

발효정도에 따른 국내산 야생차 추출물의 항균활성

최옥자[†] · 이행재 · 최경희

순천대학교 조리과학과

Antimicrobial Activity of Korean Wild Tea Extract According to the Degree of Fermentation

Ok Ja Choi[†], Haeng Jae Rhee and Kyeong Hee Choi

Dept. Food & Cooking Science, Sunchon National University, Chonnam 540-742, Korea

Abstract

This study was investigated to determine antimicrobial activity of the water and ethanol extracts of Korean wild green tea, semi-fermented tea, and fermented tea. Antimicrobial activity was examined against 8 kinds of several microorganisms. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the water and ethanol extracts of green tea showed the most active antimicrobial activity against *B. subtilis* 0.2 mg/mL in Gram positive bacteria and *P. fluorescens* 0.3~0.5 mg/mL in Gram negative bacteria. But the extracts did not show antimicrobial activity against lactic acid bacteria and yeast at the level of less than 1 mg/mL. Antimicrobial activity got lower as tea got more fermented. Antimicrobial activity of ethanol extracts from green tea, semi-fermented tea, and fermented tea was stronger than that of water extracts. Antimicrobial activity of the water and ethanol extracts of green tea, semi-fermented tea, and fermented tea was not destroyed at 50~121°C, and pH 3~11, which proved to be very stable when given over heat, acid & alkali treatment. The ethanol extract of green tea, semi-fermented tea, and fermented tea was fractionated in the order of hexane, diethyl ether, ethyl acetate and water fraction. The highest antimicrobial activity was found in the water fraction, but not found in hexane fraction, while antimicrobial activity of fermented tea was not found in ether fraction.

Key words: green tea, semi-fermented tea, fermented tea, water extract, ethanol extract, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration (MIC)

서 론

차는 잎 자체가 가지고 있는 상쾌한 향과 차 제조과정 중에 생성되는 독특한 향으로 인하여 기호식품으로서 뿐만 아니라 체내의 생리활성 작용이 탁월하기 때문에 기능성식품으로서도 수요가 매우 증가하고 있다. 차의 풍미는 토양, 기후, 품종, 제조방법, 재배조건 등 여러 요인에 의하여 영향을 받으나 가장 중요한 것은 제조방법이다. 차를 제조할 때 차잎에 함유된 polyphenol oxidase에 의하여 산화된 정도에 따라 불발효차(녹차), 반발효차(포종차, 우롱차), 발효차(홍차)로 구분되며, 발효정도가 12~60% 사이의 것을 반발효차, 85% 이상 발효된 것을 홍차라고 한다(1,2). 발효차는 위조, 유념하는 과정에서 카테킨류가 theaflavin류로 변화하고, 고급지방산이 산화분해되어 카보닐화합물이 증가하여 차물의 색, 맛, 향기 등의 기호적 특성과 체내의 생리활성 작용이 변화된다. 녹차는 항균 및 항산화작용이 강하고, 혈소판 응집효과, 항암작용, 비타민 C의 함량이 높은 반면(2-6), 반발효차는 알레르기 억제, 항산화작용이 높으며, 발효차는

치석억제 및 심장병에도 효과가 높다고 알려져 있다(2-9). 발효차의 주성분인 theaflavin은 녹차의 주성분인 epicatechin보다 혈당 강하작용과 항당뇨작용이 150~250배 이상의 효과를 나타낸다고 하였다(2). 대만, 중국, 인도 등 외국의 발효차는 품종이 대엽종으로 기후가 높고 습기가 많으며, 일교차가 크고, 햇빛의 조사량이 많아 우리나라 차보다 향과 맛이 강하다. 반면에 우리나라의 차나무는 소엽종으로 차의 잎과 줄기를 발효시켜 발효차를 만들며, 차의 맛과 향이 은은하고 부드러운 맛이 있기 때문에 우리나라에서 제조한 발효차의 선호도가 최근 점점 증가되고 있는 실정이다. 그동안 국내의 차에 대한 연구는 녹차의 향기성분, 항산화성, 항균력, 녹차를 이용한 식품에 대한 연구로 주로 녹차를 대상으로 한 연구가 대부분이며(4,10-17), 발효차에 대한 연구는 몇몇 연구(3,9,18-20)를 제외하고는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 전보(21,22)에 이어서 발효정도에 따른 국내산 야생차 추출물을 제조하여 일반세균, 젖산균 및 효모 총 8균주에 대한 항균활성을 검색하고, 항균활성 물질의 미생물에 대한 최소저해농도 및 열과 pH에 대한 안정성을 측

[†]Corresponding author. E-mail: coj@sunchon.ac.kr
Phone: 82-61-750-3692, Fax: 82-61-750-3608

정하였으며, 에탄올추출물을 용매분획한 후 각 분획별 항균활성을 조사하여 중국 발효차와의 차이점을 분석하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 시료는 2002년 5월 초 하동군 화개면 지리산 인근의 야생차잎을 채취하여 전보(21)에서와 같은 방법으로 제조한 녹차 및 각 발효차를 사용하였다. 발효차는 발효시간에 따라 약발효차(10 hrs), 중발효차(17 hrs), 강발효차(24 hrs)로 구분하였으며, 약발효차는 발효도 30% 내외, 중발효차는 60~70%, 강발효차는 80~90% 정도의 발효도를 나타냈다(22). 대조구로 2002년산 중국녹차(綠茶, 小葉種, 天福集團, 福建省), 우롱차 2종(阿里山茶: 발효도 30%, 大葉種, 713 茶王: 발효도 55%, 大葉種, 天福集團, 福建省), 홍차(紅茶, 小葉種, 발효도 95% 天福集團, 福建省)를 사용하였다.

사용균주 및 시약

본 실험에 사용된 균주는 Table 1에 나타낸 바와 같이 그람양성균 3종, 그람음성균 3종, 젖산균 1종 및 효모 1종을 선정하여 사용하였다. 시험균주의 생육배지는 Difco Co.(Detroit Michigan, USA)사 제품을 사용하였으며, 추출용매 및 시약은 일급 또는 특급시약을 사용하였다.

물추출물과 에탄올추출물의 제조

녹차 및 발효정도에 따른 발효차의 물추출물은 시료 100 g에 10배량의 증류수를 가하고 homogenizer로 5분 동안 마쇄하여 24시간 동안 상온에서 교반 침출시킨 후 1차 추출하고, 다시 증류수 1 L를 가하여 동일한 방법으로 2차 추출한 후, 추출액을 합하여 여과(Whatman No. 2)하였다. 이 추출여액을 회전감압농축기(Büchi RE 121, Switzerland)로 50°C 수육상에서 감압농축하여 얻은 점조성의 추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 녹차 및 발효정도에 따른 발효차의 에탄올추출물은 시료 100 g에 에탄올(96%) 1 L를 가하여 물추출물과 동일한 방법으로 1차, 2차 추출하여 여과한 다음 여액을 50°C 수육상에서 약 100 mL로 감압농축한 후,

증류수 1 L를 가하여 잘 혼합하고, 4°C 냉장실에서 24시간 방치한 다음 3,500 rpm으로 30분 원심분리하여 침전된 수지 성분을 2회 반복하여 제거하였다. 다시 수용액을 회전감압 농축하여 얻은 최종 에탄올추출물을 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

항균력 측정

녹차 및 발효정도에 따른 발효차 추출물의 항균성 검색에 사용한 균주는 slant에 배양된 각 균주 1백금이를 취해 10 mL broth의 균생육액 배지에 접종하고, 30°C에서 18~24 시간씩 3회 계대배양하여 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15 mL 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5 mL씩 시험판에 분주하여 멸균한 후, 45°C 수육상에서 보관하면서 각종 시험균액(멸균식염수로 균현탁액을 만들어 균농도를 660 nm에서 흡광도가 0.3이 되게 한 균현탁액) 0.1 mL를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지위에 분주한 뒤 고르게 응고시켜 2중의 균접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 추출된 항균성 물질의 항균력 검색은 한천배지 확산법(disc plate method)으로 측정하였다(23,24). 추출물의 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정은 액체배지희석법(broth dilution method)으로 추출물의 고형물 함량이 고체배지와 동일농도 구간으로 조절한 액체배지를 준비하여 균현탁액을 각각 0.1 mL씩 접종하고 30°C에서 24시간 배양한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하여 균증식이 나타나지 않은 농도로 결정하였으며(25,26), 3회 반복 실험하여 평균값으로 나타내었다.

추출된 항균성 물질의 열 및 pH 안정성 측정

녹차 및 발효정도에 따른 발효차의 추출물 중 항균활성을 나타내는 물질의 열 안정성은 에탄올추출물을 50°C~100°C 까지 10°C간격으로 각각 1시간 동안, 121°C에서 15분동안 열처리한 후 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 생육저해환의 지름을 측정하여 비교하였다. 또한 pH 안정성은 녹차 및 발효정도에 따른 발효차의 에탄올추출물을 염산이나 수산화나트륨으로 pH 3~11까지 조절한 후 상온에서 1시간 방치한 다음, 다시 각각 균주의 최적 pH로 중화시켜서 열 안정성과 동일한 방법으로 생육저해환의 지름을 측정하여 비교하였으며 3회 반복 실험하여 평균값으로 나타내었다.

에탄올추출물의 용매분획

녹차 및 발효정도에 따른 발효차 100 g을 에탄올 1L에 대하여 3회 추출 후 농축하여 에탄올추출물을 얻은 다음, Fig. 1과 같이 용매분획하였다. 즉, n-hexane : ethanol : H₂O(10:1:9, v/v/v) 1 L씩 3회 추출 후, 농축하여 혼합물을 얻었다. 계속 같은 방법으로 수중을 diethyl ether와 ethylacetate로 순차적으로 용매분획한 다음 50°C 수육상에서 회전감압 농축하여 각각의 분획물을 얻었으며, 최종적으로 물 분획물을 얻어 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

Table 1. Microorganisms used for antimicrobial activity test

Gram positive bacteria	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348 <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 9372 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 13301
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> ATCC 15489 <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028 <i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 11250
Lactic acid bacteria	<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014
Yeast	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 1950

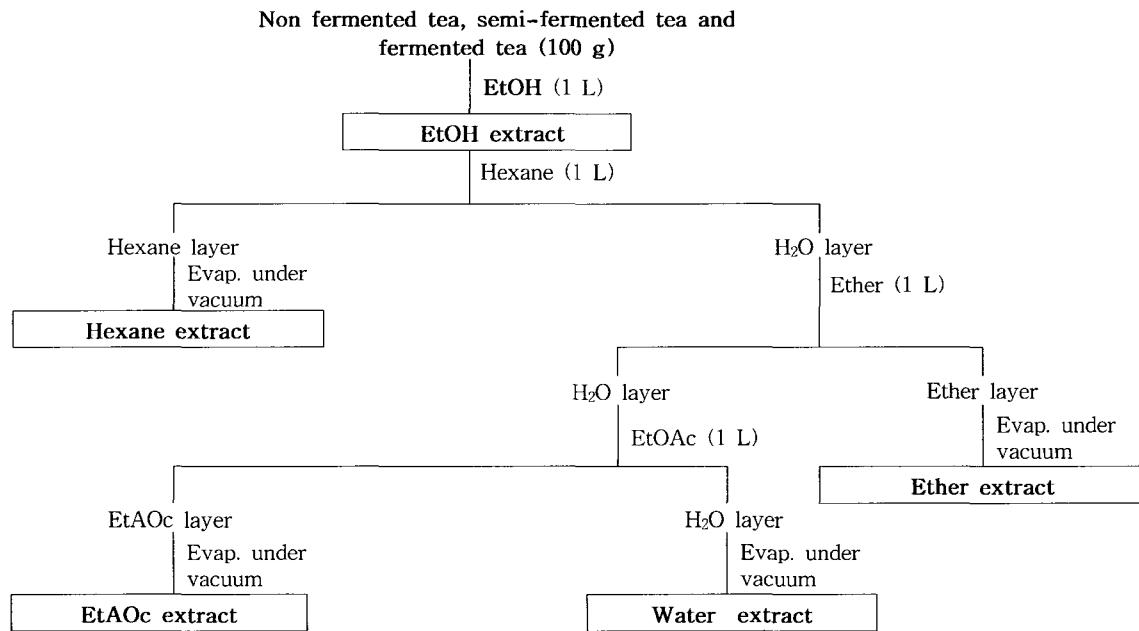


Fig. 1. Fractionation of ethanol extract from non fermented tea, semi-fermented tea and fermented tea.

결과 및 고찰

용매에 따른 녹차 및 각 발효차 추출물의 항균력 검색
녹차 및 각 발효차의 물과 에탄올추출물에 따른 항균활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 물과 에탄올추출물에서 항균성 검색에 사용된 총 8가지 균주 중 젖산균과 효모를

제외한 대부분의 세균들에 대해 항균활성을 보였다. 국내산 녹차의 물추출물에서 그람양성균인 *B. subtilis*와 *S. aureus*는 생육저해환의 크기가 각각 20.1 mm, 19.7 mm로 항균활성이 가장 높았고, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*의 생육저해환의 크기가 19.4 mm로 항균활성이 가장 높았으며, 그람양성균이 그람음성균보다 전체적으로 감수성이 큰 경향

Table 2. Antimicrobial activities of water and ethanol extracts of green tea and fermented tea against several microorganisms

Strains	Clear zone on plate (mm) 38 mg/disc								
	1 ¹⁾	2	3	4	5	6	7	8	
Water extracts	<i>Bac. cereus</i>	19.5	18.0	15.9	9.1	18.9	18.3	16.7	8.7
	<i>Bac. subtilis</i>	20.1	18.1	15.9	9.2	19.3	18.5	16.8	8.8
	<i>Sc. aureus</i>	19.7	18.0	15.8	9.3	19.3	18.3	16.7	8.7
	<i>E. coli</i>	18.9	17.5	14.4	8.7	18.4	17.9	15.2	8.4
	<i>Sal. Typhimurium</i>	18.5	17.3	14.2	8.5	18.2	17.5	15.2	8.5
	<i>Ps. fluorescens</i>	19.4	17.7	14.4	9.0	18.6	18.0	15.5	8.7
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol extracts	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	20.0	19.1	15.9	9.2	19.2	19.2	17.1	8.8
	<i>Bac. subtilis</i>	21.5	19.2	16.2	9.4	19.8	19.4	17.3	9.0
	<i>Sc. aureus</i>	20.2	19.2	16.0	9.3	19.6	19.3	17.1	8.8
	<i>E. coli</i>	19.5	18.0	14.7	8.9	18.7	18.4	15.6	8.6
	<i>Sal. Typhimurium</i>	19.0	17.9	14.5	8.7	18.5	18.0	15.4	8.5
	<i>Ps. fluorescens</i>	19.9	18.3	15.0	9.2	18.8	19.2	15.8	8.9
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

- ¹⁾1. Green tea (non-fermented tea, small leaf, 0%).
- 2. Mild fermented tea (fermented for 10 hrs, small leaf, 30%).
- 3. Medium fermented tea (fermented for 17 hrs, small leaf, 60~70%).
- 4. Strong fermented tea (black tea, fermented for 24 hrs, small leaf, 80~90%).
- 5. Chinese green tea (non-fermented tea, small leaf, 0%).
- 6. Chinese semi-fermented tea (Arisancha, large leaf, 30%).
- 7. Chinese semi-fermented tea (713 Chawang, large leaf, 55%).
- 8. Chinese black tea (small leaf, 95%).

이었다. 그람양성균이 그람음성균보다 감수성이 큰 것은 그람음성균의 경우 세포막을 둘러 쌓고 있는 외막이 소수성물질이나 분자량이 큰 친수성물질의 유입을 억제하기 때문이라고 알려져 있으며(27), Oh 등(20) 및 Park과 Cha(36)도 차 추출물에서 그람양성균의 감수성이 크다고 보고하였다.

중국녹차의 경우는 그람양성균인 *B. subtilis*와 *S. aureus*는 생육저해환의 지름이 각각 19.3 mg/mL로 항균활성이 가장 높게 나타났고, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*의 생육저해환의 지름이 18.6 mm로 항균활성이 가장 높게 나타나 국내산 녹차와 같은 경향을 보였다. 그러나 국내산 녹차보다 항균활성은 더 낮았다. Kim(28)의 보고에서는 그람음성균에서 *P. fluorescens*가 *E. coli*균보다 항균활성이 높다고 하였고, 국내산 녹차 추출물이 중국산 녹차 추출물보다 *P. fluorescens*에 대한 항균지속 효과가 크다고 하였다.

국내산 반발효차인 약발효차는 대엽종으로 제조한 중국의 반발효차인 아리산차보다 항균활성이 더 낮게 나타났다. 국내산 약발효차와 중국산 반발효차인 아리산차의 발효도가 30% 정도로 같은 것으로 보아 발효정도에 의한 차이보다는 차잎의 품종에 따른 차이라고 생각된다. 약발효차에서 항균력이 높은 균은 그람양성균에서는 *B. subtilis*, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*로 나타나 녹차와 유사하였다.

발효도가 60~70%인 중발효차는 발효도가 55%인 대엽종으로 제조한 중국산 반발효차에 비하여 항균력이 더 낮게 나타났다. 발효도 80~90% 정도인 강발효차는 소엽종으로 제조한 발효도 95%인 중국홍차보다 항균활성이 더 높았는데, 이는 국내산 강발효차가 중국홍차보다 발효도가 낮은데 기인한다고 생각된다. 발효가 많이 진행된 국내산 강발효차와 중국홍차에서도 그람양성균에서는 *B. subtilis*, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*의 항균활성이 비교적 높게 나타났다. 이와같은 결과에서 녹차, 반발효차 및 발효차 물추출물의 경우 발효도가 높을수록 항균활성은 감소하였고, 그람양성균에서는 *B. subtilis*, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*의 항균활성이 높은 경향이었으며, 발효도가 같은 경우 소엽종보다 대엽종이 항균활성이 높게 나타났다.

차의 에탄올추출물은 물추출물에서보다 항균활성이 더 높게 나타났으며, 이러한 결과는 차추출물에서 뿐만 아니라(3,20,37), 신갈나무 잎 등 몇몇의 항균성물질을 함유한 식물의 경우에도 같은 경향을 나타냈다(29-31). 차의 에탄올추출물도 물추출물에서와 마찬가지로 차의 발효시간이 길어질수록 항균력은 낮게 나타났는데, 불발효차인 녹차에서 항균성이 가장 크게 나타난 것은 녹차의 카테킨 함량이 높기 때문이라고 생각된다. 전보(21)에서 국내산 야생차의 카테킨 함량은 녹차 14.8%, 약발효차 12.46%, 중발효차 9.14%, 강발효차 7.84%였으며, (-)-EGCg의 함량이 가장 높았고, (-)-ECg, (-)-EC, (-)-EGC의 순으로 함량이 낮았다. Ikigai 등(32)은 카테킨이 직접 세포의 지질이중막을 파괴시키면서 외부물질의 유입을 통제하는 세포의 기능이 상실되어 세

포가 사멸한다고 하였다. 또한 카테킨 중에서 gallate가 결합된 (-)-ECg나 (-)- EGCg가 강한 항균작용을 있다고 하였고, 카테킨 분자중 B-ring의 3',4' 및 5'의 위치에 3개의 OH기가 존재하는 것에서 강한 항균력을 나타낸다고 하였다(33,34). Yeo 등(3)은 발효차인 홍차에서도 항균성이 나타나는 것은 제조과정 중에 발효되지 않고 잔존하는 카테킨과 발효되어 생성된 theaflavin 화합물에 기인한다고 하였다. 차에서 추출된 항균성 물질 중 부패와 식중독에 영향을 주는 *S. aureus*, *B. subtilis*와 *P. fluorescens*의 항균활성이 높게 나타난 것으로 보아 일상생활에서 차를 음용한다면 부패 및 식중독균의 생육억제에도 효과가 있을 것으로 보인다.

녹차의 물과 에탄올추출물의 최소저해농도

녹차의 물추출물과 에탄올추출물의 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 국내산 녹차에 있어서 물추출물의 최소저해농도는 그람양성균에서는 *B. subtilis*가 0.2 mg/mL로 가장 낮았고, *S. aureus*와 *B. cereus*는 각각 0.4 mg/mL로 나타났다. 그람음성균의 최소저해농도는 *P. fluorescens*가 0.5 mg/mL로 가장 낮았고, *E. coli*와 *S. Typhimurium*은 0.75 mg/mL로 나타났다. 그러나 젖산균과 효모는 1 mg/mL 이하의 농도에서는 항균활성이 나타나지 않았다. Yeo 등(3)은 볶음녹차 조카테킨 획분에서 최소저해농도는 *B. subtilis* 0.12 mg/mL, *S. aureus* 0.6 mg/mL, *E. coli*는 0.9 mg/mL라고 하였고, Oh와 Lee(20)는 녹차의 물추출물에서 *B. subtilis* 0.25 mg/mL, *S. aureus* 0.5 mg/mL, *E. coli* 1 mg/mL라고 하여 본 실험에 사용된 국내산 야생녹차의 최소저해농도가 더 낮은 경향을 나타내 야생녹차가 항균활성이 높은 것을 알 수 있다.

국내산 녹차 에탄올추출물의 최소저해농도는 물추출물보다 최소저해농도가 더 낮게 나타나 물추출물보다 에탄올추출물의 항균효과가 더 높았다. 에탄올추출물에서도 물추출물과 마찬가지로 효모균과 젖산균은 1 mg/mL 이하의 농도에서 항균활성이 나타나지 않았다. 국내산 녹차 에탄올추출물에서 그람양성균과 음성균의 최소저해농도는 0.20~0.75 mg/mL로 초피(30)나 고수(31)와 같은 향신료의 최소저해농도인 0.25~1.5 mg/mL보다 더 낮은 값을 나타냈다. 보존제로 사용되는 프로피온산나트륨의 경우 1.5~11 mg/mL에서 미생물 증식에 억제효과가 있었다는 결과(35)와 비교하면 녹차의 에탄올추출물은 천연보존제로서 이용효과와 가능성성이 높다고 하겠다.

중국녹차의 경우 물추출물의 최소저해농도는 그람음성균보다 그람양성균의 최소저해농도가 약간 낮아 항균활성은 그람양성균이 높은 것으로 나타났다. 젖산균과 효모균은 국내산 녹차와 동일하게 1 mg/mL 농도에서 항균활성을 나타나지 않았다. 중국녹차의 에탄올추출물의 최소저해농도는 그람양성균의 경우 0.3~0.4 mg/mL로 나타났고, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*가 0.4 mg/mL *E. coli*가 0.5 mg/mL, *S. Typhimurium*은 0.75 mg/mL로 나타나 *P. fluorescens*의

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) of the water and ethanol extracts in green tea against several microorganisms

Strains	Water extracts							Ethanol extracts							MIC (mg/mL)	
	Growth at various concentration (mg/mL)						MIC (mg/mL)	Growth at various concentration (mg/mL)								
	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75	1	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75			
Korean tea (1) ¹⁾	<i>Bac. cereus</i>	+	+	±	-	-	-	0.4	+	+	±	-	-	-	0.4	
	<i>Bac. subtilis</i>	+	-	-	-	-	-	0.2	+	-	-	-	-	-	0.2	
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	-	-	-	0.4	+	+	-	-	-	-	0.3	
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	±	-	-	0.5	
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	±	-	0.75	
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	+	-	-	0.5	+	+	-	-	-	-	0.3	
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	
Chinese tea (5) ²⁾	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	
	<i>Bac. cereus</i>	+	+	+	±	-	-	0.5	+	+	+	-	-	-	0.4	
	<i>Bac. subtilis</i>	+	+	+	-	-	-	0.4	+	+	±	-	-	-	0.4	
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	±	-	-	0.5	+	+	-	-	-	-	0.3	
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	-	-	0.5	
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	+	-	0.75	
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	±	-	-	0.5	+	+	±	-	-	-	0.4	
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	

¹⁾1. Green tea (non-fermented tea, small leaf).²⁾5. Chinese green tea (non-fermented tea, small leaf).³⁾+ growth, ± uncertain in growth, - no growth.

항균활성이 가장 높았다. Park 등(36,37)도 녹차 물추출물과 에탄올추출물에서 *E. coli*가 *S. Typhimurium*보다 항균활성이 높았다고 보고하였으며, Yeo 등(3)은 다른 균에 비하여 *E. coli*의 항균활성이 낮다고 하였다. 중국녹차는 국내산 야생녹차보다 최소저해농도가 더 높게 나타나 국내산 야생녹차의 항균활성이 높은 것이 확인되었다.

반발효차의 물과 에탄올추출물의 최소저해농도

발효도가 30% 정도인 국내산 약발효차와 중국 반발효차인 아리산차의 물추출물과 에탄올추출물의 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 4와 같다. 국내산 약발효차 물추출물의 최소저해농도는 그람양성균인 *B. subtilis*가 0.4 mg/mL로 가장 낮았으며, 에탄올추출물에서는 그람양성균인 *B. cere-*

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) of the water and ethanol extracts in mild fermented tea and semi-fermented tea (Arisancha) against several microorganisms

Strains	Water extracts							MIC (mg/mL)	Ethanol extracts							MIC (mg/mL)	
	Growth at various concentration (mg/mL)						MIC (mg/mL)	Growth at various concentration (mg/mL)									
	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75	1	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75	1			
Korea tea (2) ¹⁾	<i>Bac. cereus</i>	+	+	±	-	-	-	0.5	+	+	+	-	-	-	-	0.4	
	<i>Bac. subtilis</i>	+	+	+	-	-	-	0.4	+	+	+	-	-	-	-	0.4	
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	+	-	-	0.5	+	+	+	±	-	-	-	0.5	
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	±	-	-	0.75	
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	+	±	-	1.0	+	+	+	+	+	-	0.75	
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	+	+	-	-	0.75	+	+	+	+	-	-	0.5	
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Chinese tea (6) ²⁾	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>Bac. cereus</i>	+	+	±	-	-	-	0.4	+	+	+	-	-	-	-	0.4	
	<i>Bac. subtilis</i>	+	+	-	-	-	-	0.3	+	+	±	-	-	-	-	0.4	
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	±	-	-	0.5	+	+	+	-	-	-	-	0.4	
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	±	-	-	-	0.5	
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	+	-	-	0.75	+	+	+	+	-	-	0.75	
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	±	-	-	-	0.5	+	+	+	±	-	-	0.5	
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

¹⁾2. Mild fermented tea (fermented for 10 hrs, small leaf, 30%).²⁾6. Chinese semi-fermented tea (Arisancha, large leaf, 30%).³⁾+ growth, ± uncertain in growth, - no growth.

*us*와 *B. subtilis*가 각각 0.4 mg/mL로 가장 낮게 나타났다. 반발효차의 경우도 녹차와 마찬가지로 그람음성균보다 그람양성균의 최소저해농도가 더 낮았고, 젖산균과 효모는 1 mg/mL이하에서 항균활성이 측정되지 않았다. 중국 반발효차의 물추출물은 그람양성균에서는 *B. subtilis*가 0.3 mg/mL, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*가 0.5 mg/mL로 국내산 약발효차에 비하여 최소저해농도가 더 낮게 나타났다. 에탄올추출물에서는 국내산 약발효차보다 *S. aureus*와 *E. coli*의 최소저해농도가 더 낮게 나타나 중국 반발효차는 국내산 약발효차보다 항균활성이 더 높았다. 이와같이 중국산 반발효차가 발효도가 유사한 국내산 약발효차보다 항균활성이 높은 것은 정과 김(1)이 보고한 바와 같이 대엽종이 소엽종보다 카테킨 함량이 더 많기 때문으로 생각된다.

발효차의 물과 에탄올추출물의 최소저해농도

발효도가 80~90%인 국내산 강발효차와 발효도가 95%정도인 중국홍차의 물추출물과 에탄올추출물의 최소저해농도를 측정한 결과는 Table 5와 같다. 국내산 강발효차 물추출물의 최소저해농도는 그람양성 간균인 *B. subtilis*가 0.5 mg/mL로 가장 낮게 나타났으나, 녹차와 반발효차에 비하여 최소저해농도는 더 높았다. 에탄올추출물에서 최소저해농도는 *B. subtilis*와 *S. aureus*가 각각 0.4 mg/mL, 0.5 mg/mL로 낮게 나타났으며, 그람음성균에서는 *E. coli*와 *P. fluorescens*가 0.75 mg/mL로 낮게 나타났다. 발효차의 물과 에탄올추출물에서도 최소저해농도가 그람음성균보다 그람양성균이 약간 낮게 나타났고, 젖산균과 효모는 1 mg/mL이하에서 항균활성이 나타나지 않았다. 중국홍차의 물추출물과 에탄올추출물에서는 국내산 강발효차에 비하여 최소저해농도

가 더 높게 나타나 중국홍차의 항균활성이 국내산 강발효차보다 더 낮았다.

이상의 결과에서 차의 발효도에 따른 항균활성의 차이는 발효도가 높을수록 발효되지 않은 녹차에 비하여 최소저해농도가 높아지는 경향을 나타내 발효가 많이 진행된 차일수록 항균활성이 낮아짐을 알 수 있다.

발효정도에 따른 발효차의 항균성 물질의 열 안정성

녹차의 물추출물과 에탄올추출물에 함유되어 있는 항균활성 물질의 열 안정성을 측정한 결과는 Table 6과 같다. 국내산 녹차의 경우 50°C~100°C 까지 10°C 간격으로 1시간, 121°C에서 15분간 열처리 한 후, 그람양성균인 *B. subtilis*와 그람음성균인 *E. coli* 두 균주의 생육저해환의 크기를 측정한 결과, 녹차의 물추출물은 100°C이상에서 그람양성균인 *B. subtilis*의 생육저해환의 지름이 20.0 mm로 대조구 20.1 mm와 거의 비슷하였고, 그람음성균인 *E. coli*의 경우에도 대조구와 비슷하였다. 녹차 에탄올추출물도 가열에 따른 생육저해환의 크기는 대조구와 거의 차이가 없었다. Kim 등(14)은 녹차의 추출물을 50~200°C의 온도범위에서 30분 가열처리한 경우에도 *B. subtilis* 등의 세균과 곰팡이가 안정하다고 하였다. 국내산 약발효차는 녹차와 마찬가지로 물추출물, 에탄올추출물 모두 열에 안정하였으며, 24시간 발효시킨 강발효차의 경우에서도 같은 경향을 나타냈다. 중국녹차의 물추출물과 에탄올추출물의 경우도 100°C이상에서 생육저해환의 크기가 거의 변화하지 않았고, 중국 반발효차 및 중국홍차의 물추출물과 에탄올추출물도 모두 100°C이상의 온도에서도 생육저해환의 크기가 대조구와 비슷하였다. 이와같이 녹차, 반발효차 및 발효차는 모두 열에 안정하기 때문에 90°C

Table 5. Minimum inhibitory concentration (MIC) of the water and ethanol extracts in mild fermented tea and fermented tea against several microorganisms

Strains	Water extracts							MIC (mg/mL)	Ethanol extracts							MIC (mg/mL)		
	Growth at various concentration (mg/mL)								Growth at various concentration (mg/mL)									
	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75	1		0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.75	1			
Korea tea (4) ¹⁾	<i>Bac. cereus</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	-	-	-	0.5		
	<i>Bac. subtilis</i>	+	+	+	+	-	-	0.5	+	+	+	-	-	-	-	0.4		
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	+	±	-	0.75	+	+	+	+	±	-	-	0.75		
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	±	1.0	+	+	+	±	±	-	-	0.75		
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	+	±	1.0	+	+	+	+	+	+	-	1.0		
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	+	+	-	0.75	+	+	+	+	+	-	-	0.75		
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Chinese tea (8) ²⁾	<i>Bac. cereus</i>	+	+	+	±	+	-	0.75	+	+	+	+	-	-	-	0.5		
	<i>Bac. subtilis</i>	+	+	+	+	+	-	0.75	+	+	+	±	-	-	-	0.5		
	<i>Sc. aureus</i>	+	+	+	±	±	-	0.75	+	+	+	±	±	-	-	0.75		
	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	±	1.0	+	+	+	+	±	-	-	0.75		
	<i>Sal. Typhimurium</i>	+	+	+	+	+	+	1.0	+	+	+	+	+	+	-	1.0		
	<i>Ps. fluorescens</i>	+	+	+	±	±	-	0.75	+	+	+	±	-	-	-	0.5		
	<i>L. plantarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	±	+		

¹⁾4. Strong fermented tea (black tea, fermented for 24 hrs, small leaf, 80~90%).

²⁾8. Chinese black tea (small leaf, 95%).

³⁾ + growth, ± uncertain in growth, - no growth.

Table 6. Effect of temperature treatment on the antimicrobial activities of water and ethanol extracts in green tea, semi-fermented and fermented tea against *B. subtilis* and *E. coli*

Sample		Strains	Clear zone on plate (mm) (38 mg/disc)							
			Heating temperature (°C)							
			Control	50	60	70	80	90	100	
Korean tea	1 ¹⁾	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	20.1	20.1	20.1	20.0	20.0	20.0	20.0
			<i>E. coli</i>	18.9	18.9	18.9	18.6	18.7	18.9	18.7
	2	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5	21.0	21.0
			<i>E. coli</i>	19.5	19.5	19.5	19.0	19.5	19.0	19.0
Chinese tea	4	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	18.1	18.1	18.0	18.0	18.1	18.0	18.0
			<i>E. coli</i>	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.0
	5	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	19.2	19.2	19.2	19.2	19.0	19.2	19.0
			<i>E. coli</i>	18.0	18.0	18.0	17.8	17.8	18.0	17.8
Chinese tea	6	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	9.2	9.1	9.1	9.1	9.1	9.0	9.0
			<i>E. coli</i>	8.7	8.7	8.7	8.5	8.7	8.5	8.7
	8	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	9.4	9.4	9.4	9.4	9.3	9.4	9.4
			<i>E. coli</i>	8.9	8.9	8.9	8.9	8.9	8.8	8.5

¹⁾Refer to the legend in Table 2.Table 7. Effect of pH treatment on antimicrobial activities of water and ethanol extracts in green tea, semi-fermented tea, and fermented tea against *B. subtilis* and *E. coli*

Sample		Strains	Clear zone on plate (mm) (38 mg/disc)					
			pH					
			Control	3	5	7	9	
Korean tea	1 ¹⁾	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	20.1	20.0	20.0	20.0	20.0
			<i>E. coli</i>	18.9	18.6	18.9	18.9	18.9
	2	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	21.5	21.5	21.5	21.5	21.5
			<i>E. coli</i>	19.5	19.5	19.5	19.0	19.5
Chinese tea	4	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	18.1	18.1	18.1	18.0	18.0
			<i>E. coli</i>	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
	5	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	19.2	19.2	19.0	19.0	19.2
			<i>E. coli</i>	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
Chinese tea	6	Water extracts	<i>Bac. subtilis</i>	9.2	9.2	9.2	9.0	9.0
			<i>E. coli</i>	8.7	8.5	8.7	8.7	8.7
	8	Ethanol extracts	<i>Bac. subtilis</i>	9.4	9.4	9.4	9.4	9.4
			<i>E. coli</i>	8.9	8.9	8.9	8.9	8.9

¹⁾Refer to the legend in Table 2.

이상의 뜨거운 물로 우려내는 발효차의 경우도 열에 매우 안정하다고 하겠다.

발효정도에 따른 발효차의 항균성 물질의 pH 안정성
녹차 및 반발효차, 발효차의 물추출물과 에탄올추출물에 함유되어 있는 항균활성물질의 pH 안정성을 측정한 결과는 Table 7과 같다. pH 3~11 범위에서 그람양성균인 *B. sub-*

*tilis*의 경우 국내산 녹차의 물추출물과 에탄올추출물의 생육저해환의 크기는 대조구와 유사하였다. 그람음성균인 *E. coli* 경우도 물추출물에서는 18.6~18.9 mm로 대조구 18.9 mm와 유사하였고, 에탄올추출물의 경우도 같은 경향이었다. 국내산 약발효차와 강발효차의 물추출물, 에탄올추출물 경우도 pH 3~11 범위에서 생육저해환의 크기는 거의 일정하였다. 중국산 녹차, 반발효차, 흥차의 경우도 같은 경향을

Table 8. Antimicrobial activity of solvent fractions of ethanol extracts from green tea, semi-fermented tea and fermented tea against several microorganisms

	Strains	Clear zone on plate (mm) 38 mg/disc			
		n-Hexane extract	Ether extract	Ethylacetate extract	Water extract
1 ¹⁾	<i>Bac. cereus</i>	-	12.3	14.5	15.9
	<i>Bac. subtilis</i>	-	12.7	14.7	16.0
	<i>Sc. aureus</i>	-	12.5	15.0	15.8
	<i>E. coli</i>	-	11.5	14.2	15.3
	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	11.0	13.5	15.4
	<i>Ps. fluorescens</i>	-	11.7	14.7	15.4
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	-	9.5	14.0	14.2
Korean tea 2	<i>Bac. subtilis</i>	-	10.0	14.2	14.8
	<i>Sc. aureus</i>	-	9.5	14.0	14.5
	<i>E. coli</i>	-	9.5	13.5	13.9
	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	9.0	13.5	14.0
	<i>Ps. fluorescens</i>	-	9.5	13.5	14.3
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	-	-	9.0	9.3
	<i>Bac. subtilis</i>	-	-	8.8	9.2
4	<i>Sc. aureus</i>	-	-	9.0	9.4
	<i>E. coli</i>	-	-	8.7	8.9
	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	-	8.5	9.0
	<i>Ps. fluorescens</i>	-	-	9.0	9.2
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	-	10.5	14.3	16.0
	<i>Bac. subtilis</i>	-	10.2	14.3	15.9
	<i>Sc. aureus</i>	-	11.0	14.4	15.8
5	<i>E. coli</i>	-	10.2	14.0	15.5
	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	9.8	13.9	15.2
	<i>Ps. fluorescens</i>	-	10.2	14.4	15.5
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	-	9.8	14.0	14.6
	<i>Bac. subtilis</i>	-	10.0	13.9	14.6
	<i>Sc. aureus</i>	-	9.7	13.8	14.2
	<i>E. coli</i>	-	9.6	13.4	13.9
Chinese tea 6	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	9.5	12.6	13.6
	<i>Ps. fluorescens</i>	-	9.8	13.5	14.0
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-
	<i>Bac. cereus</i>	-	-	8.7	9.0
	<i>Bac. subtilis</i>	-	-	8.8	9.0
	<i>Sc. aureus</i>	-	-	8.7	9.2
	<i>E. coli</i>	-	-	8.0	8.8
	<i>Sal. Typhimurium</i>	-	-	8.6	8.5
8	<i>Ps. fluorescens</i>	-	-	8.2	8.8
	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
	<i>Sacch. cerevisiae</i>	-	-	-	-

¹⁾Refer to the legend in Table 2.

나타냈다. 이와 같이 발효정도에 관계없이 차의 물추출물과 에탄올추출물에 함유된 항균물질은 강산과 강알칼리 조건에서도 지속적으로 유지됨이 확인되었으며, 이것은 향신료에 함유된 항균성 물질이 열 및 pH에 안정한 것과 유사한 결과이다(11,12). Kim 등(14)의 연구에서는 pH 4~9 범위에서 *E. coli* 등의 몇몇 미생물의 생육저해환의 크기가 동일하다고 하였으며, Park과 Cha(36,37)는 *E. coli*의 경우 산성의 조건보다 알카리성 조건에서 생육이 더 억제되었다고 보고하였다.

발효정도에 따른 발효차의 에탄올추출물 분획의 항균활성 녹차, 반발효차 및 발효차의 에탄올추출물을 Fig. 1과 같이 극성에 따라 용매분획한 분획물의 항균활성을 disc plate method에 따라 생육저해환을 측정하여 각 균주에 대한 억제효과를 검색한 결과는 Table 8과 같다. 물분획물에서 그람양성균 및 그람음성균의 생육억제효과가 가장 크게 나타났고, 그 다음으로는 에틸아세테이트 분획물, 에테르 분획물의 순으로 항균활성을 보였으며, 혼산 분획물에서는 항균활성을 보이지 않았다. 국내산 녹차는 약발효차와 강발효차보다 모든 세균에 대하여 생육저해환의 크기가 더 크게 나타났으나, 젖산균과 효모균에서는 항균활성이 나타나지 않았다. 중국녹차와 반발효차, 중국홍차에서도 국내산의 경우와 같이 발효가 많이 진행된 차일수록 모든 용매에서 저해환의 크기가 감소하여 항균활성이 낮았고, 국내산 강발효차와 중국홍차의 에테르 분획물에서는 항균활성이 나타나지 않았는데 이는 Shin(38)의 결과와 같은 경향이었다. 그러나 Lee 등(39)이 보고한 오미자추출물에서는 에틸아세테이트 분획물에서 항균활성이 가장 높게 나타났고, 혼산, 물 분획물에서는 항균력이 나타나지 않았으며(39), 신갈나무에서는 혼산분획물에서 항균활성이 가장 높았고, 클로로포름 분획물에서는 일부 미생물에서만 항균활성이 나타났으며, 에틸아세테이트, 물분획물에서는 항균활성이 나타나지 않다고 하였다(40). 차 에탄올추출물에 함유된 항균성 물질은 오미자, 신갈나무 등과는 달리 특정 용매에만 용해되지 않고 다른 용매에도 용해되는 것으로 보아 한가지 성분이라기보다는 여러 가지 성분이 서로 복합적으로 작용을 하는 것으로 추정된다.

요 약

국내산 야생차를 발효정도에 따라 몇 단계의 발효차를 제조하여 일반세균, 젖산균 및 효모 총 8균주에 대한 항균활성을 검색하고, 항균활성 물질의 미생물에 대한 최소저해농도, 열 및 pH에 대한 안정성, 에탄올추출물의 용매분획별 항균활성을 분석한 결과는 다음과 같다. 국내산 야생녹차의 물추출물과 에탄올추출물의 최소저해농도는 그람양성균에서는 *B. subtilis*가 0.2 mg/mL로 가장 낮았고, 그람음성균에서는 *P. fluorescens*가 0.3~0.5 mg/mL로 가장 낮았으며, 젖산균과 효모는 1 mg/mL이하의 농도에서는 항균활성이 나타나지 않았다. 발효가 많이 진행된 차일수록 불발효차인 녹차에

비하여 항균활성은 점점 감소하였으며, 에탄올추출물이 물추출물보다 항균효과가 더 높았다. 차 항균활성 물질의 열 및 pH 안정성은 50~121°C 및 pH 3~11까지 각 균주의 생육저해환의 크기가 대조구와 비슷하게 나타나 녹차, 반발효차, 발효차 모두 열과 pH에 안정한 것으로 확인되었다. 차 에탄올추출물을 용매 분획한 결과 물분획물에서 생육억제효과가 가장 크게 나타났고, 그 다음으로는 에틸아세테이트 분획물, 에테르 분획물의 순으로 항균활성이 높았으며, 혼산 분획물에서는 항균활성을 보이지 않았다. 각 분획물의 항균활성은 발효가 많이 진행된 차일수록 생육저해환의 크기가 적었으며, 발효도가 높은 국내산 강발효차와 중국산 홍차의 경우 에테르 분획물에서는 항균활성이 나타나지 않았다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 한국과학재단 우수여성과학자 도약 지원연구(과제번호 R04-2001-000-00125-0)의 지원으로 수행된 과제의 일부로서 연구비 지원에 감사드리며, 녹차 및 여러 가지 발효차를 제조하여 주신 다보원 유수용 선생님께 감사드립니다.

문 현

- 정동효, 김종태. 1997. 차의 과학. 대광서림, 서울. p 25~261.
- 최경희. 1999. 우리 차 세계의 차 바로알고 마시기. 서원, 서울. p 28~137.
- Yeo SG, Ahn CW, Kim IS, Park YB, Park YH, Kim SB. 1995. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 293~298.
- Rhi JW, Shin HS. 1993. Antioxidant effect of aqueous extract obtained from green tea. *Korean J Food Sci Technol* 25: 759~763.
- Senji S, Mujo K, Makoto T, Takehiko Y, Takehiko Y. 1989. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against streptococcus mutans, a cariogenic bacterium. *Agri Biol Chem* 53: 2307~2311.
- Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y. 1986. Effect green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 32: 613~617.
- 中林郎, 伊知夫, 板田完三. 1991. 緑茶, 紅茶 烏龍茶の化學と機能. 弘學出版社, 東京. p 83~122.
- Sugiyama K. 1995. Anti-allergic effects of tea. The 3rd international symposium on green tea, Korean Soc Food Sci Technol, Seoul, Korea. p 59~64.
- Yeo SG, Ahn CW, Lee YW, Lee TG, Park YH, Kim SB. 1995. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 299~304.
- Moon JH, Lee JK, Song BH, Park KH. 1996. Aroma of tea. *J Kor Tea Soc* 2: 147~161.
- Choi SH. 1998. Characterization of various tea flavor. *J Kor Tea Soc* 4: 115~133.
- Park YH, Won EK, Son DJ. 2002. Effect of pH on the stability of green tea catechins. *J Fd Hyg Safety* 17:117~123.
- Cho YS, Kim HS, Kim SK, Kwon OC, Jeong SJ, Lee YM. 1997. Antimicrobial and bactericidal activity of green tea

- extracts. *J Kor Tea Soc* 3: 89-103.
14. Kim CS, Chung SK, Oh YK, Kim RY. 2003. Antimicrobial activity of green tea against putrefactive microorganism in steamed bread. *Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 413-417.
 15. Kim BY, Yang WM, Choi J. 2002. Comparison of caffeine, free amino acid, vitamin C and catechins content of commercial green tea in Bosung, Sunchon, Kwangyang, Hadong. *J Kor Tea Soc* 8: 55-62.
 16. Park JH, Kim YO, Kug YI, Cho DB, Choi HK. 2003. Effects of green tea powder on noodle properties. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1021-1025.
 17. Hong HJ, Choi JH, Yang JA, Kim GY, Rhee SJ. 1999. Quality characteristics of Seolgiddok added with green tea powder. *Korean J Soc Food Sci* 15: 224-230.
 18. Kim MJ, Lee SJ. 1994. Effect of Korean green tea, oolong tea and black tea beverage on the removal of cadmium in rat. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 784-791.
 19. Lee HS, Son JY. 2002. Antioxidant and synergist effect of extract isolated from commercial green, oolong and black tea. *Korean J Food & Nutr* 15: 377-381.
 20. Oh DH, Lee MK, Park BK. 1999. Antimicrobial activities of commercially available tea on the harmful foodborne organisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 100-106.
 21. Choi OJ, Choi KH. 2003. The physicochemical properties of Korean wild teas (green tea, semi-fermented tea, and black tea) according to degree of fermentation. *J Korean Soc Food Nutr* 32: 356-362.
 22. Choi OJ, Rhee HJ, Kim KS. 2003. The sensory characteristics in Korean wild teas according to the degree of fermentation. *J Korean Soc Food Nutr* 32: 1011-1020.
 23. Bauer AW, Kirby MM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496.
 24. Piddock LJV. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J Appl Bacteriol* 68: 307-318.
 25. Branch A, Starkey DH, Power EE. 1965. Diversifications in the tube dilution test for antibiotic sensitivity of microorganisms. *Appl Microbiol* 13: 469-472.
 26. MacLowry JD, Jaqua MJ. 1970. Detailed methodology and implementation semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 20: 46-53.
 27. Nakamura S, Kato AM, Kobayashi K. 1991. New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J Agric Food Chem* 39: 647-650.
 28. Kim YG. 1995. Antimicrobial activities of Korean and foreign green tea extract. *Kor J Env Hlth Soc* 21: 39-46.
 29. Kong YJ, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial activity of *Quercus mongolica* leaf ethanol extract and organic acids against food-borne microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 33: 178-183.
 30. Kim YD, Kang SK, Choi OJ, Lee HC, Jang MJ, Shin SC. 2000. Screening of antimicrobial activity of *chopi* (*Zanthoxylum piperitum* A.P. DC.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1116-1122.
 31. Kim YD, Kang SK, Choi OJ. 2001. Antimicrobial activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 692-696.
 32. Ikigai H, Nakae T, HaRa Y, Shimamura T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta* 1147: 132-136.
 33. Hara Y, Ishigami T. 1989. Antibacterial activities of tea polyphenols against foodborne pathogenic bacteria. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 36: 996-999.
 34. Sakanaka S, Mujo K, Makoto T, Yamamoto T. 1989. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a carcinogenic bacterium. *Agric Biol Chem* 53: 2307-2311.
 35. Lee HY, Kim CK, Sung TK, Mun TK, Lim CJ. 1992. Antimicrobial activity of *Ulmus pumila* L. extract. *Korean J Appl Microbial Biotechnol* 20: 1-5.
 36. EI-Shenawy MA, Marth EH. 1989. Behavior of *Listeria monocytogenes* in the presence of sodium propionate. *J Food Microbiol* 8: 85-89.
 37. Park CS, Cha MS. 2000. Comparison of antibacterial activities of green tea extracts and preservatives to the pathogenic bacteria. *Korean J Food & Nutr* 13: 36-44.
 38. Park CS, Cha MS, Kim ML. 2001. Changes in the antibacterial activity of green tea extracts in various pH of culture broth against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*. *Korean J Postharvest Sci Technol* 8: 206-212.
 39. Shin KH. 2004. A study on the change of chemical composition and the effect of antimicrobial activity by the degree of fermentation in Korean tea. *PhD Dissertation*. Sunchon National University, Korea.
 40. Lee JY, Min YK, Kim HY. 2001. Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* Baillon and antimicrobial effect. *Korean J Food Sci Technol* 33: 389-394.
 41. Kong YJ, Kang TS, Lee MK, Park BK, Oh DH. 2001. Antimicrobial and antioxidative activities of solvent fractions of *Quercus mongolica* leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 338-343.

(2004년 12월 15일 접수; 2005년 1월 28일 채택)