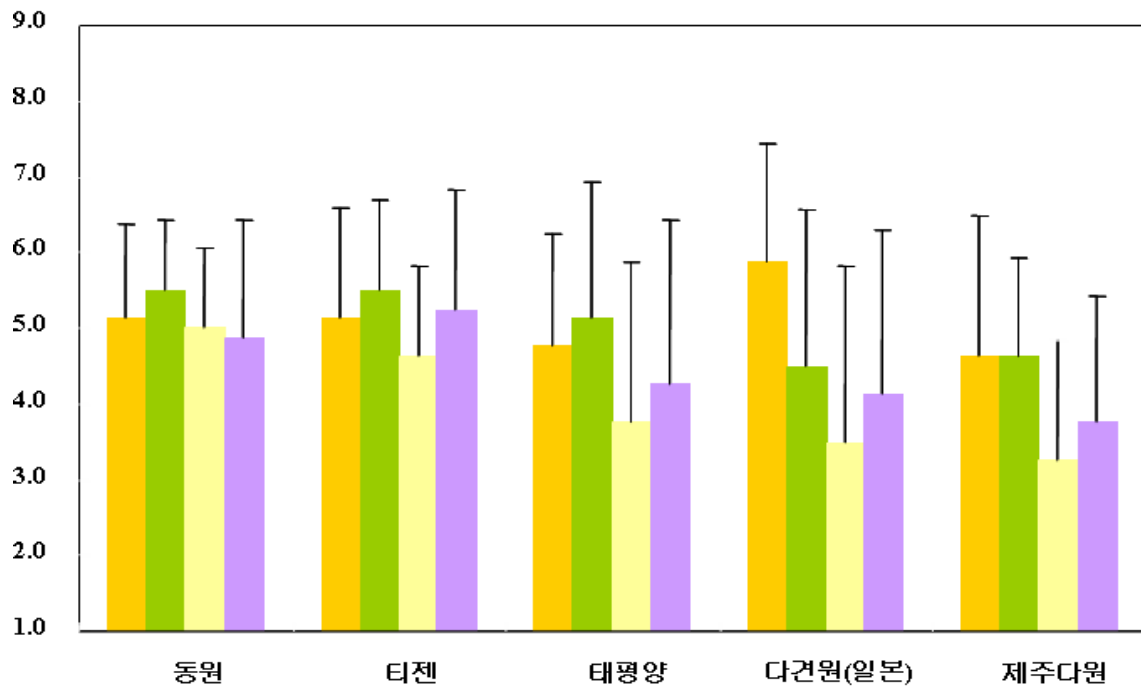


Figure 25. 1차년도 관능검사

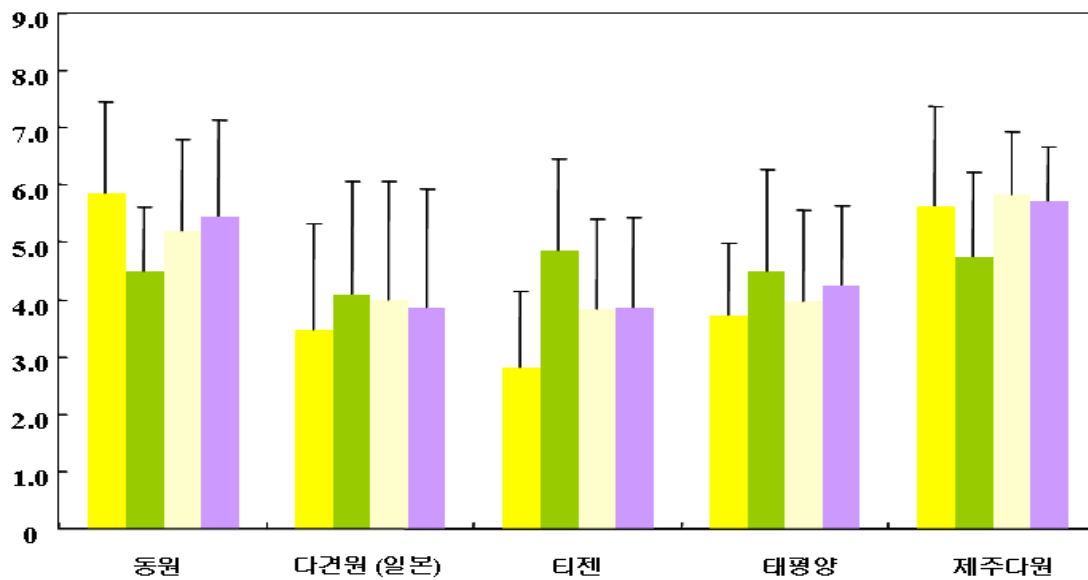


Figure 26. 2차년도 관능검사

Symbols: ■: 색택, ■: 향기, ■: 맛, ■: 종합적 기호도

제 4 절 카테킨 추출·정제 조건 확립

본 연구에서는 카테킨 추출 정제기술 개발을 위한 연구를 수행하였다. 실험 단계별 카테킨 함량을 알아보기 위해 현재 식품 첨가물공전에 기재된 카테킨 분석법을 이용하여 간접 분석 실시, 카테킨 전체적 흐름을 파악하고자 하였다. 녹차의 추출 실험과 정제 실험을 개별적으로 실시하여 각각의 최적조건을 확립한 후 카테킨 수율을 최적화하였다.

녹차의 기능성 성분인 카테킨류는 물 또는 에틸알콜로 추출, 정제하여 얻어지거나 열수로 추출한 후 메탄올 또는 초산에틸로 분배하여 얻을 수 있었다. 녹차에서 카테킨류를 추출하기 위한 추출장치는 다음의 장치를 제작하여 사용하였다 (Figure 27).

본 연구에서는 녹차가 함유된 카테킨류를 열수를 사용하여 추출하였다. 추출물 안에 포함되어 있는 카테킨류를 얻기 위하여 클로로포름과 에틸아세테이트를 사용하여 분배하였다. 클로로포름과 분배는 카페인과 약간의 불순물을 제거하기 위하여 실시되며, 클로로포름에서 증분리된 물층을 에틸아세테이트와 분배하면 에틸아세테이트층에 카테킨이 분배되었다. 그리고 카테킨 추출 정제에 있어서 여러 가지 조건들을 가지고 수행을 한다음 관련 논문 및 특허를 조사하여 기초실험을 수행하였고, 카테킨 관련 특허와 논문을 검토한 결과 인하대 노경호 교수팀 (참고문헌 77, 78, 79)의 연구결과가 카테킨 추출 정제 방법에 있어 동 분야의 가장 앞선 기술을 보유하고 있는 것으로 파악되어 이를 재현하는데 주력하였다.



Figure 27. 카테킨 추출을 위한 실험 장치

1 . 카테킨 추출을 위한 최적 pH 조건 확립

카테킨 함량이 70% 이상이 되면 식품첨가물로 사용할 수 있다. 만일 70% 이상의 카테킨을 저렴하나 가격에 생산한다면 상당히 주목 받을 것이다. 본 연구에서는 여러 가지 변수를 이용하여 카테킨 함량을 알아보는 것으로, 먼저 최적의 pH 조건을 찾고자 한다. 실험방법은 제주도 한라산 중산간에 위치한 제주다원에서 4월~9월에 재배된 녹차를 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 추출온도 80℃, 추출시간 1시간을 주면서 교반기에서 고 순도의 카테킨을 추출을 위해서 먼저 최적의 pH 조건을 잡는 실험을 수행하였다. 이 실험은 실험조건은 네가지 pH 4, 5.5, 7, 10 조건을 가지고 수행한 결과 네가지 pH에서 카테킨함량이 크게 차이를 보이지 않았다. 낮은 pH 4 에서는 카테킨함량이 약 8.0%을 얻을수 있었다. 그리고 pH 5.5, 7, 10에서는 각각 약 8.4%, 8.7%, 6.3%로 카테킨함량을 얻을 수 있었다 (Figure 28). pH7 까지는 카테킨 함량이 조금씩 증가하는 반면 pH 10을 도달하였을때는 카테킨함량이 감소하는 현상을 보여주고 있다. 결론적으로 고순도의 카테킨 함량을 얻기 위한 최적의 pH 7에서가 가장 좋은 카테킨함량을 얻었다. 카테킨은 산성과 염기성에서보다 중성에서 카테킨 농도가 높으므로 중성용매에서 추출효율이 높음을 확인되었다.

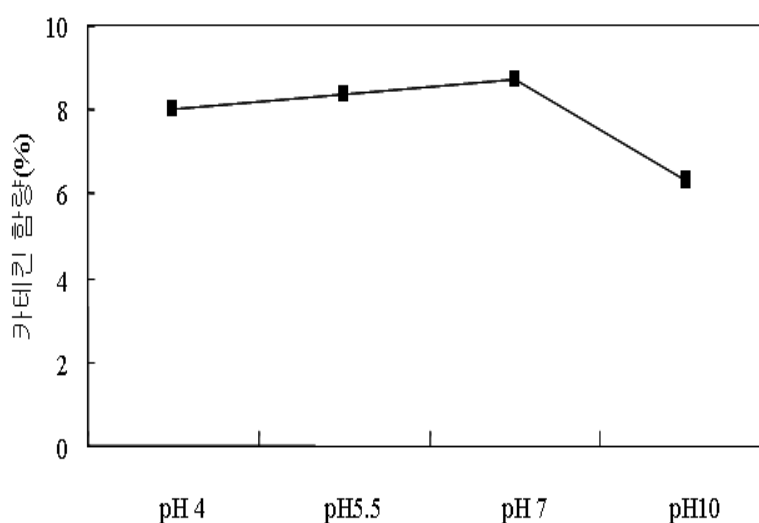


Figure 28. pH에 따른 카테킨 함량

2. 카테킨 추출을 위한 최적 온도 확립

녹차의 추출 실험과 정제 실험을 개별적으로 실시하여 각각의 최적조건을 확립을 하기 위해서 온도조건에 대한 실험을 수행하였다. 실험방법은 제주다원에서 4월~9월에 재배된 녹차를 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 추출시간 1시간을 주면서 교반기에서 고 순도의 카테킨을 추출을 위해서 온도 조건을 다양하게 (50℃, 80℃, 100℃) 하여 최적의 온도 조건을 잡는 실험을 수행하였다. 이 실험 결과 온도 50℃에서 카테킨 함량을 보면 약 5%로 매우 낮은 카테킨 함량을 보인 반면 온도 80℃와 100℃에서 카테킨 함량이 각각 15.8%, 17.4%를 50℃보다 높은 결과를 얻었다. 그리고 100℃에서의 카테킨 함량은 80℃보다 약 12%더 많이 추출되었다 (Figure 29). 그러나 100℃에서가 카테킨이 함량이 더 높음에도 불구하고 우리 연구실에서는 80℃를 최적의 온도조건으로 잡았다. 이런 이유는 추출이 끝난후에 추출액을 관찰을 하였을때, 80℃에서 추출액은 맑고 투명한 반면 100℃에서는 거품이 많이 발생을 하고, 추출액이 불투명하고 불순물이 발생하였다 . 거품이 발생을 한 사진은 Figure 30에서 보여주고 있다. 불순물의 발생하는 것을 증명하기 위해서 HPLC를 분석을 해본 결과 불순물이 100℃에서 많이 발생했다는 것을 확인 할수 있었다. 이 결과로 HPLC 분석결과 최적 온도조건은 80℃임이 확인되었다. 그리고 녹차잎을 가지고 카테킨을 추출을 하기 위해서는 온도조건이 매우 중요하다는 알 수 있었고, 온도 조건이 매우 높은 온도에서는 불순물 같은 물질이 낮은 온도에 비해 많이 발생한다는 것을 확인을 할 수 있었다. 그리고 불순물은 빨간색으로 표시를 하였다 (Figure 31).

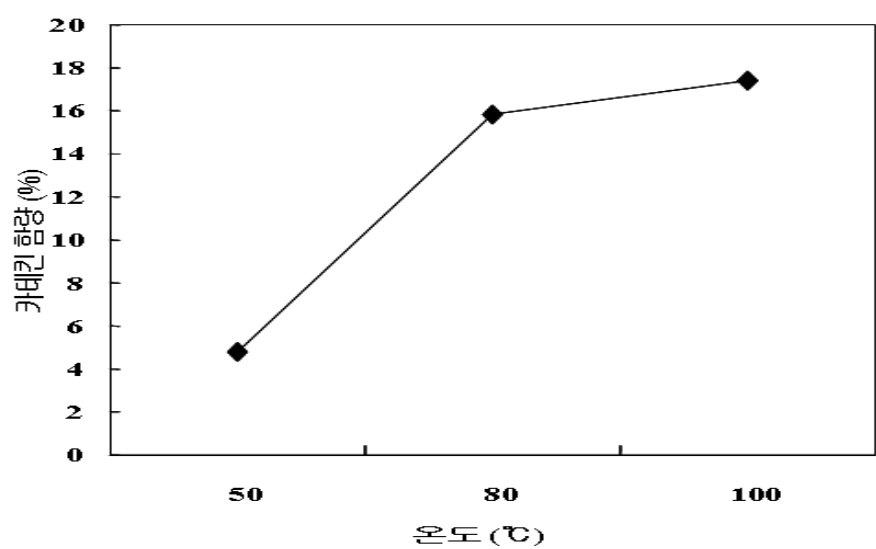


Figure 29. 온도에 따른 카테킨 함량



Figure 30. 온도에 따른 녹차에서의 추출물 사진

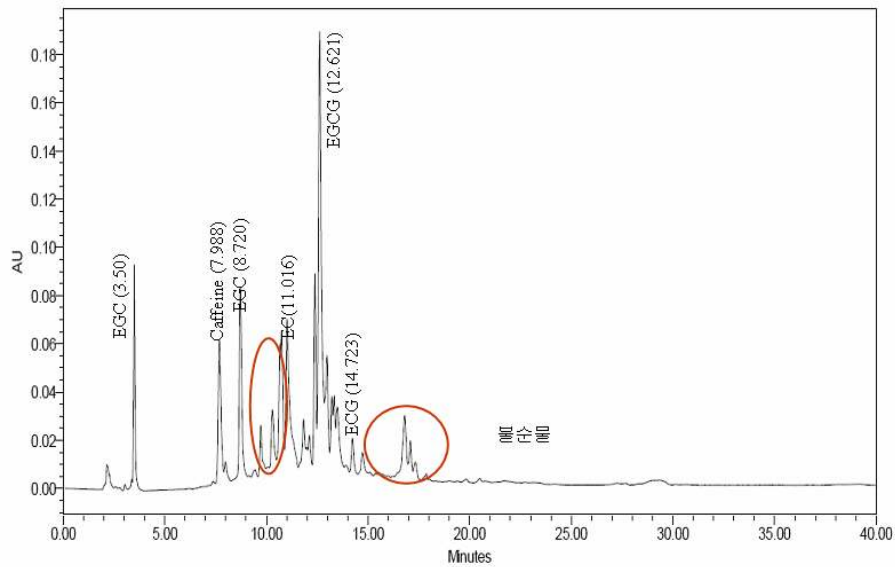


Figure 31. 100℃에서의 HPLC 분석 결과

3. 카테킨 추출을 위한 최적 시간 확립

본 실험은 제주다원에서 4월~9월에 재배된 녹차를 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 앞에서 얻은 최적조건 (pH 7, 온도 80℃)을 적용을 하여 교반기에서 고 순도의 카테킨을 추출을 위해서 최적의 시간 조건을 잡는 실험을 수행하였다. 이 때의 실험조건은 시간을 여러 가지 시간 조건 (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300분)을 가지고 수행하였다. Figure 32에서는 녹차잎을 가지고 시간대 별로 추출한 사진을 보여주고 있다. 이 실험 결과를 보면 60분까지 카테킨함량이 빠르게 증가하는 것을 볼 수 있었으나, 60분 이후에는 천천히 증가하거나 거의 비슷한 카테킨함량을 보였다. 카테킨함량은 60분이후에는 약 3.0%~3.3%을 얻었 수 있었다 (Figure 33). 이 실험 결과로 카테킨을 추출을 하는데는 일정 시간이 경과됨에 따라서 카테킨의 함량은 조금씩은 증가하지만, 열효율적인면을 보았을때 카테킨을 추출을 하기 위해서는 최적조건 시간을 60~90분으로 정하였다.

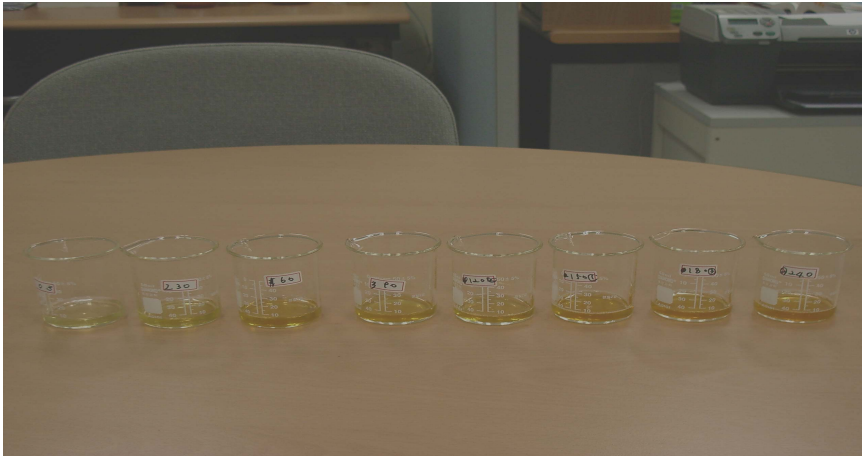


Figure 32. 시간에 따른 녹차에서의 추출물 사진

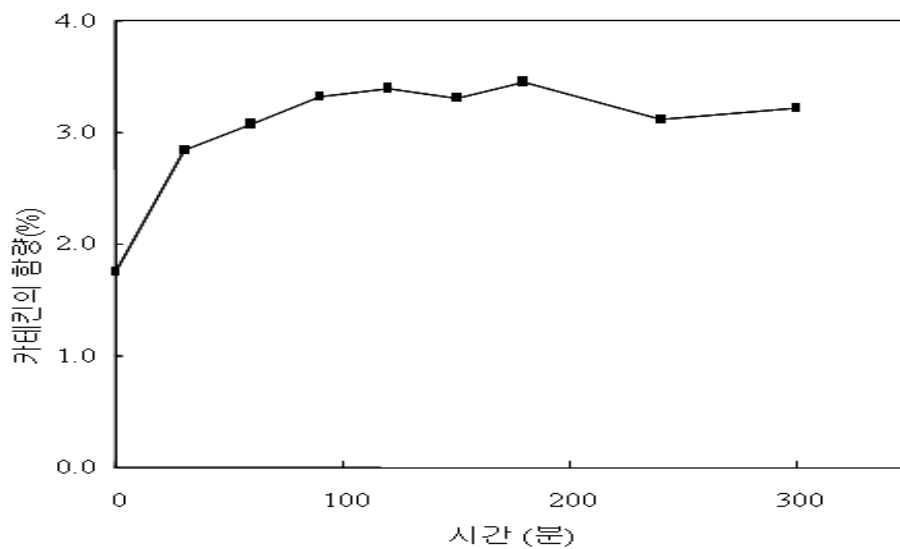


Figure 33. 시간에 따른 카테킨 함량

4. 카테킨 추출을 위한 최적 분배방법 확립

2차년도 연구에서는 녹차의 카테킨류는 물을 사용하여 추출을 한다음 고순도의 카테킨을 추출을 하기 위해서 1,2차 클로로포름과 에틸아세테이트를 사용하여 분배하였다. 추출물 안에 포함되어 있는 카테킨류를 얻기 위하여 클로로포름과 에틸아세테이트를 사용하여 분배하였다. 1,2차 클로로포름 분배는 녹차 추출물안에 들어있는 카페인과 약간의 불순물을 제거하기 위하여 수행하였고, 클로로포름층에 포함되어 있는 카페인과 불순물은 사용하지 않고 폐수 처리하였다. 1,2차 클로로포

름에서 층분리된 물층을 가지고 같은 부피(1:1)로 에틸아세테이트와 분배하면 에틸아세테이트층에 카테킨이 성분이 추출되었다. 이 실험결과는 여과액에서는 카테킨 함량이 약 31%을 얻을수 있었고, 1,2차 클로로포름에서는 여과액과 비슷한 수준이 카테킨함량을 약 33% 수준으로 추출을 가능하였다. 에틸아세테이트에서 얻어진 카테킨함량은 여과액, 1,2차 클로로포름에서 추출된 카테킨함량보다 약 160%이상 얻을 수 있었고, 이때의 에틸아세테이트 분배방법의 카테킨함량은 약 80%정도 얻을 수 있었다 (Figure 34). 결과적으로 아세테이트 분배방법을 이용함에 따라 카테킨 함량이 다른 분배방법보다 가장 높은 결과를 얻을 수 있었다. 앞으로 카테킨을 추출을 하기 위해서는 가장 효과적인 방법임을 보여주고 있다.

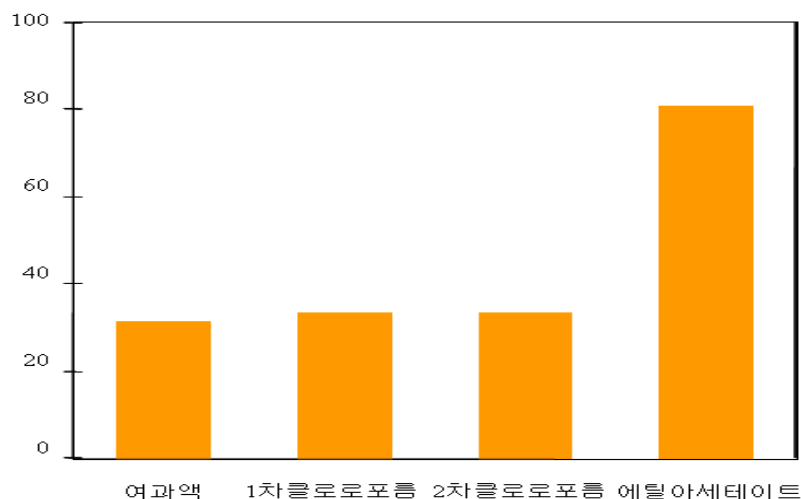


Figure 34. 액/액 분리에 따른 카테킨함량의 변화

5. 액/액분리를 이용한 카테킨 공정

녹차잎을 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 앞에서 얻은 최적조건 (pH7, 온도 80℃, 시간 60분)을 가지고 교반기에서 교반하여 추출하였다. 순수한 물에서 나온 추출은 카테킨 화합물을 얻기 위하여 같은 부피의 클로로포름과 분배를 하였다. 클로로포름 분배는 주로 카페인과 그밖에 약간의 불순물을 제거하기 위해서 실시하였다. 클로로포름은 2회 수행하고 나서 에틸아세테이트를 사용하여 같은 부피로 혼합하여 30분동안 교반하여 층분리를 실시하였고, 물층에 층분리된 에틸아세테이트층을 얻었고, 에틸아세테이트층중에는 카테킨 함량이 분배 되어있다.

Figure 35은 이 연구를 수행하기 사용된 추출기구이고, 이 실험을 통해서 나온 추출물을 가지고 카테킨을 성분을 추출을 하기 위해서 HPLC를 분석을 수행하였다. 정지상으로 크기가 $5\mu\text{m}$ 인 C_{18} 에 컬럼을 사용하였고, 시료의 주입량은 $10\mu\text{l}$ 이고, 이동상으로는 물과 아세틸나이트릴을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min 으로 하고 UV파장은 280nm 로 사용을 하였다.



Figure 35. 카테킨 추출하기 위한 실험 장치

Figure 36은 녹차로부터 EGCG를 얻기 위하여 필요한 공정들에 대한 개요 및 실험방법을 나타낸 것이다. Figure 37는 액체 크로마토그래피를 사용하여 추출물을 분석한 결과이다. 층분리가 된 에틸아세테이트 층에서는 EC, EGC, ECG, EGCG, 카테인, 그리고 불순물이 분배되었다. 최적조건에서 얻은 추출물을 가지고 HPLC를 분석한 결과 12.696 시간에서 EGCG가 확인 되었고, EGCG외에 다른 성분들이 다른 시간때에서 카테킨의 추출되었음을 확인되었다. 카테킨 성분중에 EGCG는 가장 효과가 좋은 성분이며, 함암 및 항산화 효과, 면역체계 강화, 항혈전 효과, 피부암 예방, 심장병 예방과 콜레스테롤 예방과 같은 효능을 지닌 카테킨 추출물을 포함하고 있다. 이러한 방법도 식품업계에서는 많은 문제점이 발생할 수 있다는 있을 것이고, 유기용매의 폐수처리 비용이 많이 든것이라는 가정하에 우리 연구실에서는 컬럼 크로마토그래피이라는 새로운 공정을 개발을 하였다.

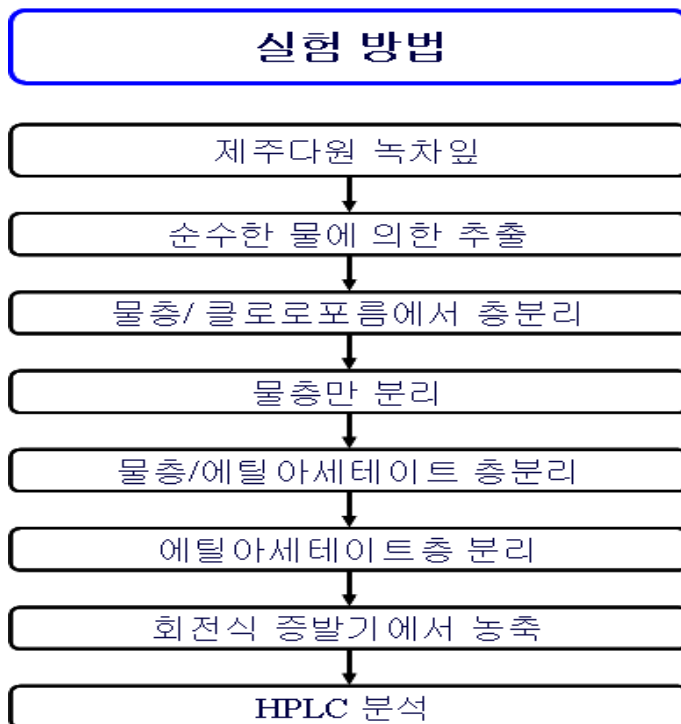


Figure 36. 녹차로부터 EGCG 추출 하기 위한 공정도

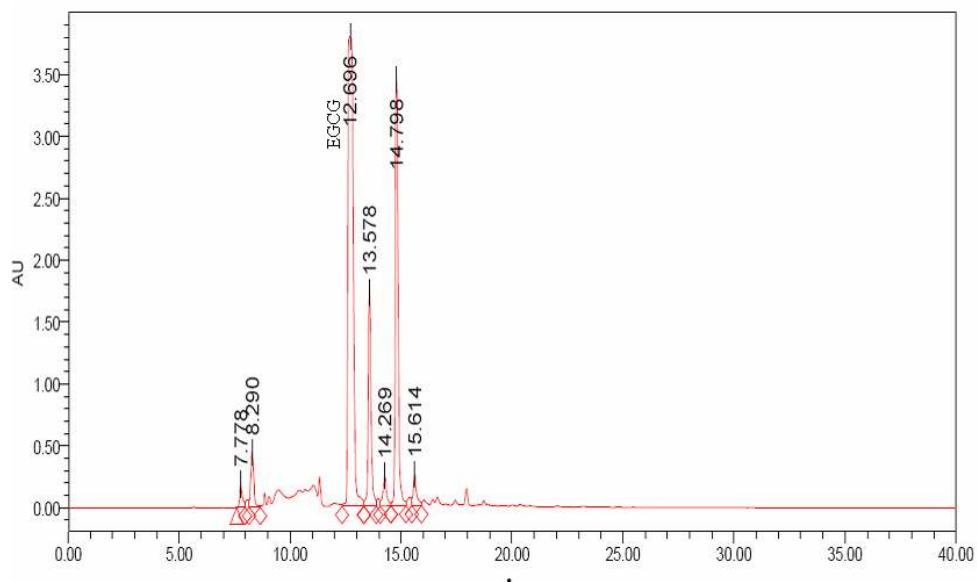


Figure 37. HPLC 분석 결과

제 5 절 카테킨 추출용 신규 공정의 개발

1. 판 크로마토그래피 도입

본 연구에서 사용한 컬럼 크로마토그래피에 대한 원리를 설명하고자 한다. 컬럼 크로마토그래피 방법은 컬럼관에 채운 실리카겔, 알루미나, 활성탄의 흡착제가 고정상이고 유기 용매가 이동상이다. 크로마토그래피를 행하는 동안에 용매인 이동상이 흐르는 방향으로 물질을 이동시키려 하고, 반대로 고정상이 이동상에 따라 흐르려고 하는 물질을 흡착하여 흐르지 못하게 하는 두 가지 힘이 작용하여 물질이 이동되는 것이므로, 두 힘의 상대적인 크기에 따라 각 물질이 다르게 이동되는 것이다. 흡착 크로마토그래피에서는 분리할 성분에 적당한 흡착제와 전개 용매를 선택하여 사용하는 것이 매우 중요하다. 흔히 많이 사용하는 흡착제는 여러 가지를 사용하는데, 이 중에서 실리카겔이 가장 많이 쓰인다. 흡착제는 활성의 강약에 따라 몇 가지를 섞어서 쓰기도 한다. 각 성분 x는 컬럼을 통과하면서 고정상(s, 충전물)과 이동상(m) 사이에서 분배가 이루어지며 분배의 정도가 어느쪽으로 치우쳤는지(이동상)를 분배계수로 나타낼 수 있다.

$$K_x = \frac{[X]_s}{[X]_m}$$

$[X]_s$: 고정상에 분배된 시료의 농도

$[X]_m$: 이동상에 분배된 시료의 농도

분배계수가 크다는 것은 성분이 고정상과 친화력이 있어서 컬럼을 천천히 통과함을 의미한다. 분배계수가 작다는 것은 성분이 고정상과 친화력이 없어서 컬럼을 빠르게 통과함을 의미한다. 이렇게 분리된 각 성분들은 이동상에 의해 컬럼의 맨 밑으로 이동한다.

본 연구에서 추출하고자하는 카테킨은 항산화 및 항암 효과, 피부미용등 효과가 가장 우수한 EGCG를 얻기 위해서 액/액 분리를 통해서 얻을 수 있었다. 그러나 액/액분리를 통해서 얻은 EGCG와 그밖의 성분은 유기용매를 사용하기 때문에 식품업계에서 사용하기에는 불가능하다. 그래서 본 연구실에는 유기용액인 클로로포름과 에틸아세테이트 공정 대신 컬럼 크로마토그래피를 도입을 하여 연구를 수행하였

다. Figure 38은 카테킨을 추출하기 위해서 사용된 컬럼 크로마토그래피의 실험 장치이다. 컬럼 크로마토그래피의 장점은 유기용매를 쓰지 않고도 카테킨이라는 성분을 추출이 가능하다는 것과 우리가 원하는 성분 하나를 선택을 해서 추출이 가능하다는 장점을 가지고 있다.

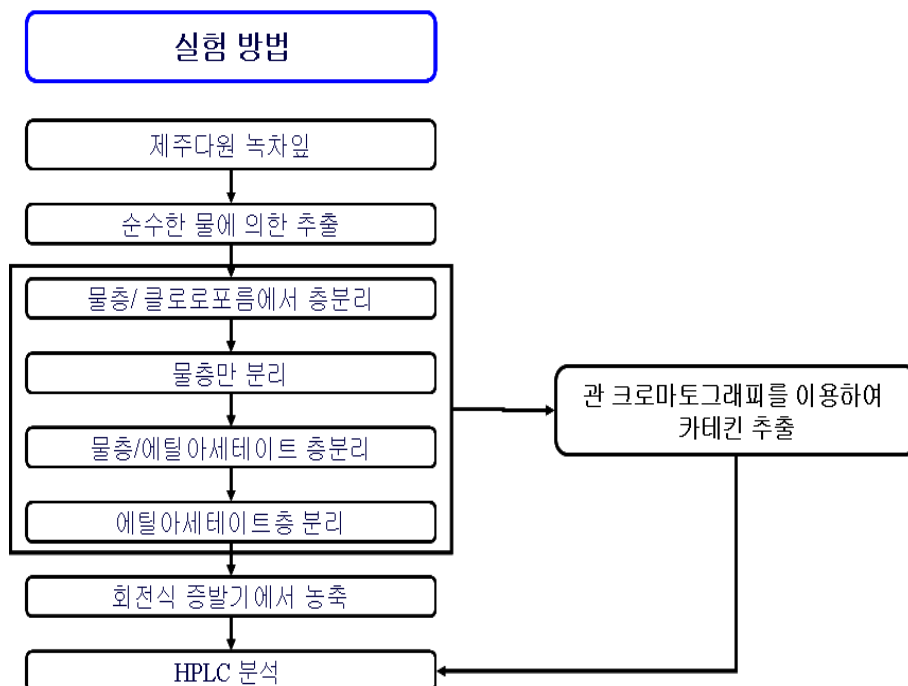


Figure 38. 녹차로부터 EGCG 추출 하기 위한 공정도

2. 관 크로마토그래피 실험방법

녹차잎을 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 pH7, 온도 80℃, 시간 60 분동안 교반기에서 교반하여 추출하였다. 준비된 컬럼 끝부분을 적당한 크기의 솜을 떼어 내어 빠지지 않도록 컬럼 끝부분을 막는다. 컬럼 안에 실리카겔을 적당한 높이까지 채우고 스탠드에 클램프를 이용하여 세운다. 이동상은 메스플라스크에 물과 아세틸나일트릴, 메탄올, 에틸아세테이트를 다음과 같은 비율(80, 16, 1:3)로 혼합하여 사용한다. 준비된 이동상을 피펫으로 뽑아내어 컬럼안에 채운 다음 이동상을 조금 더 빠르게 이동시켜 고정상을 이루는 입자 사이의 간격을 최소화하기 위해 잘 저어준다. 컬럼안에 실리카겔을 다 채운다음은 이동상을 고정상에 통과하여 빠져나올 때쯤 바이알로 이동상을 받아낸다. 채워진 이동상이 고정상의 가장 위 부분을 패킹을 한다. 고정상의 가장 위 부분까지 이동상이 내려오게 되면 혼합시료

한 두 방울을 새로운 피펫으로 고정상 위에 살짝 떨어뜨리고 혼합시료가 고정상에 모두 흡착될 때까지 기다린다. 시료가 고정상에 모두 흡착되면 준비한 이동상 몇 방울로 피펫의 벽에 묻어 있는 시료를 잘 씻어주어 모든 시료가 고정상에 완전히 흡착되도록 한다. 이 과정을 로딩(loading)이라고 한다. 실리카 겔을 통과하여 나오는 이동상은 바이알로 받아낸다. 한 바이알당 100방울씩 받아낸다. 색깔을 띤 부분이 나오기 전까지를 바이알 1에, 색깔을 띤 부분을 바이알 2에, 그리고 색깔을 띤 부분이 모두 빠져 나온 뒤의 부분을 바이알 3에 받아낸다. 샘플 로딩이 끝날 때까지 계속해서 받아낸다. Figure 39은 컬럼 크로마토그래피를 이용한 실험기구 및 장치이다.



Figure 39. 실험 방법 및 장치

3. 판 크로마토그래피 연구 결과

녹차잎을 가지고 3g에 순수한 물 100 mL를 넣고 앞에서 얻은 최적조건 (pH7, 온도 80℃, 시간 60분)을 가지고 교반기에서 교반하여 추출하였다. 순수한 물에서 나온 추출물은 카테킨 화합물을 얻기 위하여 액/액 분리 대신 컬럼 크로마토그래피를 이용하여, 유기용매를 쓰지 않고 카테킨 추출을 하는데 사용하였다.

HPLC의 분석에 앞서 녹차추출물에 들어있는 성분들을 분획하는 방법이자 선행실험으로 실리카겔 컬럼을 제작하여 분석하였다. 실리카 겔컬럼은 길이가 400이고 외경이 27인 유리관을 이용하였으며, 용매를 사용하여 매뉴얼적으로 충전하여 사용하였다. 녹차잎에서 나온 추출물을 가지고 실리카겔 (10g)를 충전제를 사용하여 추출물을 컬럼 안으로 흘려준 다음 일정시간 동안 충전제를 통과한 우리가 원하고자 하는 추출물 즉 카테킨 성분을 얻었다. 그리고 이 컬럼을 통해서 나온 추출물을 가지고 카테킨을 성분을 추출을 하기 위해서 HPLC를 분석을 수행하였다. 정지상으로 크기가 5 μ m인 C₁₈ 에 컬럼을 사용하였고, 시료의 주입량은 10 μ l이고, 이동상으로는 물과 아세틸나이트릴을 사용하였다. 이동상의 유속은 1.0 mL/min으로 하고 UV파장은 280nm로 사용을 하였다.

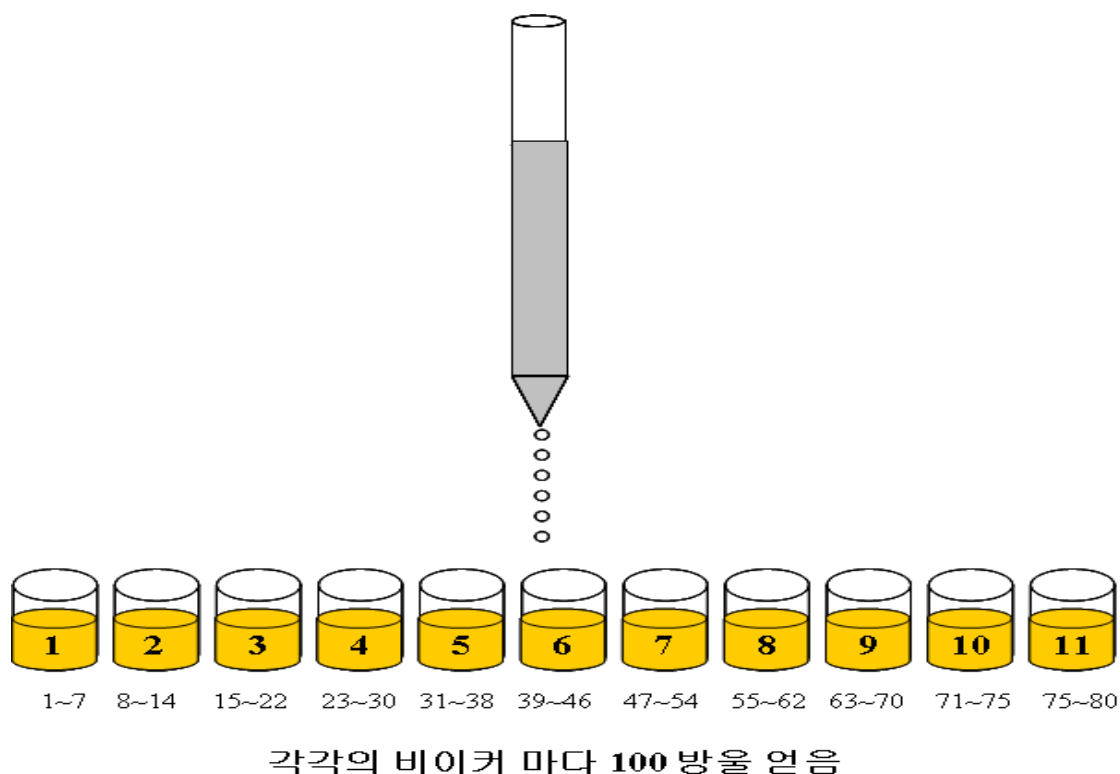


Figure 40. 컬럼 크로마토그래피에서 샘플 추출

Figure 40에서는 컬럼 크로마토그래피의 샘플을 얻는 과정을 그림으로 나타내었다. 비이커 한 개당은 바이얼이 7개씩 들어가 있고, 한 바이얼당 100방울을 카테킨 추출물을 얻었다. 위에서 언급한 HPLC 분석방법을 이용하여 Figure 39을 보면 비이커 1,2에서는 우리가 원하고자하는 성분인 EC, ECG, EGC, EGCG인 성분

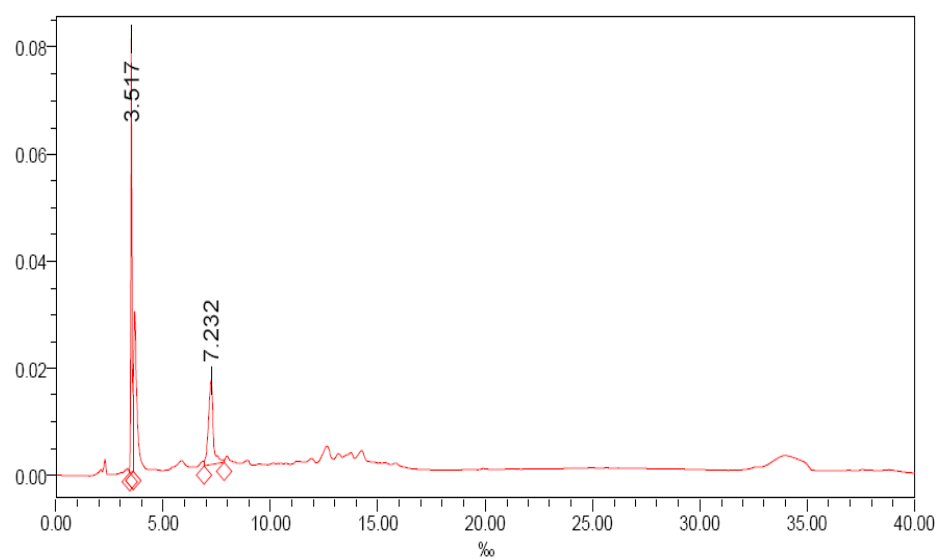
은 확인 되지 않았다. 비이커 3에서는 컬럼 크로마토그래피에서 나온 샘플들을 분석해본 결과는 EGC라는 카테킨 성분을 얻을 수 있었고, 이때의 RT값은 3.517과 7.232시간에서 두 개의 피크가 나왔고, standard와 비교분석을 하였을때 거의 비슷하게 나왔음을 확인되었다. 그 외 다른 성분은 확인이 되지 않았다 (Figure 41 (a)).

비이커 4에서는 카테킨 성분인 EC, EGC, EGCG 성분과 카테인이 검출되었다. 한꺼번에 한 비이커에서 카테킨 성분이 많은 발생한 이유는 한 비이커당 바이얼이 개수는 7개이며, 한 개의 바이얼마다 HPLC를 분석을 하였기 때문이다. Figure 41 (b)는 카테킨 성분중에 EGC+caffeine이라는 성분이며, 이때의 RT값은 8.084시간에 나왔고, 그 외 다른 시간에서 카테킨의 성분이 나타나지 않았다. 그리고, EC 성분은 RT값이 11.134시간에 나왔으면 Figure 41(c)에 나타내었다. 그리고 앞에 작은 피크는 불순물이라고 생각되며, 약간의 불순물 외에 다른 성분들은 확인이 되지 않았다. 비이커 4에서의 피크는 EGCG 성분도 나왔으면, 이때의 RT값은 12.466시간에 나왔다. 여러 가지 카테킨 성분중에 가장 효과 좋은 것은 EGCG 이다 (Figure 41(d)).

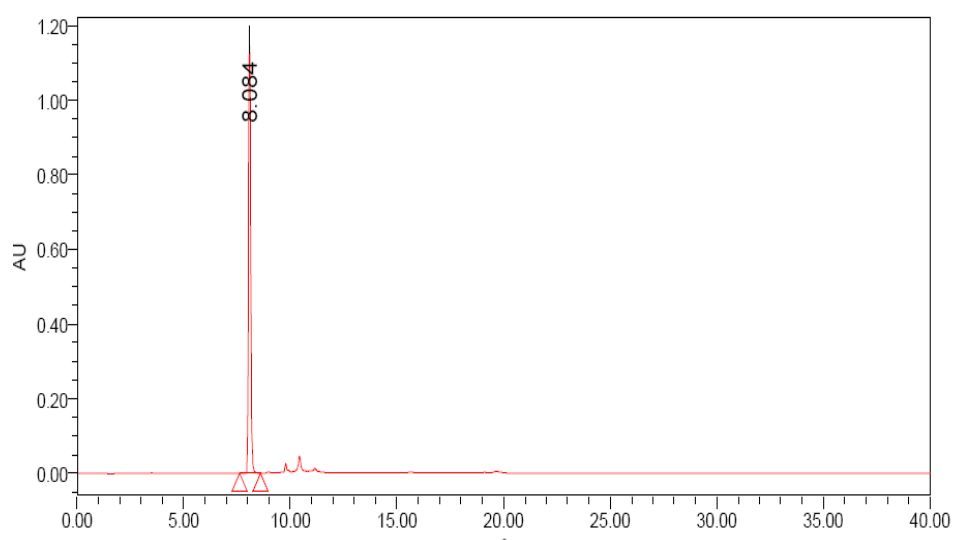
마지막으로 카테킨 성분이 나온 비이커 6에서는 ECG라는 성분이 검출되었다. 이때의 RT값은 14.644시간으로 나타내었다. 그리고 그 외의 불순물들이 조금 발생하였다. 다른 카테킨 성분은 확인이 되지 않았다. 그러나 비이커 6 다른 바이얼에서는 13.787 그리고 14.106의 RT값은 검출되었다. 여기서 검출된 피크는 EGCG외의 4가지 카테킨의 아닌 다른 카테킨 성분일 수도 있다는 것을 가정할 수 있을 것이다. 그 이후의 비이커에서는 (5, 7, 8, 9, 10) 카테킨 성분을 확인을 할 수 없었다.

이 결과로 컬럼 크로마토 그래피를 이용하여 카테킨 추출을 한 결과 우리가 원하고자 하는 EGCG 외에 EC, EGC, ECG, EGCG, 카테인등의 성분을 추출이 가능하게 되었다. 앞으로 이 방법을 개선을 한다면 카테킨 뿐만 아니라 다른 원료 추출물들을 좀 더 쉽고, 우리가 원하고자 하는 고순도의 카테킨 또는 추출물을 얻을 수 있을 것이다. 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 카테킨 추출은 매우 쉽고, 빠르게 녹차가 가지고 있는 층들을 분리할 수 있는 장점을 가지고 있다. 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 카테킨 추출공정은 현재 특허 출원 하였다 (10-2006-0114486: 한국).

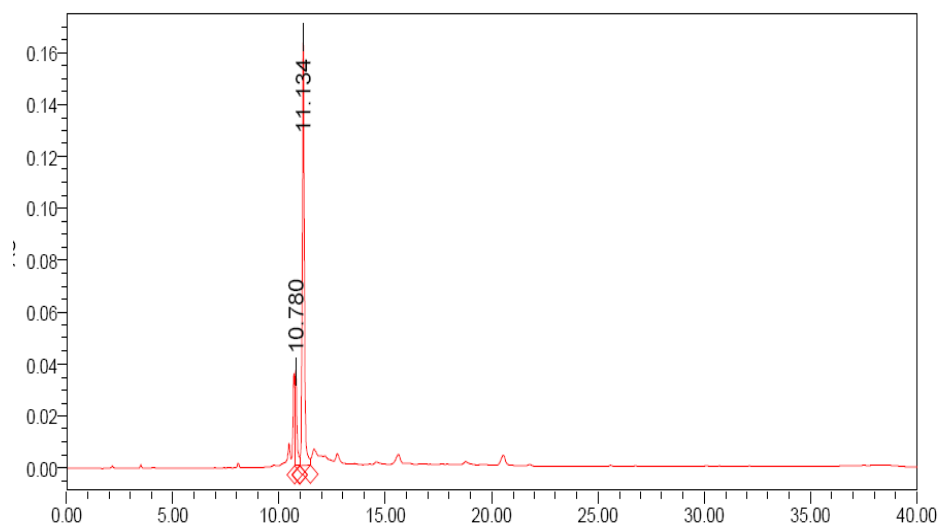
(a)



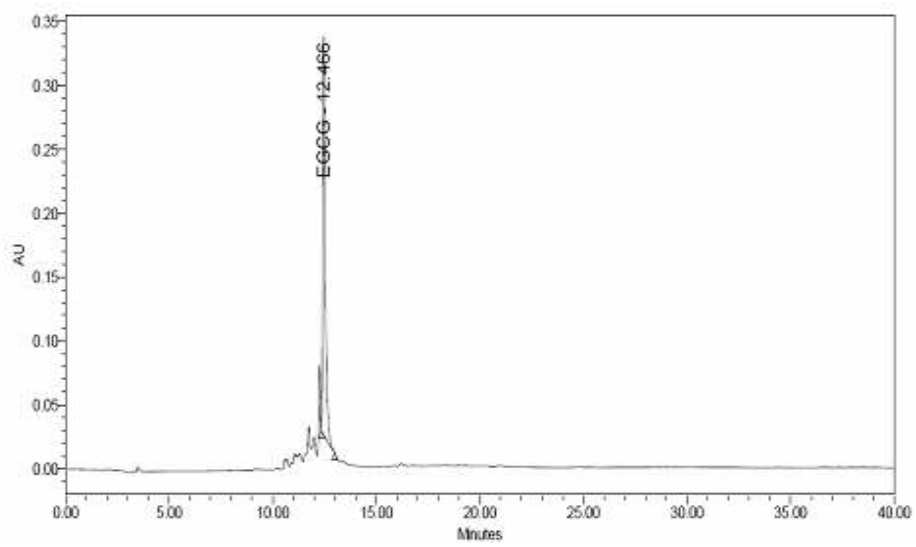
(b)



(c)



(d)



(e)

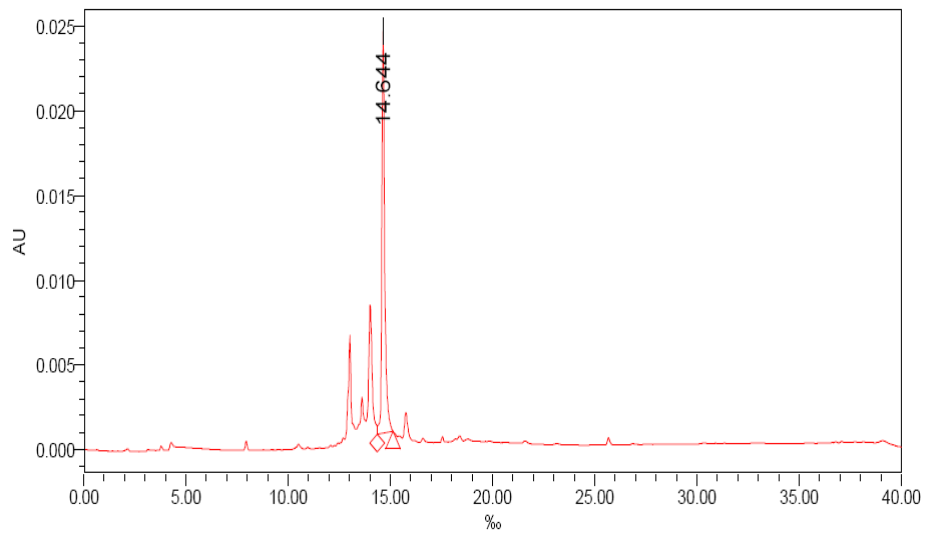


Figure 41. HPLC 분석 결과

(a) EGC (b) EGC+caffeine (c) EC (d) EGCG (e) ECG

제 4 장 결 론

제 1 절 주요 결과 요약

본 연구는 나노 기술을 이용한 가루녹차 개발 및 카테킨 추출 정제기술 개발에 관한 것으로 주요 연구 성과를 요약하면 아래와 같다.

- (1) 녹차잎의 수확시기에 따른 카테킨류의 변화는 대체로 첫물차 원료로 생산하는 시기인 4월에 가장 많이 함유하였고, 이후 점차 낮아지다가 8월에 증가하는 경향이었다. 어린순을 2~3번 수확하는 시기에 생산하는 두물차 및 세물차에서 카테킨 함량이 매우 낮게 나타났다. 이 결과를 토대로 녹차의 품질을 기능성면에서 접근 할 때, 첫물차가 가장 좋다고 판단하였고, 카테킨의 추출, 정제를 위한 차나무에서 어린순의 채엽시기는 카테킨 함량이 8월에 급증하는 것으로 보아 8월 이후에 채엽하는 것이 경제적이고 수율을 많게 하는 시기라 판단된다.
- (2) 시기별 카테킨류의 조성을 보면, 대부분 4월애가 가장 높은 함량을 보였고, 이후 감소하다가 8월에 증가하는 경향이었다. EC 성분은 4월에서 8월까지 변화가 거의 없이 일정한 함량을 유지하였고, EGCG, GCG는 8월에 급격히 증가하는 경향이며, GC는 4월부터 8월까지 지속적인 증가하였고, GA는 5월 까지 급격히 감소한 다음 이후 일정한 함량을 유지하는 변화 양상을 보였다.
- (3) 차나무 부위별 카테킨 함량은 잎의 함량이 매우 높았고, 어린가지의 함량이 비교적 높았다. 특히 EC는 어린가지의 함량이 잎과 비슷한 수준을 나타냈다. 잎 중에서도 어린 싹이 구엽에 비해 다소 카테킨 함량이 높게 나타났으며, 줄기와 뿌리는 소량 함유하고 있는 것으로 나타났다.
- (4) 품종에 따른 잎부위의 카테킨 함량은 메이료꾸가 타 품종에 비해 총함량이 높은 수준이었고, 후순이 다소 낮은 함량을 나타냈다. 특히 건강 기능 효과와 음용시 맛에 영향을 미치는 EGC와 EGCG의 함량은 야부기다와 메이료꾸의 경우 총함량의 56.3%, 52.7%로 높은 경향이었다. 그러나 수세가 강건하며 수량성이 높은 후순의 경우 44%로 낮은 경향이었다.

- (5) 1차년도에서는 맛, 색, 향 면에서 기호도가 낮은 선호도를 보여 가루녹차에 적합한 녹차를 찾고 제조 방법 등을 개선함으로써 2차년도에서는 분쇄기 개량 및 분급기 개발등을 통해서 맛, 색, 향 면에서 기호도가 높은 선호도를 보여주었다. 1,2차년도 과제 수행기간동안에는 시판 제품보다 1/5이상 미세한 가루녹차를 개발하여 기호도가 높은 가루녹차를 확보하였다.
- (6) 2차년도의 분쇄기 개량 및 분급기 개발을 통해서 나노급 녹차 생산이 가능하게 하였다. 본 연구에서 개량된 분쇄기는 작업 능력을 높일 수 있었고, 연속 작업을 가능하게 하며, 분쇄물 투입 속도를 향상시켰다. 그리고 분급기 개발을 함으로써 1단인 원형모양에서 5단이상인 판형모양으로 변경함으로써 나노급 가루녹차분말을 생산할 수 있었다.
- (7) 시제품은 제주다원에서 '04년 9월에 수확한 녹차 잎을 본 연구에서 개발한 초미세분말 제조공정을 통하여 시제품을 생산하고 생산된 시제품을 가지고, 기존 제품인 동원(보성), 티젠, 태평양, 다견원(일본)을 가지고 pH, 입도, 색도, 분산안전성, SEM 분석, 관능검사에 대한 시험 분석을 하였다. 관능검사를 살펴보면, 1차년도의 관능검사는 제주다원의 샘플이 선택과 향기 맛 등에서 다른 샘플에 비해 매우 낮은 기호도를 얻은 반면, 2차년도의 관능검사는 종합적인 기호도에서는 제주다원에서의 샘플의 가장 좋은 선호도 점수를 얻었다.
- (8) 고순도의 카테킨 함량을 얻기 위해서 여러 가지 변수 조건을 이용하였다. 그 결과 pH 7에서가 가장 좋은 카테킨함량을 얻었고, 온도 조건에서는 온도 80℃에서 최적 조건으로 잡았다. 이때의 카테킨 함량이 15.8%를 얻었다. 시간에 따른 카테킨함량은 분석을 해본 결과 60분이후에는 거의 비슷한 수준인 3.0%~3.3%으로 나타내었다. 이 실험 결과로 카테킨을 추출을 하는데 최적 시간은 60~90분으로 정하였다.
- (9) 분배 방법에 따른 카테킨 함량은 에틸아세테이트에서 얻어진 카테킨함량은 여과액, 1,2차 클로로포름에서 추출된 카테킨함량보다 약 60%이상 얻을 수 있었고, 이때의 카테킨함량은 80%이상 얻을 수 있었다. 결과적으로 아세테이트 분배방법을 이용함에따라 카테킨함량이 가장 높은 결과를 얻을 수 있었다.

- (10) 본 연구 통해서 얻은 최적조건상태에서 얻은 추출물을 가지고 HPLC를 분석한 결과 12.69 시간에서 EGCG가 확인 되었다.
- (11) 컬럼 크로마토그래피를 이용하여, HPLC를 분석한 결과 EGCG 성분은 12.46 시간에서 나왔다. 앞으로 이 방법을 개선을 한다면 카테킨 뿐만 아니라 다른 원료 추출물들을 좀 더 쉽고, 우리가 원하고자 하는 고순도의 카테킨 또는 추출물을 얻을 수 있을 것이다.

제 2 절 기대 및 파급효과

녹차는 고부가가치의 식품으로써 녹차의 효능이 알려지면서 녹차를 이용한 가공품 개발과 관광 상품화를 통하여 최근에 녹차산업에 대한 관심이 크게 높아지고 있다. 녹차는 이제 단순히 마시는 음료의 영역을 넘어 건축자재나 직물 등 다양한 소재로도 활용되고 있기까지 하다. 이렇듯 녹차 산업은 급격히 발전하고 있어 1인당 연간 녹차 소비량이 1991년에 8.5 g, 1995년 10.0 g, 2000년 37.9 g 2003년에는 80 g 으로 꾸준히 크게 증가되고 있으며, 이런 증가추세로 보았을때 2010년에는 약 150g이상 소비량이 증가할 것으로 기대하고 있다. 재배면적도 1991년 507 ha, 1995년 715 ha, 2000년에 1,505 ha로 큰 폭으로 늘어나고 있다. 영국이나 일본의 경우 연간 일인당 녹차 소비량이 2,330 g 과 1,080 g인 것을 감안할 때 향후 국내 녹차 시장의 잠재 수요는 현재 30배가 넘을 것으로 예측된다.

제주지역 녹차산업은 현재 성장기에 있는 산업으로써 경쟁력 향상이 빠르게 진행되고 있는 실정이다. 제주다원은 공동 수행하고 있는 참여기업의 분쇄기술이 다른 분쇄기보다 뛰어나기 때문에 향후 가격 경쟁력이 크게 호전될 것으로 기대하고 있으며, 현재 일본으로 수출을 하고 있으면, 일본과의 대등한 수준의 경쟁력 확보가 이루어져 있고, 앞으로 더 발전할 수 있을 것으로 전망하고 있다. 감귤 대체작물로서 특색있는 식품으로 만들기 위해서는 친환경재배를 촉진시켜 고품질 명품 브랜드를 육성할 것으로 보고 있다.

기능성 녹차 미용제품 용도는 녹차의 카테킨 성분 및 비타민 C를 활용한 기능성 미용 제품 제품유형으로 미백녹차 비누, facial wash, body wash, 세안팩, 기능성 녹차 미백 화장품, 기능성 녹차향균 화장품, 녹차 화장수 등 뿐만아니라 음료 시장에 녹차의 카테킨 성분의 첨가된 다이어트용 건강기능성 식품인 드링크, 주류, 액상제품등으로 많은 육성할 것으로 보고 있다. 향후 녹차 산업을 부가가치가 큰 산업으로 발전시키기 위해서는 화장품, 음료, 식품 등 다양한 상품개발을 위한 연구개발이 가능할 것으로 보고 있다.

제 5 장 부록

제 1 절 참고 문헌

1. Bao, T.Z., Nalin, T., Daniel, P.L., Douglas, A.B., Allan, H.C., (1998). Effects of tea polyphenols and flavonoids on liver microsomal glucuronidation of estradiol and estrone. *Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology* 64, 207-215.
2. Chang, C.J., Chiu, K.L., Chen, Y.L., Chang, C.Y., (2000). Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food Chemistry* 68, 109-113.
3. Copeland, E.L., Clifford, M.N., Williams, C.M., (1998). Preparation of (-)-epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition. *Food Chemistry* 61, 81-87.
4. Han, C., (1997). Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols. *Cancer Letters* 114, 153-158.
5. Ian, R.R., Dreosti, I.E., (1998). Protection by black tea and green tea against UVB and UVA + B induced skin cancer in hairless mice. *Mutation Research* 422, 191-199.
6. Kang, W.S., Lim, I.H., Yuk, D.Y., Chung, K.H., Park, J.B., Yoo, H.S., Yun, Y.P., (1999). Antithrombotic activities of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate. *Thrombosis Research* 96, 229-237.
7. Masami, S., Sachiko, O., Naoko, S., Eisaburo, S., Satoru, M., Kazue, I., Kei, N., Hirota, F., (1999). Green tea and cancer chemoprevention. *Mutation Research* 428, 339-344.
8. Melissa, K., George, L., (2000). Effects of epigallocatechin gallate and quercetin on oxidative damage to cellular DNA. *Mutation Research* 459, 211-218.
9. Mukhtar, H., Ahmad, N., (2000). Prevention of cancer and optimizing

- health. *American Journal of Clinical Nutrition* 72, 1698–1704.
10. Victor, N., Mitsutoshi, N., Tong, J., Ichikawa, S., (1999). Solubility study of green tea extracts in pure solvents and edible oils. *Journal of Food Engineering* 40, 161–165.
 11. Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., Jang, J., (1995). Plant flavonols are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 2800–2802.
 12. Wang, H., Keith, H., (2000). Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chemistry* 70, 337–344.
 13. Yoshida, Y., Masaaki, K., Tetsuhisa, G., (1999). Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chemistry* 67, 429–433.
 14. Bae, H. D., McAllister, T. A., Muir, A. D., Yanke, L. J., Bassendowski, K. A., & Vheng, K. J. (1993). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1256–1260.
 15. Chang, C. J., Chiu, K. L., Chen, Y. L., Chang, C. Y. (2000). Separation of catechins from green tea using carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*, 68, 109–113.
 16. Gupta, S., Saha, B., Giri, A. K. (2002). Comparative antimutagenic and anticlastogenic effects of green tea and black tea: a review. *Mutation Research*, 512, 37–65.
 17. Hartmann, M., Baumberger, F. (2000). Good reasons to drink tea: the healthy components are not extracted during decaffeination. *Chimia*, 54(5), 325–326.
 18. Ho, C. T., Chen, C. W., Wanasundara, U. N., Shahidi, F. (1997). *Natural antioxidants from tea in natural antioxidants 213223*. Champaign, IL: AOCS Press.
 19. Kuroda, Y., Hara, Y. (1999). Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea polyphenols. *Mutation Research*, 436, 69–97.
 20. Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., Hara, K. (1993). Studies on preservation of constituents in canned drinks. 2.

- Effects of pH and temperature on reaction–kinetics of catechins in green tea infusion. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 57(6), 907–910.
21. Lack, E., Seidlitz, H. (1992). Commercial scale decaffeination of coffee and tea using supercritical CO₂. In M. B. King., T. R. Bott (Eds.). *Blacky extraction of natural products using near–critical solvents*. Academic & Professional.
 22. Lack, E., Seidlitz, H., Glanz, E. (2001). personal note. Project from 5th EU Framework Programme: Product Engineering for nutraceuticals with superior quality (no. G1RD–1999– 10212).
 23. Leung, A. Y., Foster, S. (1996). *Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics* 489491 (2nd ed.). John Wiley & Sons Inc.
 24. Lunder, T. L. (1992). Catechins of green tea: antioxidant activity. *Phenolic compounds in food and their effects on health*. American Chemical Society, 114–120.
 25. McKay, D. L., Blumberg, J. B. (2002). The role of tea in human health: an update. *Journal of the American College of Nutrition*, 21, 113.
 26. McMurrough, I., McDowell, J. (1978). *Analytical Biochemistry*, 91, 92–100.
 27. Nakabayashi, T., Ina, K., Sakata, K. (1994). *Chemistry and function of green tea, black tea and oolong tea*, Kawasaki, Japan, Kogaku shuppan, 20–42.
 28. Otto, W. (2001). Standard operating procedure for quantification of catechins and caffeine in green tea samples. Kulmbach, Germany: RAPS GmbH & Co. KG.
 29. Porter, L. J., Hrstich, L. N., Chan, B. G. (1986). *Phytochemistry*, 25(1), 223–230.
 30. Sueoka, N., Suganuma, M., Sueoka, E., Okabe, S., Matsuyama, S., Imai, K., et al. (2001). A new function of green tea: prevention of lifestyle–related diseases. *Annals of NewYork Academic Science*, 928, 274–280.

31. Wang, H., Helliwell, K. (2000). Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chemistry*, 70, 337–344.
32. Wang, H., Helliwell, K. (2001). *Food Research International*, 34, 223–227.
33. Yoshida, Y., Kiso, M., Goto, T. (1999). Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chemistry*, 67(4), 429–433.
34. H. Wang, G.J. Provan, K. Helliwell, (2000). Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis, *Trends Food Sci. Technol*, 11, 152–160.
35. T. Goto, Y. Yoshida, (1999). Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea, *Meth. Enzymol.* 299, 107–113.
36. A.G.F. Stapley, (2002). Modelling the kinetics of tea and coffee infusion, *J. Sci. Food Agric.* 82 , 1661–1671.
37. W.E. Price, M. Spiro, (1985). Kinetics and equilibria of tea infusion: rates of extraction of theaflavin, caffeine and theobromine from several whole teas and sieved fractions, *J. Sci. Food Agric.* 36,1309–1314.
38. M. Spiro, D.S. Jago, (1982). Kinetics and equilibria of tea infusion, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 178, 295–305.
39. M. Spiro, S. Siddique, (1981). Kinetics and equilibria of tea infusion: kinetics of extraction of theaflavins, thearubigins and caffeine from Koonsong Broken Pekoe, *J. Sci. Food Agric.* 32, 1135–1139.
40. M. Spiro, S. Siddique, (1981). Kinetics and equilibria of tea infusion. Analysis and partition constants of theaflavins, thearubigins, and caffeine in Koonsong Broken Pekoe, *J. Sci. Food Agric.* 32, 1027–1032.
41. C.P. Natarajan, S. Ramamani, D.E. Leelavathi, R. Shakunthala, D.S. Bhatia, Y. (1962). Subrahmanyam, Studies on the brewing of tea, *Food Sci.* 11, 321–332.
42. H. Sakakibara, Y. Honda, S. Nakagawa, H. Ashida, K. Kanazawa, (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas, *J. Agric. Food Chem.* 51, 571–581.
43. H.M. Merken, G.R. Beecher, (2000). Measurement of food flavonoids by high–performance liquid chromatography: a review, *J. Agric. Food Chem.*

- 48, 577–599.
44. P.L. Fern ´andez, M.J. Martin, A.G. Gonz ´alez, F. Pablos, (2000). HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas, *Analyst* 125, 421–425.
 45. W.E. Bronner, G.R. Beecher, (1998). Method for determining the content of catechins in tea infusions by high–performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 805, 137–142.
 46. D.A. Balentine, S.A. Wiseman, L.C.M. Bouwens, (1997). The chemistry of tea flavonoids, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37, 693–704.
 47. G.W. Sanderson, (1972). The chemistry of tea and tea manufacturing, in: V.C. Runeckles (Ed.), *Structural and Functional Aspects of Phytochemistry*, Academic Press, New York, 247–316.
 48. W.E. Price, J.C. Spitzer, (1993). Variation in the amounts of individual flavanols in a range of green teas, *Food Chem.* 47, 271–276.
 49. K.T. Chung, C.I. Wei, M.G. Johnson, (1998). Are tannins a double–edged sword in biology and health, *Trends Food Sci. Technol.* 9, 168–175.
 50. M. Kumamoto, T. Sonda, (1998). Evaluation of the antioxidative activity of tea by an oxygen electrode method, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62, 175–177.
 51. K. Horikawa, L. Mohri, Y. Tanaka, H. Tokiwa, (1994). Moderate inhibition of mutagenicity and carcinogenicity of benzo[*a*]pyrene, 1,6–dinitropyrene and 3,9–dinitrofluoranthene by Chinese medicinal herbs, *Mutagenesis* 9, 523–526.
 52. S. Kono, M. Ikeda, S. Tokudome, M. Kuratsume, (1988). A case–control study of gastric cancer and diet in northern Kyushu, Japan, *Jpn. J. Cancer Res.* 79, 1067–1074.
 53. E.L. Copland, M.N. Clifford, C.M. Williams, (1998). Preparation of (?)–epigallocatechin gallate from commercial green tea by caffeine precipitation and solvent partition, *Food Chem.* 61, 81–87.
 54. Q.Z. Du, M.J. Li, Q. Cheng, C.Y. Lu, (1997). The study on separation

- catechins from tea leaves and transforming gallate–catechins into nongallate–catechins, *Res. Dev. Basic Agric. High Technol.* 1, 40–47.
55. Q.Z. Du, C.Q. Ke, Y. Ito, (1998). Separation of epigallocatechin gallate and gallocatechin gallate using multiple instruments connected in series, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 21, 203–208.
 56. D. Labbé, M. Araya–Farias, A. (2005). Tremblay, L. Bazinet, Electromigration feasibility of green tea catechins, *J. Membr. Sci.* 254, 101–109.
 57. W.E. Price, J.C. Spitzer, (1994). The kinetics of extraction of individual flavanols and caffeine from a Japanese green tea (Sen Cha Uji Tsuyu) as a function of temperature, *Food Chem.* 50, 19–23.
 58. H. Wang, K. Helliwell, X. You, (2000). Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC, *Food Chem.* 68, 115–121.
 59. J.J. Dalluge, B.C. Nelson, J.B. Thomas, L.C. Sander, (1998). Selection of column and gradient elution system for the separation of catechins in green tea using high–performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 793, 265–274.
 60. M. Friedman, H.S. Jürgens, (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds, *J. Agric. Food Chem.* 48, 2101–2110.
 61. L. Bazinet, F. Lamarche, R. Labrecque, R. Toupin, M. Boulet, D. Ippersiel, (1997). Electroacidification of soybean proteins for production of isolate, *Food Technol.* 51 (9), 52–56, 58, 60.
 62. J.O.M. Bockris, A.K.N.R. Reddy, (1993,). Ion transport in solutions, in: *Modern Electrochemistry*, Plenum Rosetta, New York, 287–460.
 63. V. Sharma, A. Gulati, S.D. Ravindranath, (2005). Extractability of tea catechins as a function of manufacture procedure and temperature of infusion, *Food Chem.* 93, 141–148.
 64. S. Khokhar, S. Venema, P.C.H. Hollman, M. Dekker, W. Jongen, (1997). A RP–HPLC method for the determination of tea catechins, *Cancer Lett.*

114, 171–172.

65. A. Dulloo, C. Duret, L. Giradier, (1999). Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 1040–1045.
66. Y.-H. Kao, A. Hiipakka, S. Liao, (2000). Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate, *Endocrinology* 141, 980–987.
67. J- I Kim, S- B Hong, K-H Row, (2002). Effect of particle size in preparative reversed-phase high-performance liquid chromatography on the isolation of epigallocatechin gallate from Korean green tea, *Journal of Chromatography A*. 949, 275–280
68. K-H Row, Y-Z Jin, (2006). Recovery of catechin compounds from Korea tea by solvent extraction, *Bioresource Technology*. 97, 790–793
69. S. Mandel, O. Weinreb, T. Amit, M.B. Youdim, (2004). Cell signaling pathways in the neuroprotective actions of the green tea polyphenol (–)-epigallocatechin-3-gallate: implications for neurodegenerative diseases, *J. Neurochem.* 88 (6), 1555–1569.
70. D.S. Wheeler, J.D. Catravas, K. Odoms, A. Denenberg, V. Malhotra, H.R. Wong, (2004). Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived polyphenol, inhibits il-1 β -dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells, *J. Nutr.* 134 (5), 1039–1044.
71. H.N. Yu, J.J. Yin, S.R. Shen, (2004). Growth inhibition of prostate cancer cells by epigallocatechin gallate in the presence of Cu²⁺, *J. Agric. Food Chem.* 52 (3), 462–466.
72. S-H Choi· B-H Lee· H-D Choi, (1992). Analysis of Catechin Contents in Commercial Green Tea by HPLC, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21(4), 386–389.
73. 오구니 이타로 외, (2003). 만병을 고치는 녹차 혁명, 예담.

74. 나효환, (1992). 녹차의 카테킨류 분석법 개선, 한국인삼연초연구소, 분석센터,
75. 박동준 외, (1998). 분말식품 소재의 고도용해성 부여기술 개발, 한국식품개발
연구원,
76. 김정일, 노경호, (2001). 용매 추출과 분배에 의한 한국산 녹차로부터 카테킨
화합물의 회수, 한국생물공학회지. 16 (5), 442-445.
77. 강지훈, 박영광, 정성택, 노경호, (1999). 녹차로부터 EGCG(Epigallocatechin
Gallate)의 추출 및 정제, 한국생물공학회지. 14 (5), 517-522.
78. 나영진, 이윤우, 김재덕, 노경호, (2001). 녹차에서 카테킨 화합물의 초임계 유
체 추출, 한국생물공학회지. 16(4), 327-331
79. 위지향, 문제학, 박근형, (1999). 국내산 다엽의 채취시기별 카테킨의 함량 및
조성, KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. 31, 20-23
80. 박수남 외, (주) 태평양, 녹차플라보노이드추출방법, 특허출원번호 10-1991
-0011858

제 2 절 관능평가 용지

성별:

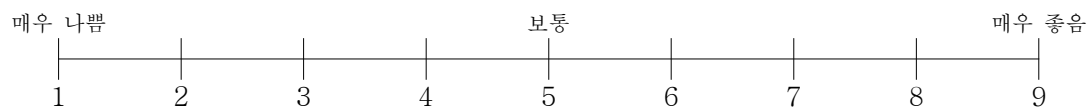
나이:

2006. 4.

분말녹차입니다.

다음의 시료들을 보시고 선택, 향기, 맛과 종합적 기호도에 따른 점수를 기입하여 주십시오.

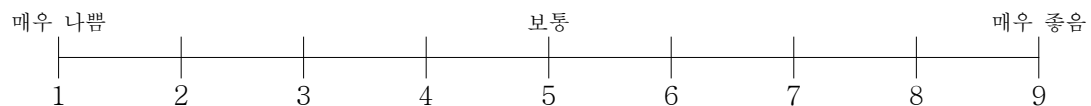
1. 선택



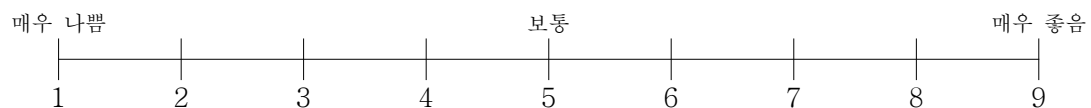
2. 향기



3. 맛



4. 종합적 기호도



기타 소견 :

제 3 절 연구 실적

1. 연구수행결과 현황 (연구종료시점까지)

가. 특허(실용신안) 자료목록

발명 명칭	공고일자 출원(등록)번호	발명자 (출원인)	출원국	비 고
카테킨 추출 방법	10-2006-0114486 (2006.11.20)	제주다원영농조합법인 신성산업 주식회사 (재)제주하이테크산업진흥원 나노파우더 (주)	한국	
가루녹차 제조 방법		제주다원영농조합법인 신성산업 주식회사 (재)제주하이테크산업진흥원 나노파우더 (주)	한국	

나. 상표(실용신안) 자료목록

발명 명칭	공고일자 출원(등록)번호	발명자 (출원인)	출원국	비 고
茶&美	40-2006-0057117 (2006.11.10)	제주다원 영농조합법인	한국	
茶모아	40-2006-0057118 (2006.11.10)	제주다원 영농조합법인	한국	

다. 논문게재 및 발표 실적

○ 논문 게재 실적(필요시 별지 사용)

학술지 명칭 (총 2건)	제목	게재 년도	호	발행기관	국명	SCI 여부
<i>Korean J. Biotechnol. Bioeng.</i>	Process Development for the Recovery of Catechin Compounds from Green Tea Using Glass Column Chromatography	게재 준비중		한국생물 공학회	Korea	
<i>Korean J. Biotechnol. Bioeng.</i>	Comparative Study on the Processing Method for Ultramicro-Powdered Green Tea	게재 준비중		한국생물 공학회	Korea	

○ 학술회의 발표 실적(필요시 별지 사용)

국내외 구분	저자명	제목	학술대회 명칭	개최기간 및 장소	년도
국내	이호상 고대수 문세미 이현주 서인수	Process Development for the Recovery of Catechin Compounds from Green Tea Using Glass Column Chromatography	한국 미생물학회 연합국제 학술대회	서울교육 문화회관 (10/19~20)	2006
국내	문세미 이현주 박동준 고대수 서인수	Comparative Study on the Processing Method for Ultramicro-Powdered Green Tea	한국응용 생명화학회 추계국제 학술대회	경주 콩코드 호텔 (10/26~27)	2006

Process Development for the Recovery of Catechin Compounds from Green Tea Using Glass Column Chromatography

Ho-Sang LEE¹, Dae Soo GO¹, Se Mi MUN², Heon Joo LEE², In Soo SUH^{3*}

Jeju Greentea, 50 san, Seakdal-dong, Seogwipo-si, Jeju, 697-130, Korea¹

Shin Sung Ind. Co., Ltd., 3Ba 903, Factory Sihwa Ind. Complex, Siheung-si,

Gyeonggi-Do, 429-936, Korea²

Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, 4-8 Ara-1-dong, Jeju-si, Jeju, 690-121, Korea³

Catechin compounds are bioflavonoids, polyphenols and powerful antioxidants, and the green tea is one of the best catechin sources: epicatechin (EC), epicatechin gallate (ECG), epigallocatechin (EGC), epigallocatechin gallate (EGCG). In this study, the process for the recovery of catechins from the green tea was developed by using the chromatographic method. The green tea leafs, farmed on the flanks of Mt. Halla (Jeju, Korea), were prepared and extracted with water at 80°C during 1 hour (pH 7). Then the leaf extract was eluted into the glass chromatography column (outer diameter = 2.7 cm, length = 40 cm) packed with silica gel (Waters Co. 34 Maple street, Milford, MA 01757: Prep C18 125A 55-105 mm: 10 g). The eluates were collected and injected into the HPLC system (Waters: 2696 separations module and 2996 photodiode array detector, Column: Symmetry RP₁₈ 5m:4.6 X 250mm) after syringe filtration. As a control experiment, the leaf extract was also partitioned with chloroform and then with ethyl acetate. These solvents were used for remove caffeine impurity and purify the catechins. This comparative study clearly showed that the chromatographic method in this study can simplify the purifying process and reduce the harmful solvent. Furthermore the column chromatographic method is a good candidate to separate catechins selectively on a commercial scale.

Keywords: Catechin, Green tea, EGCG, Column chromatography

Comparative Study on the Processing Method for Ultramicro-Powdered Green Tea

Se Mi MUN¹, Heon Joo LEE¹, Dong June PARK², Dae Soo GO³, In Soo SUH^{4*}

*Shin Sung Ind. Co., Ltd., 3Ba 903, Factory Sihwa Ind. Complex, Siheung-si,
Gyeonggi-do, 429-936, Korea¹*

*Korea Food Research Institute, San46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Sungnam-si,
Gyeonggi-do 463-746, Korea²*

*Jeju Greentea, 50 san, Seakdal-dong, Seogwipo-si, Jeju, 697-130, Korea³
Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, 4-8 Ara-1-dong, Jeju-si, Jeju,
690-121, Korea⁴*

Green tea is now one of the most popular and healthful drinks, and the various powder products have emerged into mass market. This study focused on the development of ultramicro-powdered green tea by using novel muller, Manamill (PCT/KR2004/000896), which conducts cold mulling of the material or maintains the temperature by employing a cooling system to prevent the generation of heat due to inter-material collision. The green tea leaves, farmed on the flanks of Mt. Halla (Jeju, Korea), were prepared and processed to their powder. From the viewpoint of pulverization efficiency, the Manamill was compared by Ball mill, Pin mill, and Jet mill. And the powder product in this study was also compared by four commercial products of green tea powder. The powder samples were measured by particle size analyzer (Campagne Industrielle Des Lasers, CILAS 1064, France), chromameter (CR-300, Minolta, Japan), SEM (S-2380N, Hitachi, Japan) etc. This comparative study clearly showed that the processing method in this study can produce high-quality, ultramicro-powdered green tea (mean diameter = 9.5 μm). And further study is required on processing-cost reduction and scale-up problem for commercial production of green tea powder.

Keywords: Green tea, Powder, Muller, Mill, Processing

주 의

1. 이 보고서는 산업자원부에서 시행한 지역산업기술개발사업(공통기술개발사업)의 기술개발 보고서이다.
2. 이 기술개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 산업자원부에서 시행한 지역산업기술개발사업(공통기술개발사업)의 기술개발결과임을 밝혀야 한다.