(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0010773
(43) 공개일자 2008년01월31일

(51) Int. Cl.
A23F 3/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-0071260
(22) 출원일자 2006년07월28일
심사청구일자 2006년07월28일

(71) 출원인
경상대학교산학협력단
경상남도 진주시 가좌동 900
(72) 발명자
최명석
경남 진주시 금산면 장사리 현대아이파크 107동 1301호
김용덕
경남 진주시 호탄동 619-15번지
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이건철, 정영수, 김순웅

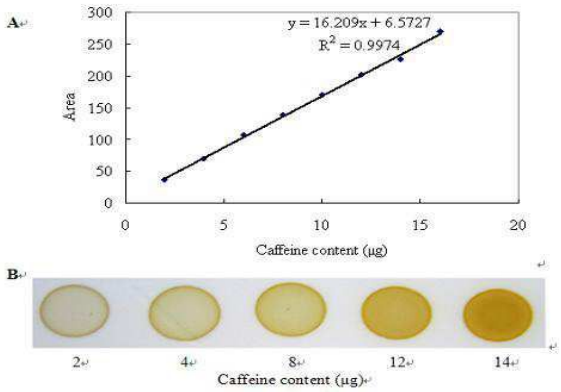
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 차나무내 카페인 함량 선별용 반응액, 이를 이용한 차나무선별 및 차 식품내 카페인 함량 관리 방법

(57) 요 약

본 발명은 차나무내 카페인 함량 선별용 반응액, 이를 이용한 차나무 선별 및 차 식품내 카페인 함량 검사 방법에 관한 것으로, 화학발색 반응법을 적용함으로써 카페인 함량이 낮거나 높은 차나무 개체를 선발해낼 수 있을 뿐만 아니라 기 제조된 차 식품내 카페인 함량 검사 및/또는 관리 등에도 유용하다. 즉, 간단하고 빠른 발색방법을 통하여 차 제품내 카페인의 함량 관리뿐 아니라 차 제품 제조 이전에 차나무 수종내 함유된 카페인 함량을 측정하여 카페인 함량이 낮은 차나무 수종을 적의 선택할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

민지윤

경남 함양군 유림면 손곡리 669-7번지

박동진

경남 산청군 시천면 동당리 522-3번지

특허청구의 범위

청구항 1

요오드화 칼륨(potassium iodide)과 요오드 (iodine)로 이루어진 차나무내 카페인 함량 선별용 반응액

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 요오드화 칼륨과 요오드의 함량은 1:1~2의 비로 혼합한 후 에탄올 100ml당 혼합물 0.5~2.0g 을 녹여 얻어진 것을 특징으로 하는 차나무내 카페인 함량 선별용 반응액

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 반응액의 pH는 중성인 것을 특징으로 하는 차나무내 카페인 함량 선별용 반응액

청구항 4

차나무과 수종으로부터 추출한 추출물을 제1항 내지 제3항중 어느 한항에 의해 얻어진 반응액에 섞는 단계;

상기 혼합액을 박층 크로마토그래피 판 혹은 여과지에 점적하고 색상 반응을 확인하는 단계; 및

색상 반응에 따라 가장 연한 색상을 띄는 추출액을 제공하는 차나무과 수종을 선별하는 단계; 를 포함하여 이루어지는 차나무내 카페인 함량 선별 방법

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 추출물은 차나무과 수종을 분쇄하여 증류수에 넣고 온수조에서 추출한 다음 여과지로 여과한 다음 에틸 아세테이트(ethyl acetate)를 이용하여 추출하고, 에틸 아세테이트로 녹여 얻어지는 것을 특징으로 하는 차나무내 카페인 함량 선별 방법

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 반응액과 추출물의 비율은 0.5~1:1 (v/v)인 것을 특징으로 하는 차나무내 카페인 함량 선별 방법

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 반응액과 추출물의 비율은 0.5:1 (v/v)인 것을 특징으로 하는 차나무내 카페인 함량 선별 방법

청구항 8

제 4항 내지 7항중 어느 한항에 의해 선별된 차나무로부터 얻어진 추출물을 유효성분으로 함유하는 저카페인 차 식품

청구항 9

제1항 내지 제3항중 어느 한항에 의해 얻어진 반응액을 이용하여 카페인 함량을 선별하는 것을 포함하여 이루어지는 차 식품내 카페인 함량 관리방법

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<7> 본 방법은 차나무(*Camellia sinensis* L.,)내 카페인 함량 선별용 반응액, 이를 이용한 차나무 선별 및 차 식품내 카페인 함량 관리 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 간단하고 빠른 발색방법을 통하여 차 제품내 카페인의 함량 관리뿐 아니라 차 제품 제조 이전에 차나무 수종내 함유된 카페인 함량을 측정하여 카페인 함량이 낮은 차나무 수종을 적의 선택가능한 방법을 제공하려는데 있다.

<8> 녹차는 아시아를 비롯한 세계전역에서 매우 선호도가 높으며, 최근 인간의 건강에 대한 관심이 증대됨에 따라 그 소비가 급증하고 있다. 녹차에 포함되어 있는 성분들로는 다당류 (polysaccharides), 플라보노이드 (flavonoids), 비타민 B, C, E (vitamins B, C, E), R-아미노 부티르산 (R-amino butyric acid), 카페인 (caffeine), 카테킨류 (catechin), 플로오르화물 (fluoride) 등의 성분으로 이루어져있다 (Bioresource Technology 97, 790-793, 2006).

<9> 그러나 이러한 성분들중 대부분은 긍정적인 효과를 가지고 있지만, 카페인은 부정적인 효과를 가지고 있다. 카페인은 메틸화된 크산틴 (methylated xanthine)을 의미하는 것으로, 커피 (coffee), 차 (tea), 마테차 (mate) 등에 다량 함유되어 있으며, 코코아 (cocoa)나 초콜릿 (chocolate) 그리고 많은 의약품에도 포함되어 있다 (International Agency for Research on Cancer, 291-307, 1991).

<10> 카페인의 부정적 효과로서는 심장혈관 수축, 불면증, 두통, 소화불량 그리고 혈압상승 등을 들 수 있다 (J. Food Hygienic Society of Japan, 29, 136-140. 1988, Am. Med, 588, 425. 1981, Journal Pharmacol Exp Ther, 149, 156-159, 1965, Postgraduate Medicine, 62, 64-69. 1977, Medical Journal. 326, 420-423, 2003).

<11> 상술한 바와 같이, 카페인의 부정적인 면이 다수 존재함에도 불구하고 카페인 함량이 낮은 차나무를 육성하는 기술은 개발되지 않고 있다. 그러므로 차나무 집단으로부터 카페인 함량이 낮은 차나무를 선발해낼 수 있는 기술은 새로운 차나무 재배 육종에 있어서 전략적으로 매우 중요한 것이다.

<12> 한편, 카페인과 같은 식물 유래 이차 대사산물의 함량 측정은 고성능 액체크로마토그라피, GC 등의 분석을 통해 이루어져 왔으나, 이들 기기분석법은 과정이 복잡하고, 시간과 비용이 많이 소요되며, 많은 노동력을 필요로 한다. 이러한 문제점으로 말미암아 카페인 함량이 낮은 차나무를 선별해내는 효과적인 방법은 아직까지 보고된 바 없다.

<13> 따라서 카페인 함량이 낮은 차나무를 선별할 수 있는 효율적인 방법을 개발할 필요가 있다. 그러나 카페인은 다른 화학물질과 민감하지 않은 것으로 알려져 있다.

<14> 한편, 본 연구동안 하동 차 재배지에서 측정결과 카페인 함량이 178-10854 ㎍의 다양한 농도에서 관찰되었다. 하동을 비롯한 우리나라 차나무는 천년전에 도입되어 변이 가능성이 매우 높아 육종 가능성이 높다. 차나무 재배는 온도, 빛, 농도, 용수 및 생장조절제의 농도에 의해 영향을 받는다고 보고되고 있고, 카페인 등 물질생산도 환경적, 유전적 요인에 의해 영향을 받는다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<15> 이에 본 발명은 상술한 카페인 검출과정의 복잡함으로 인하여 카페인 함량이 낮은 차나무를 선별해내기가 용이하지 않았던 문제점들을 해결하기 위한 것으로, 카페인의 화학적 반응에 착안을 두어 저 비용의 간단한 방법으로 카페인 함량이 낮은 차나무 수종을 선별해내는 반응액과 이를 이용한 선별 방법을 제공하려는데 그 목적이 있다.

<16> 나아가, 차나무 수종뿐 아니라 기 제조된 차 제품내 함유된 카페인 함량 또한 간단하고 빠른 발색 방법을 통하여 검사하고 관리할 수 있는 방법 또한 함께 제공하려는데 그 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

<17> 본 발명의 일견지에 의하면,

<18> 요오드화 칼륨(potassium iodide)과 요오드 (iodine)로 이루어진 차나무내에서 카페인의 함량을 선별하기 위한 반응액이 제공된다.

<19> 본 발명의 제2견지에 의하면,

<20> 차나무과 수종으로부터 추출한 추출물을 상기 일견지에 의해 얻어진 반응액에 섞는 단계;

<21> 상기 혼합액을 박층 크로마토그래피 판 혹은 여과지에 점적하고 색상 반응을 확인하는 단계; 및

<22> 색상 반응에 따라 가장 연한 색상을 띄는 추출액을 제공하는 차나무과 수종을 선별하는 단계; 를 포함하여 이루어지는 차나무 내에서 카페인 함량을 선별하는 방법이 제공된다.

<23> 본 발명의 제3견지에 의하면,

<24> 상기 2견지에 의해 선별된 차나무로부터 얻어진 추출물을 유효성분으로 함유하는 카페인 함량이 낮은 차 식품이 제공된다.

<25>

<26> 본 발명의 제4견지에 의하면,

<27> 상기 일견지에 의해 얻어진 반응액을 이용하여 카페인 함량을 선별하는 것을 포함하여 이루어지는 차 식품 내에서 카페인 함량을 검사하고 관리하는 방법이 제공된다.

<28> 이하, 본 발명에 대하여 구체적으로 설명한다.

<29> 우선, 차나무 내에서 카페인의 함량을 선별하기 위한 반응액에 대하여 살펴보면, 상기 반응액은 요오드화 칼륨(potassium iodide)과 요오드 (iodine)로 이루어진다.

<30> 상기 요오드화 칼륨과 요오드의 함량은 약 1:1~2의 중량비로 혼합하는 것이 선명하게 발색 확인이 가능하므로 바람직하며, 얻어진 혼합물을 에탄올 100ml당 혼합물 0.5~2.0g 을 녹여 얻어진 것을 사용하면 충분하다. 상기 혼합량을 벗어나면 발색이 너무 연하거나 진하므로 시각적으로 분석시 어려워지는 문제가 있다.

<31> 이와 같이 제조된 반응액의 pH는 중성인 것이 바람직하다. 즉, 본 발명에서 실험결과 반응액이 차 추출물과 반응시 중성의 요오드화물이 카페인의 발색 반응을 촉진하는 것을 확인하였다.

<32>

<33> 상술한 바와 같이 하여 얻어진 반응액은 차나무 수종을 선별하는데 적용할 수 있으며, 한편으로는 기 제조된 차 식품내에서 카페인의 함량을 측정하여 관리하는데도 사용될 수 있다.

<34> 이하, 반응액을 사용하여 차나무 수종을 선별하는 방법에 대하여 상세하게 설명한다.

<35> 본 발명의 카페인 함량이 낮은 차나무의 선별 방법은 차나무과 수종으로부터 추출한 추출물을 제1항 내지 제3항중 어느 한항에 의해 얻어진 반응액에 섞고, 상기 혼합액을 박층 크로마토그래피(TLC) 판 혹은 여과지에 점적하고 색상 반응을 확인한 다음, 색상 반응에 따라 가장 연한 색상을 띄는 추출액을 제공하는 차나무과 수종을 선별하는 단계를 거치게 된다.

<36> 이때 사용가능한 차나무과 수종으로는 이에 한정하는 것은 아니나 솜다리동백, 투모로우스 다와 커먼 카멜리아(*Tomorrow's dawa common camellia*), 큰꽃동백나무, 몬지주 카멜리아(*Monsiju camellia*), 동백나무, 미야기 카멜리아(*Miyagi camellia*), 민괴연예다화, 커트 리프 카멜리아(*Cut-leaf camellia*), 비쭈기나무, 우묵사스레피나무, 사스레피나무, 스키마 류큐엔시스(*Schima liukiuensis*), 히브리드 스튜워티아(*Hybrid stewartia*), 모노델프노각나무, 일본노각나무, 중국노각나무, 후피향나무, 김난테라 테른스트로에마(*Gymnanthera ternstroema*), 오바테 스튜어트(*Ovate stewart*) 등을 들 수 있다.

<37> 이때 차나무 추출물은 이에 한정하는 것은 아니나, 발색반응의 효율을 증진시키기 위해서 차나무과 수종을 분쇄하여 증류수에 넣고 온수조에서 추출할 수 있다. 추출온도는 대략 80℃에서 30분 정도 추출하면 충분하다. 온수조에서 추출시 여과지로 여과한 다음 통상 사용하는 에틸 아세테이트(ethyl acetate)를 이용하여 추출한 다음 에틸 아세테이트로 녹여 추출물을 얻어낼 수 있다.

<38> 이와 같이 하여 얻어진 차나무 추출물과 상기 반응액간 혼합비는 반응액: 추출물의 비율이 0.5~1:1 (v/v)인 것이 바람직하고, 약0.5:1 (v/v)인 것이 보다 바람직한데, 이는 도 2에서도 확인할 수 있듯이, 육안으로 발색을 쉽게 확인할 수 있는 비율이기 때문이다.

<39> 육안 확인시 가장 연한 색상을 띄는 추출액을 저 카페인 차나무 수종으로서 선별하였으며, 이는 고성능 액체 크로마토그라피(HPLC, high performance liquid chromatography)를 수행한 결과와도 일치하였다(도 4 및 5 참조).

<40>

<41> 이와 같이 하여 카페인 함량이 낮은 차나무 수종을 선별하여 이를 육성함으로써 이를 가공하여 얻어진 차 식품 또한 그 카페인 함량이 낮은 식품을 얻게 된다. 이뿐 아니라 기 제조된 차 식품 또한 상술한 반응액을 사용하여 그 발색 정도를 육안으로 확인하면 식품내 함유된 카페인 함량을 용이하게 측정하여 관리할 수 있다.

<42> 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 저 카페인 함유 차나무 선발 방법을 구체적으로 설명한다. 이는 본 발명의 실시예일 뿐, 본 발명을 이에 한정하려는 것은 아니다.

<43>

<44> [실시예 1] 카페인 함량이 낮은 차나무 수종의 선별 실험

<45> A. 차 추출액 제조

<46> 본 발명을 위해 하동 지역에 생육하고 있는 야생 차나무들로부터 잎을 채취하여 이중 차나무 잎 500 mg을 분쇄한 후 증류수 8 ml를 넣어 온수조 80℃에서 30분간 추출하였다. 이후 실온에서 30 분간 식힌 후에 증류수로 최종적으로 10 ml로 맞추고 여과지로 여과하였다. 여과액 10 ml을 동량의 에틸 아세테이트(ethyl acetate)를 넣어 3번 추출하였고, 추출물을 건조시켰다. 건조물을 500 ㎕ 에틸 아세테이트로 녹이고, 여과 후 본 추출액으로 카페인 양을 측정하는데 이용하였다.

<47> B. 발색방법 확립

<48> 저 카페인 함유 차나무의 효과적인 선별을 위해 요오드화 칼륨 1g과 요오드 1g을 에탄올 100 ml에 녹인 혼합액을 차 추출액에 처리하였다. 차 추출물을 TSK gel ODS-80Ts 칼럼을 사용하여 UV 280 nm에서 고성능 액체 크로마토그라피(HPLC) 분석을 수행하였다.

<49> 카페인의 정량은 표준물질과 샘플간의 공동 크로마토그램과 머무름 시간을 비교하여 정량하였고, 검량선을 작성하였다.

<50> 도 1(a)는 고성능 액체 크로마토그라피로 분석한 카페인 함량을, 그리고 (b)에는 카페인의 농도에 따른 발색정도를 나타내었다. 카페인 표준물질은 요오드화 칼륨과 요오드가 포함된 반응 용액에서 황색을 띄었다. 차나무 잎의 추출물과 카페인 표준물질은 카페인 함량이 증가할수록 진한 황색을 보여주었고, 카페인 함량이 낮을수록 연한 황색을 나타내었다. 차나무 잎 추출물 역시 카페인 표준용액과 동일한 반응을 나타낸 것을 확인할 수 있었다.

<51> [실시예 2] **차 추출액과 반응액간 최적 혼합농도**

<52> 저 카페인 함유 차나무 선발을 위해 사용될 반응액과 차 추출액간의 반응시 최적의 시각적 측정이 가능한 혼합농도를 규명하기 위하여, 반응액과 차 추출액간에 0.5 : 1 , 1 : 1, 2 : 1 , 1 : 0.5 그리고 1 : 2(v/v)의 다양한 농도로 TLC판에 떨어뜨린 다음 육안으로 최적의 농도를 측정하고 그 결과를 도 2에 A 내지 E로서 각각 도시하였다.

<53> 참고로, 사용된 반응액과 추출물의 함량(mg)은 다음과 같다. A는 반응액 49mg에 추출물 357mg, B는 반응액 98mg에 추출물 238mg, C는 반응액 196mg에 추출물 238mg, D는 반응액 147mg에 추출물 119mg, 그리고 E는 반응액 98mg에 추출물 476mg을 사용하였다.

<54> 도 2에서 A와 B로서 도시된, 반응액 0.5~1 : 차나무 추출액 1 (v/v)의 농도 비율이 육안 확인시 가장 용이한 것으로 확인되었다.

<55> [실시예 3] 발색법에 의한 카페인 함량이 낮은 차나무 선별

<56> A. 발색반응에 의한 육안선발

<57> 카페인 함량이 낮은 차나무를 신속하고 효율적으로 선별하기 위하여, 하동지역에 자생하는 차나무 160개체의 신엽을 채취하여 실시예 2에서 확인한 최적의 혼합조건(반응액: 차추출물= 0.5 : 1(v/v))하에 반응시키고, TLC판과 여과지에 떨어뜨린 다음 색상의 농도를 육안으로 판단하였다.

<58> 그 결과 도 3에서 보듯이, 하동지역에서 채집한 160개체의 차나무들은 매우 다양한 발색반응을 나타내었다. 발색정도에 따라 상위 10개체, 하위 10개체를 각각 1차적으로 선발하였는데, 이 중 H-82개체의 추출물이 가장 진한 반응을 보였고, H-19개체는 가장 연한 색을 나타내었다.

<59> B. HPLC 분석 발색법을 이용하여 선별된 차나무내 카페인함량 검증

<60> 본 실시예는 실시예 3A에서 선별된 카페인 함량이 낮은 차나무내 카페인 함량이 실질적으로 낮은지를 검증하기 위한 것이다.

<61> 건조 총중량이 500 mg인 차나무 잎을 파쇄하여 살균된 증류수 8 ml를 넣고 80℃로 조절된 온수조에서 30분간 추출하였다. 그 후 추출액은 실온에서 30분간 식힌 후 최종 볼륨을 10 ml 로 한 후 여과지로 추출액을 여과하였다.

<62> 여과지로 여과된 여과액 10 ml을 동량의 에틸 아세테이트(ethyl acetate)로 3반복해서 추출하고, 진공 감압하에서 건조시켰다. 건조된 잔여물을 500 ㎕ 에틸 아세테이트에 녹인 후 프리필터(0.2㎛, Adventek)를 사용하여 여과한 후 발색법과 고성능액체크로마토그라피 분석에 사용하였다.

<63> 카페인의 함량분석은 고성능 액체 크로마토그라피(HPLC)로 수행하고 그 결과를 도 4에 도시하였다. 카페인의 정량분석은 시그마사에서 구입한 카페인 표준물질의 검량선을 작성하여 행하였다. 이때 카페인의 상관계수(r)는 0.99였으며, 3반복에 대한 편차는 0.001%였다. 카페인은 머무름 시간 및 표준물질과의 공동주입(co-chromatography)를 통하여 확인하였다.

<64> 차나무 수종들의 추출물을 HPLC 분석한 결과 카페인이 머무름 시간은 5분대로 나타났다. 카페인의 확인을 위한 추출물과 표준물을 함께 주입한 결과 표준품과 동일한 머무름 시간을 보여 동일한 물질임이 추정되었다(도 4).

<65> C. 분석조건

<66> 1) 고성능액체크로마토그라피 시스템: 길슨

<67> 2) 이동상: 아세토니트릴 (acetonitrile):0.2% 인산 (25:75)

<68> 3) 칼럼: TSK gel ODS-80Ts (10 cm, 4.5 X 250 mm, 토쇼)

<69> 4) 유속: 0.5 ㎖/min

<70> 5) 주입량: 20 ㎕

<71> 6) 검출기: 자외선 검출기 (Gilson UV 3000)

<72> 7) 검출파장: UV 280 nm

<73> 분석 결과, 실시예 2에서 발색법을 통해 얻어진 카페인 함량이 낮은 차나무 수종이 실시예 3에서 HPLC 분석시에서도 유사한 결과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 1차적으로 색이 진한 그룹과 연한 그룹을 분리하여 서로간의 카페인 함량을 고성능 액체 크로마토그라피 분석을 통해 확인할 수 있었다. 가장 진한 색깔의 H-82은 건중 당 10854 ㎍을, 그리고 가장 연한 색깔의 H-19은 건중 당 178 ㎍의 카페인 함량을 나타냈다 (도 4).

<74> D. 카페인 함량이 낮거나 높은 차나무의 재검증

<75> 도 5는 발색법을 통해 선별된 연한 색깔을 보여준 그룹 (10개 개체)와 진한 색깔을 보여준 그룹 (10개 개체)간의 카페인 함량을 측정하고 그 결과를 도시한 도면이다.

<76> 도 6은 고함유 및 저함유 그룹으로 선발된 것 중 각각 4개체들을 2-3개월 간격으로 3차 시기(2005년 11월, 2006년 2월, 2006년 4월)에 걸쳐 차잎을 채취하여 다시 HPLC 분석한 결과를 도시한 도면이다. 8개의 개체 모두에서 카페인 함량은 발색법에 의해 1차적으로 선발된 것과 유사한 결과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

<77> 그리고 선발된 개체들의 카페인 함량은 3차 시기에 걸친 분석에서도 동일한 경향을 보였다. 그러나 채집 시기에 따라 카페인 함량은 다소 다르게 나타났다. 참고로, 차나무의 카페인 함량은 겨울에 비해 봄에 더 높게 나타났다.

<78> 한편, 연한 색깔과 진한 색깔을 보여준 그룹에서 각각 10개체들을 선별한 후 2개의 그룹의 카페인 함량을 고성능액체크로마토그라피분석을 통해 정량하였다. 그 결과 1차적으로 선별된 연한 색깔을 보여준 그룹(10개 개체)은 카페인 함량이 평균적으로 건중 당 3402 ㎍으로 나타났고, 진한 색깔을 보여준 그룹(10개 개체)은 카페인

함량이 평균적으로 건중 당 7613 ㎍을 보여주었다.

발명의 효과

<79> 상술한 바에 따르면, 화학발색 반응법을 적용함으로써 카페인 함량이 낮거나 높은 차나무 개체를 선발해낼 수 있을 뿐만 아니라 기 제조된 차 식품내 카페인 함량 검사 및/또는 관리 등에도 유용하다. 즉, 간단하고 빠른 발색방법을 통하여 차 제품내 카페인의 함량 관리뿐 아니라 차 제품 제조 이전에 차나무 수종내 함유된 카페인 함량을 측정하여 카페인 함량이 낮은 차나무 수종을 적의 선택할 수 있다.

도면의 간단한 설명

<1> 도 1은 카페인 농도에 따른 분석 결과를 도시한 도면으로서, (a)는 고성능 액체 크로마토그라피 분석결과를 도시한 그래프이고, (b)는 카페인 농도에 따른 발색정도 (B)를 대비한 도면이며,

<2> 도 2는 카페인 함량이 낮은 차나무(LL)와 카페인 함량이 높은 차나무 (HL)추출물에 있어 요오드 반응액의 최적 농도 조건을 도시한 도면으로서, 이때 A,B,C,E,D는 반응액과 차나무 추출물간 비율(v/v)을 나타낸 것으로서, A는 0.5:1, B는 1:1, C는 2:1, D는 1:0.5, 그리고 E는 1:2를 나타낸 것이며,

<3> 도 3은 상술한 도 2의 조건하여 각기 다른 차나무 추출물 로부터 얻어지는 다양한 발색반응을 도시한 도면이며,

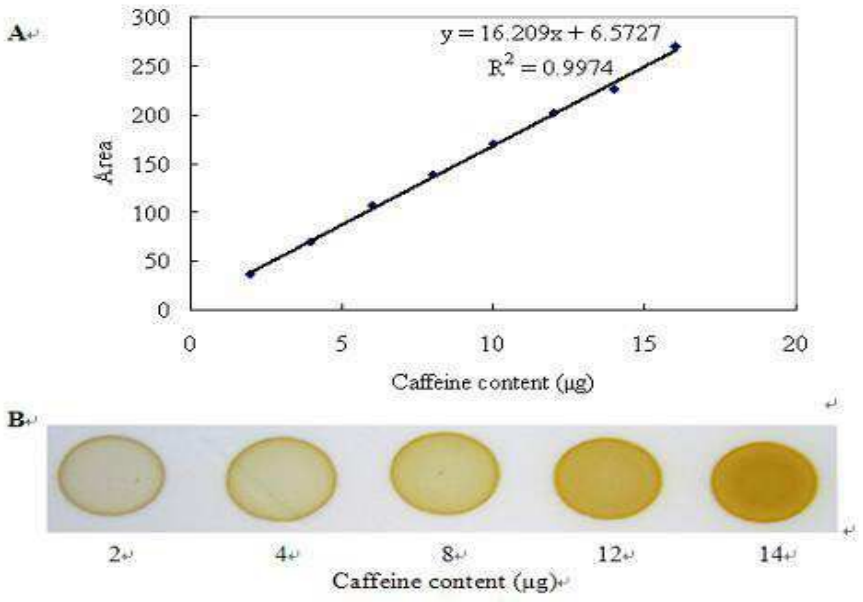
<4> 도 4는 본 발명으로부터 가장 진한 발색반응을 나타내는 추출물과 가장 연한 발색반응을 나타내는 것으로 확인된 2종류의 추출물 각각에 대한 고성능액체크로마토그라피 분석결과를 도시한 도면으로서, (a)는 가장 진한 발색을 나타내는 차나무 H-82 개체, 그리고 (b)는 가장 연한 발색을 나타내는 차나무 H-19 개체이고,

<5> 도 5는 선발된 각 차나무 개체로부터 고성능 액체 크로마토그라피를 이용해 카페인 함량이 낮은 개체와 높은 개체 각각의 함량을 정량 분석한 그래프로서, 좌측이 가장 연한 발색을 나타내는 차나무 H-19 개체이고, 우측이 가장 진한 발색을 나타내는 차나무 H-82 개체이며, 그리고

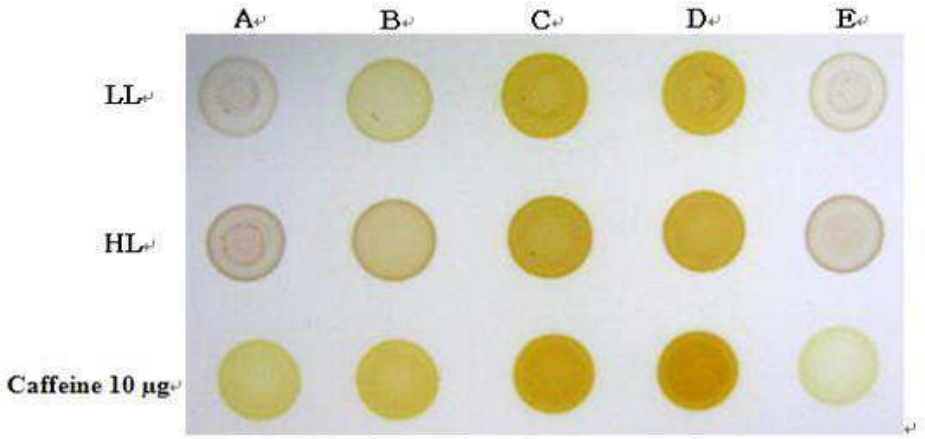
<6> 도 6은 선발된 각 차나무 개체로부터 시기를 달리한 것을 제외하고는 도 5와 동일한 방법을 반복하여 고성능 액체 크로마토그라피로 카페인 함량여부를 조사한 다음 그 결과를 도시한 그래프로서, 좌측은 가장 연한 발색을 나타내었던 차나무 H-19 개체이고, 우측은 가장 진한 발색을 나타내었던 차나무 H-82 개체이다.

도면

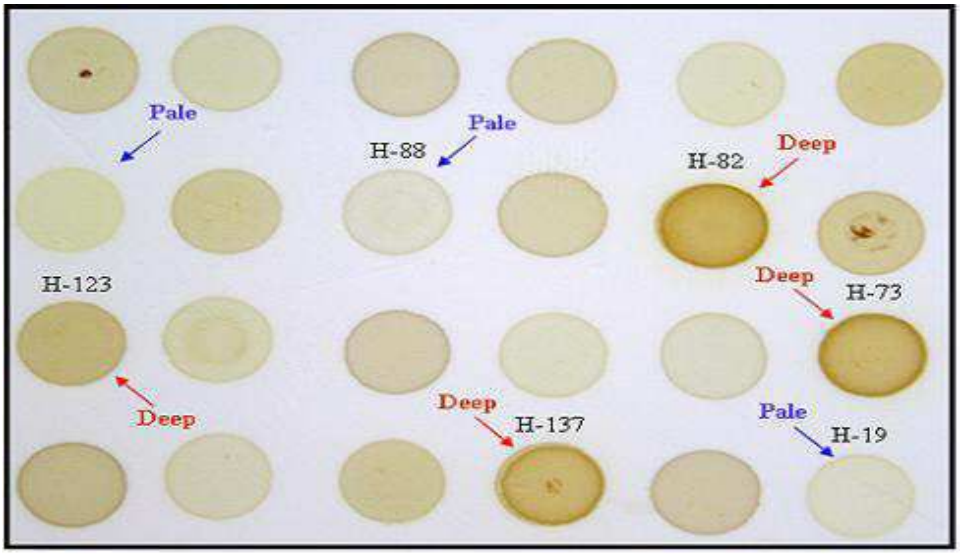
도면1



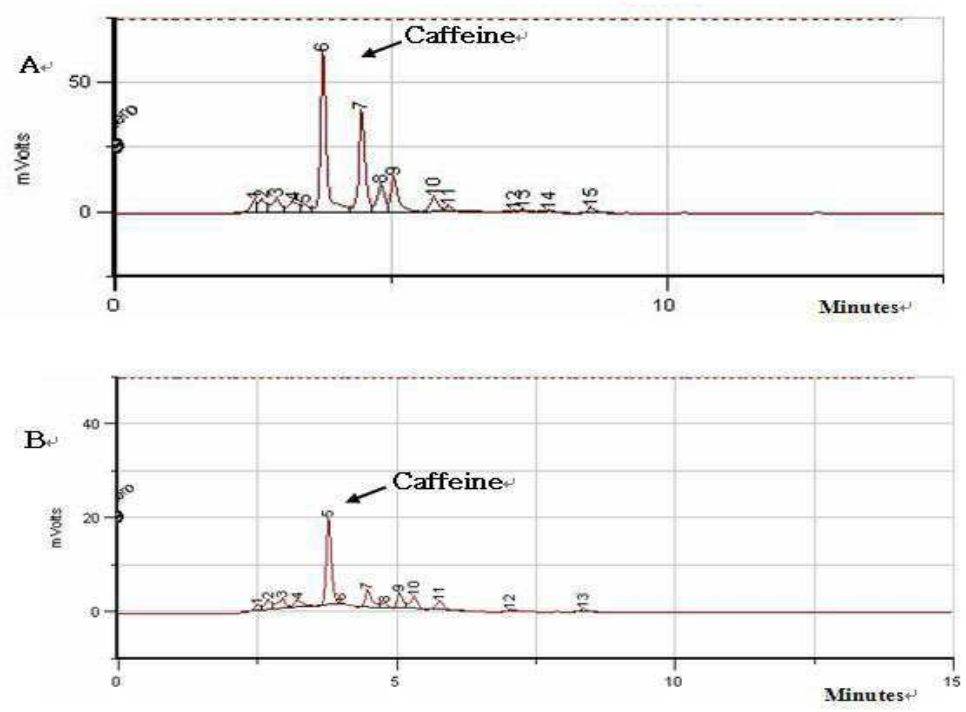
도면2


A
B
C
D
E
LL
HL
Caffeine 10 μg

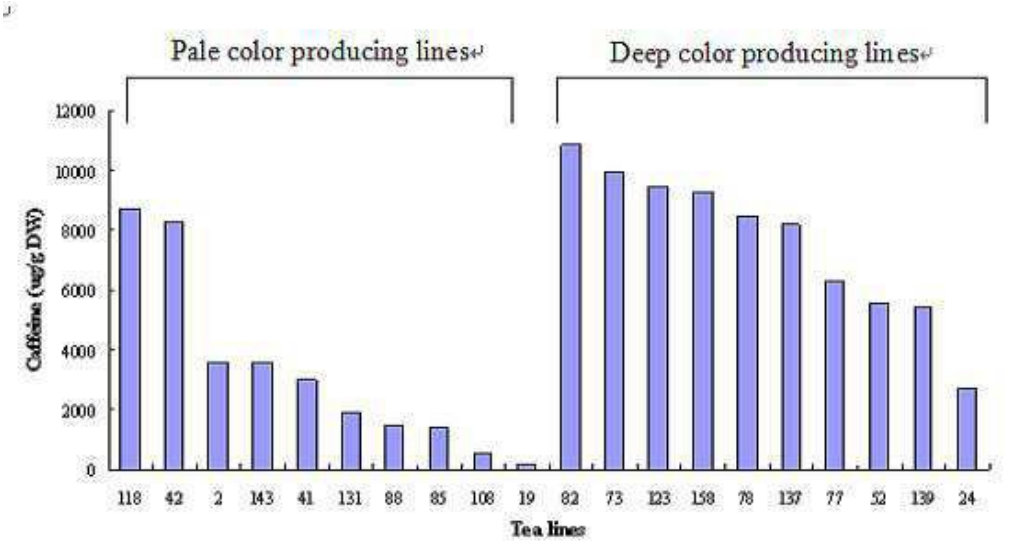
도면3


Pale
Pale
H-88
Deep
H-82
H-123
Deep
H-73
Deep
Deep
H-137
Pale
H-19

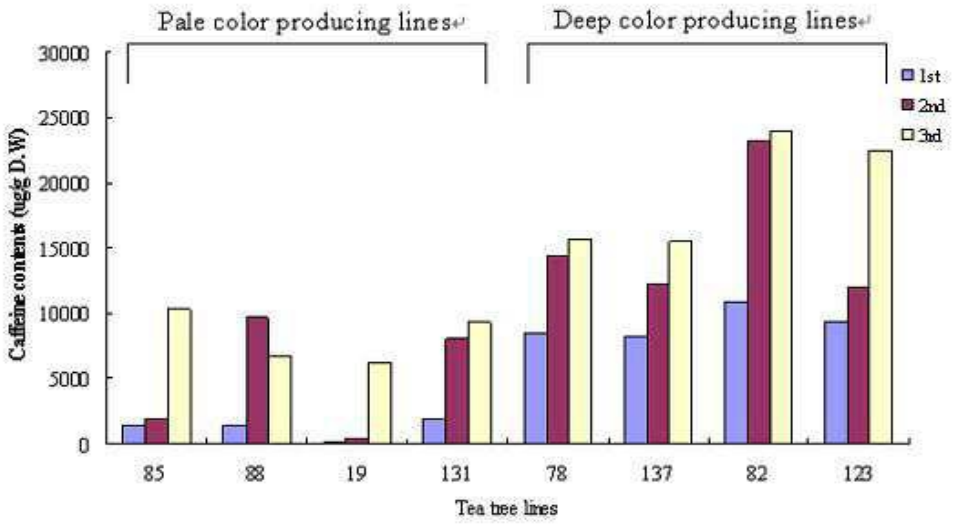
도면4


A
Caffeine
mVolts
50
0
0
10
Minutes
B
Caffeine
mVolts
40
20
0
0
5
10
15
Minutes

도면5


Pale color producing lines
Deep color producing lines
Caffeine (ug/g DW)
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
118 42 2 143 41 131 88 85 108 19 82 73 123 158 78 137 77 52 139 24
Tea lines

도면6


Pale color producing lines
Deep color producing lines
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
Caffeine contents (ug/g D.W)
1st
2nd
3rd
85
88
19
131
78
137
82
123
Tea tree lines