

## 기능성 차 특성구명 및 안정생산 기술개발

Production technique of tea leaves containing functional ingredients and characterization of medical benefits

주관연구기관	제주대학교
연구책임자	이영재
발행년월	2015-03
주관부처	농촌진흥청
사업관리기관	농촌진흥청
NDSL URL	<a href="http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201600010853">http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201600010853</a>
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 17:22:21

### 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.

## 완결과제 최종보고서

일반과제(○), 보안과제( )

(과제번호 : PJ009743)

기능성 차 특성구명 및 안정생산 기술개발

(Production technique of tea leaves containing functional ingredients and  
characterization of medical benefits)

제주대학교

연구수행기간

2013.01 ~ 2014.12

농촌진흥청

# 제 출 문

농촌진흥청 청장 귀하

본 보고서를 “기능성 차 특성구명 및 안정생산 기술개발” 과제의 보고서로 제출합니다.

제1세부연구과제 : 기능성 차의 생리활성 구명

제1협동연구과제 : 기능성 차의 안전생산 기술개발

2015. 3. 3.

주관연구기관명	: 제주대학교
주관연구책임자	: 이 영 재
연 구 원	: 송 관 정
“	: 조 연 동
“	: 김 정 희
“	: 오 은 의
“	: 상 알 리
“	: 프 레 티
“	: 김 권 수
“	: 송 승 운
“	: 송 인 관
“	: 윤 정 희
“	: 고 정 숙
“	: 강 재 건
“	: 조 연 동

제1협동연구기관명	: 제주특별자치도 농업기술원
제1협동연구책임자	: 김 권 수

주관연구책임자 : 이 영 재  
주관연구기관장 : 제주대학교  
산학협력단장



# 요 약 문

## I. 제 목

기능성 차 특성구명 및 안정생산 기술개발

(Production technique of tea leaves containing functional ingredients and characterization of medical benefits)

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 제주지역의 새로운 소득 작목 육성 정책과 연계하여 차 재배농가와 면적이 급속히 증가하여 전국대비 재배면적 10.5%(341ha), 생산량 14.0%(501톤)에 이르고 있음
- 녹차 재배와 관련하여 제주는 천혜의 자연환경 조건을 갖추었지만, 후발지역으로서 보성, 하동 등 기존 산지와 차별화를 통한 신소득 녹차산업의 육성은 미흡한 편임
- 또한 지속되고 있는 국내 녹차 소비시장의 침체로 차수확 포기 등이 이어지면서 제주 녹차 농가의 어려움이 가중되고 있음
- 최근 세계인구 고령화 추세에 따른 웰빙 건강기능 식품의 시장규모의 지속적인 확대에 소비자의 욕구에 잘 맞추어진 고부가 농식품 제품 개발로 농가소득원 개발이 요구되고 있음
- 특히 일본, 유럽 등 선진국에서 당뇨병, 심장질환, 동맥경화, 고지혈증의 증가로 치료예방에 효과적인 바나듐, 셀레늄 등에 대한 관심이 매우 높아 고부가 원료 및 제품 생산기술의 개발이 필요함
- 그러므로 녹차의 소비촉진 및 유통마케팅 경쟁력 강화를 위한 안전한 기능성 차의 개발을 위해 바나듐, 셀레늄 및 게르마늄 차의 항당뇨, 항비만 등의 효능을 평가가 요구됨
- 또한, 바나듐 등 기능성 물질의 지속적인 처리가 차나무 및 토양 특성에 미치는 영향을 분석하여, 기능성 녹차 안정적 재배기술을 확립코자 함

## III. 연구개발의 내용 및 범위

- 바나듐, 셀레늄 및 게르마늄 차의 효능평가
  - 지방 유래 줄기세포(human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cell)와 3T3 L1 지방세포모형을 이용하여 바나듐함유 차의 추출물에 대해 지방분화 억제 및 관련 메카니즘 연구함
  - L6 근육세포를 이용하여, 바나듐, 셀레늄, 게르마늄 등 함유 차의 추출물에 대해 포도당 흡수능, insulin signaling pathway (Akt, AMPK), 등 항당뇨 기전연구를 수

## 행함

- streptozotocin 유발 당뇨생쥐에서 셀레늄 녹차 추출물의 당뇨개선효과 구명함
- 셀레늄, 게르마늄 기능성 차의 타 유기성분과의 관계를 구명코자 셀레늄, 게르마늄 함량 기능성 차의 아미노산, 카테킨, 폴리페놀 등의 유기성분을 분석함
- 유기 바나듐, 셀레늄 및 게르마늄의 지속처리에 의한 식물체 흡수능 및 영양 평가
  - 료후 품종에서의 유기 바나듐의 차기별, 농도별, 처리회수별 식물체의 흡수능과 신초생육 및 무기성분 함량 특성을 분석·평가함
  - 야부기다 품종에서의 유기 셀레늄의 차기별, 농도별, 처리회수별 식물체의 흡수능과 신초생육 및 무기성분 함량 특성을 분석·평가함
  - 후순 품종에서의 유기 게르마늄의 차기별, 농도별, 처리회수별 식물체의 흡수능과 신초생육 및 무기성분 함량 특성을 분석·평가함

## IV. 연구개발결과

- 기능성 차의 생리활성 구명
  - 근육세포(L6)에서 바나듐 처리 녹차는 정상 녹차보다 포도당 흡수를 증가시켰다. 바나듐 처리 녹차는 Akt 인산화에는 영향을 미치지 못하였으나 AMPK 인산화는 증가시켰다. 동시에 포도당 수송체 4 (Glut4)의 세포막 이동을 증가시켰다. AMPK inhibitor인 compound C의 처리는 AMPK 인산화, Glut4의 발현 및 포도당 흡수에 대한 바나듐 처리 녹차의 영향을 차단하였다. 이런 결과로 바나듐 처리 녹차는 인슐린 비의존적인 AMP-activated protein kinase (AMPK) 경로를 통해 포도당 수송체 4 (Glut 4)가 활성화되어 Glut 4가 세포질에서 세포막으로 이동함으로써 세포내로 포도당 유입을 촉진시킴을 알 수 있었다.
  - 셀레늄 녹차 추출물 또한 L6 세포의 포도당 이용율을 농도 의존적으로 증가 시켰다. 이런 현상은 30분-60분대에서 이루어졌다. 셀레늄녹차 추출물을 처리 시 보이는 포도당 흡수능의 촉진은 AMPK 억제제인 compound C에 의하여 현저히 억제 되는 것을 확인 하였다. Steptozotocin에 의한 당뇨유발 동물에서도 셀레늄녹차 추출물은 정상 대조군에 비하여 유의한 혈당 강하 효과가 관찰되었으며, 유의한 내당능 개선 효과를 관찰 할 수 있었다.
  - 유기 바나듐 및 셀레늄을 1번 차기 및 2번 차기에 각각 수확전 15일부터 5일 간격으로 엽면살포 처리한 후 신초내 유기성분 함량 및 품질에 미치는 영향을 평가한 결과 이들 물질의 처리횟수 및 농도에 따라 신초에서의 흡수 농도는 다르게 나타났다. 바나듐의 흡수는 신초내 아미노산, 카페인, 폴리페놀, 카테킨의 함량에 영향하지

않은 것으로 나타났으나, 셀레늄의 경우는 그 영향이 분명치 않았다.

○ 기능성 차의 안정생산 기술개발

- 유기 바나듐은 차기별로 농도를 달리하여 관주시스템과 엽면시비로 료후 품종과 야부기다 품종에 처리하였다. 6.0 ppm 이상의 농도를 관비 시스템으로 처리하였을 경우, 1심 3엽기에 비해 1심 1엽기에 일찍 관주처리 했을 때 신초의 바나듐 함량을 증가시켰다. 재배방식에 따른 흡수능은 포트재배 차나무가 노지포장에 재식된 차나무보다 높게 나타났다. 엽면시비에서 수확 전 1회 살포는 식물이 성장함에 따라 희석 효과를 가지며, 3회까지 처리 횟수를 증가함에 따라 신초의 유기 바나듐 함량은 증가하는 경향을 보여 주었고, 이는 모든 차기에 관계없이 유사하였다. 신초의 위치에 따라 모든 잎의 바나듐 함량은 동일하지 않고, 오래된 하위엽에서 높은 함량을 나타내었는데, 이는 신초가 성장함에 따라 상위엽에서 희석효과를 가지기 때문인 것으로 추정되었다.

- 유기 셀레늄은 차기별로 농도를 달리한 엽면 살포로 야부기다 품종에, 유기 게르마늄은 후순 품종에 처리하였다. 0, 20, 40,80 ppm 농도를 각각 처리 구간 비교해 보면 농도가 진해질수록 차나무 체내 누적량은 점차 증가됨을 보였으며, 처리횟수별 엽면처리 방법으로 처리하였을 경우, 횟수가 증가할수록 누적량은 증가하였다, 엽차레별 셀레늄 누적량의 비교에서는 2~3엽부위에서 가장 누적량이 많은 것으로 측정되었고 1번엽과 5번엽은 누적량이 다소 적어지게 나타났다. 엽면시비에서는 수확 전 1회 살포는 식물이 성장함에 따라 희석 효과를 가지는 것으로 보이며, 3회까지 처리 횟수를 증가함에 따라 신초의 유기 셀레늄 함량은 증가하는 경향을 보여 주었고, 이는 모든 차기에 관계없이 유사하였다. 신초의 위치에 따라 모든 잎의 셀레늄 함량은 동일하지 않고, 오래된 하위엽에서 높은 함량을 나타내었다.

- 유기 바나듐,셀레늄 및 게르마늄의 차나무 생육 양상에 변화를 끼치는지 알아보고자 조사한 처리농도별 신초길이, 수량, 무게는 무처리구와 처리구간의 유의성을 보이지 않았으며, 각 무기성분의 처리횟수별 처리 구간에도 크게 영향을 미치지 않는 것으로 조사되어, 본 실험에서는 처리농도가 차나무의 생육양상에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 나타났다.

## V. 연구개발결과의 활용계획

### ○ 기능성 차의 개발과 농가 소득원 확대

- 바나듐은 열수에 추출되기 어려워 일반 녹차 제품의 개발은 여의치 않으나, 분말을 이용한 가루차 및 식품 소재 이용은 가능할 것으로 판단되어, 추후 바나듐 강화 가루차 개발 등에 활용할 계획임
- 최근 차광재배에 의한 가루차 분말 수요가 증가하고 있어, 차광재배시 유기 바나듐, 셀레늄 및 게르마늄 처리에 따른 흡수능 평가와 생산기술 개발에 활용코자 함

# S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

For developing the new functional teas, the anti-diabetic, anti-hyperglycemic effects by vanadium-, selenium-, or germanium-enriched green tea extracts and organic component contents in vanadium- or selenium-enriched green tea were investigated.

To investigate the effects of vanadium-enriched green tea on glucose consumption in L6 myotubes, L6 cells were treated with vanadium-enriched tea extract(Va-TE) group for 3 h. Va-TE group significantly increased glucose consumption than the control group to produce regular tea. Va-TE group stimulated the phosphorylation of AMPK but not of Akt. Va-TE group also stimulated the translocation of Glut4 from the cytoplasm to the plasma membrane. Taken together, these findings suggest that vanadium-enriched green tea displays beneficial effects in the glucose consumption, at least in part by stimulating AMPK activity.

Selenium-enriched green tea extracts(Se-T) on glucose consumption in vitro rat skeletal muscle cells and anti-hyperglycemic effects in diabetic mice were investigated. Glucose uptake were determined in L6 rat skeletal muscle cells. 32 male ICR mice were randomly divided into 4 groups, mice in each group: normal, diabetes, diabetes with green tea treatment, and diabetes with Se-T treatment for 4 weeks. Diabetic male mice were induced by streptozotocin. Oral glucose tolerance was determined at the end of experiment. Se-T extract increased basal glucose consumption in a time and dose-dependent manner in L6 rat skeletal muscle cells. Se-T decreased a glucose, food intake, water intake, and showed improvement in oral glucose tolerance in streptozotocin-induced diabetic mice. Se-T shows anti-diabetic effects in rat skeletal muscle and streptozotocin induced diabetic mice.

The effect of vanadium and selenium absorption on organic component contents and tea quality was evaluated. Chelated vanadium or chelated selenium was foliar sprayed with 5-day intervals 15 days before plucking in the 1st and 2nd cropping season, respectively. The contents of these components were increased with an increase of spray frequency and concentration. There was no any significant increase of content in organic components including amino acids, caffeine, polyphenols, and catechins by an increase of vanadium content. However, it was not clear that selenium can induce the change in contents of organic components.

The study was conducted to evaluate the capacity of tea plants absorbing vanadium or selenium with the purpose of developing the special tea with added functional components. Chelated mineral (vanadium or selenium) was supplied into 'Ryohu' or 'Yabukita' tea plants by fertigation system or foliar spray at different concentrations in different tea seasons. Tea leaves treated by fertigation above 6.0 ppm showed higher content than control and fertigation supply at the early stage of one leaf a bud increased the vanadium content of tea leaves compared to the late stage of three leaves a bud. Potted plants showed higher absorption rate than plants growing at open field. Once spray before harvesting 15 days had



a dilution effect as plants grew and the increase of spray time up to triple had the tendency to increase vanadium content in tea leaves, which was in accord with different tea seasons. Vanadium contents were not same in tea leaves at different positions harvested after treating chelated vanadium and old leaves located at the lower part of shoots had higher content, which may be caused by dilution as shoots grow.

To research how to use the selenium mineral on the tea plants, the tea leaves treated with 20, 40, 80 ppm showed higher content than control leaves. Foliar spray applied to the early stage of three leaf a bud was increased the selenium content of tea leaves compared to the control of three leaves a bud. Tea plants was shown the more increasing apply number foliar sprays the more absorption rate was increased. highly. Once spray before harvesting 15 days, tea plants had shown a dilution effect as plants grew and had the tendency to increase selenium content in tea leaves. Selenium contents were not same in numerical order of tea leaves after treating chelated selenium and old leaves located at the lower part of shoots had higher content, which may be caused by dilution as shoots grow.

The general processs of making the tea products was conducted by high temperature steam, which was the problems of wasting energy, high costs and unsanitary conditions. It was invented that the tea leaves was treated with microwave in sultry states. The micro wave process was spotlighted on setting the great sultry method to reduce the waste energy, unefficiency and microbe contamination. The sultry process making the tea products has been used the microwave in the first sultry states.

# 목 차

제 1 장 서 론 .....	8
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	9
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	10
1절 기능성 차의 생리활성 구명 .....	10
2절 기능성 차의 안전생산 기술개발 .....	20
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도 .....	34
1절 목표대비 대외 달성도 .....	34
2절 정량적 성과 .....	35
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	36
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	37
제 7 장 기타 중요 변동사항 .....	38
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구장비 현황 .....	39
제 9 장 참고문헌 .....	40

# 제 1 장 서 론

차나무(*Camellia sinensis* L.)는 동백나무과에 속하는 아열대성 다년생 상록 식물로서, 원산지는 아시아의 동남부 지역인 인도의 아쌈 지방을 포함한 중국의 서남부 지대에 속하는 사천성과 운남성 일대로 알려져 있다(Anan 등, 1991; Kim 등, 1998). 제주지역에서는 감귤 중심의 농업 구조를 개선하기 위하여 새로운 소득작목의 육성 정책과 연계하여 차 재배농가와 면적이 꾸준히 증가하여 왔으나, 2011년 현재 제주녹차 산업은 조수입 109억원 내외의 수준에 머물고 있다. 2011년 제주의 녹차 재배면적 341 ha(전국대비 10.3%), 생산량 352 톤(전국대비 16.7%)에 이르고 있다. 제주는 온난하고 강우가 풍부하여 녹차 재배에 천혜의 자연환경 조건을 갖추었지만(Song 등, 2012), 후발지역으로서 보성, 하동 등 기존 산지와 차별화를 통한 산업 육성은 미흡한 편이다. 특히 최근 녹차산업의 침체가 지속되어 일부 농가들은 차 수확을 포기하거나 폐원하는 등 제주 녹차 농가의 어려움이 가중되고 있다. 소비확대를 위한 다양한 제품 및 재배기술 개발이 시급히 요구되고 있다.

최근, 일반적인 녹차 제품 이외에 지역특화 기술로 녹차나물 및 녹차추출물이 개발되어 마케팅이 시작되고 있으나, 아직 미미한 수준이다. 대도시의 많은 소비자들은 커피에 대한 선호도를 높게 유지하고 있다. 일부 젊은 층을 중심으로 홍차, 허브차 등 발효차 및 블랜딩 차에 대한 소비가 증가하고 있으나 반발효차, 발효차, 지역특산 혼합차 등 다양한 제품개발은 미흡한 편이다. 이에 반해 최근 세계적으로 웰빙에 대한 일반인의 관심은 급증하고 있다. 이에 따라 웰빙 건강 기능 식품 시장 규모는 지속적으로 급성장하고 있다. 특히, 일본·유럽 등 선진국에서 당뇨병, 심장질환, 동맥경화, 고지혈증의 증가로 치료예방에 효과적인 바나듐, 셀레늄 등에 대한 관심이 매우 높은 것으로 알려지고 있다.

일반적으로 바나듐의 기능은 인산 전이반응의 저해, “아데닐레이트-사이클레이즈”(adenylate cyclase)와 “프로틴-카이네이즈”(protein-kinase)의 활성화, 감상선 기능에 관계하는 호르몬 수용체에 대한 작용, 암 유전자 발현의 불활성화, 약물의 산화적 탈메틸화 반응의 저해, 골 세포 증식 및 골 콜라겐 합성의 촉진, 비만 세포로 부터의 히스타민의 유리촉진, 당뇨병에 따른 여러 가지 대사결함의 치유, 인슐린 대체 항당뇨효과 등이 보고되어 왔다. 국내에서도 바나듐이 함유된 음료수가 제2형 당뇨병에 걸린 모델 동물을 이용한 시험에서 당뇨 개선 효과를 나타내었다는 연구결과가 보고된 바 있다(2008, 한국생명공학연구원). 셀레늄은 여러 무기 및 유기 화합물의 형태로 존재하며 그 농도에 따라 생체 내 필수 미량 원소로 작용하여 과산화지질 분해제거, 심근 퇴행성 질환과 심장기능 향상, 중금속 해독 및 인체 신진대사에서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있다.

이들 기능성 소재를 이용한 기능성 차의 개발은 새로운 농가 소득원으로 활용되어 침체된 한국 차 산업을 발전시켜 나갈 수 있을 것이다. 그러므로 바나듐 및 셀레늄 등의 기능성 소재 이용 차 제품 개발 및 이용 기술개발이 시급히 요구되고 있다. 그러나 이들 기능성 성분은 인체에 축적될 경우 유해성이 높은 것으로 알려져 있다. 따라서 바나듐 및 셀레늄을 이용한 기능성 제품 인정을 위한 효능 검정은 물론이고 독성에 대한 유해성 및 안전성 평가도 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 대사질환 세포모델에서 바나듐 및 셀레늄의 효능을 평가하고, 한편으로는 이들 물질의 신초 흡수에 따른 타 유기성분 조성 및 함량에 미치는 영향을 분석하여 유해성 여부를 평가하고자 수행하게 되었다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

일본, 미국 등 선진국에서는 미량원소 물질인 바나듐 및 셀레늄 등이 당뇨병 예방 또는 치료제로 주목을 받고 있으며, 이에 따른 기능성 농산물 제품개발이 시도되고 있다(Hu 등, 2003; Song 등, 2013). 특히 중국에서는 셀레늄 흡착 증가에 따른 차의 아미노산 증가 등 기능성 차 개발이 오래 전부터 시작되어 왔다. 그러나 국내에서는 이들 미량원소 물질을 이용한 기능성의 차의 개발은 거의 연구된 바 없다. 다만, 제주특별자치도 농업기술원에서 유기 바나듐의 처리 방법(엽면살포 및 관주), 희수 및 농도에 따라 차잎에 흡수되는 정도가 다름을 확인한 바 있으나, 흡수 기작 및 지속적인 처리에 따른 식물체 및 토양 환경에의 영향 등은 구명되지 못하였다(Song 등, 2013). 전북의 헬스푸드법인에서는 작물에 살포시 바나듐 강화 농산물 생산이 가능한 아연 및 바나듐 함유 활성액 개발이 보고된 바 있으며, 바나듐 강화 현미쌀 및 마늘 제품을 개발하여 판매하고 있다(2014. 우리마당 장터블로그). 또한 일부에서 제주위터와 생물자원을 활용한 바나듐 혼합음료 상품화 추진계획(SH제약 2010)이 보도된 바 있고, (주) 휴림이 제주 지하수의 바나듐을 이용한 바나피트 등 제품을 개발(2012)하여 시장에 출시가 보고된 바 있다. 최근 바나듐의 기능성에 대한 인식이 확대되면서 제주특별자치도 서귀포시 헬스케어타운내 WE 호텔에서는 천연탄산과 바나듐이 함유된 물을 수치료에 이용한다는 보고도 있다.

# 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

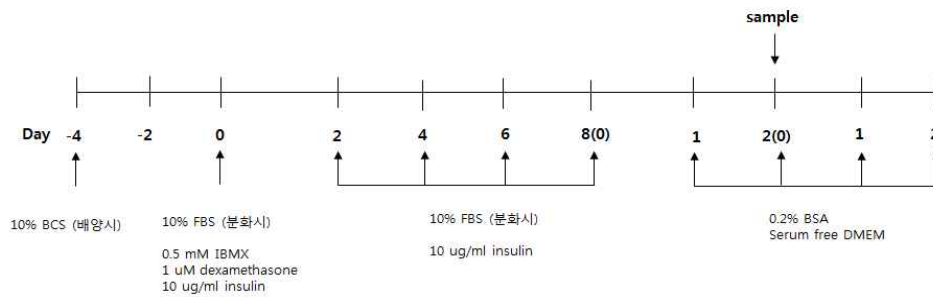
## 제 1 절 기능성 차의 생리활성 구명

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 염증성/대사성 질환(세포)모델에서 바나듐 차의 효능 구명

##### (1) 지방세포를 이용한 바나듐 녹차 효능 평가

지방유래 줄기세포(hAMSCs)는 MesenProRS™ 배지에서 배양하였으며, 계대배양을 시행하고, Oil red O 염색에 의하여 지방세포 유도확인을 하였다. 3T3-L1 지방 전구세포는 배양 후 8일 간 분화를 유도 하여 인슐린 저항성을 유도하고, 바나듐 녹차의 효능을 평가하였다.



##### (2) 근육세포에서 포도당 흡수능 측정

L6 근육세포에서 바나듐 처리된 녹차에 대한 당 흡수효과 확인을 위하여, L6 근육아세포 (myoblast)를 L6 근육세포 (myotube)로 분화시키고, 바나듐 처리된 녹차의 포도당 흡수 촉진 효능 및 작용 기전을 확인하였다. 근육세포주인 L6세포를 Korean Cell Line Bank (KCLB)로부터 분양 받아 100 units/ml penicillin-streptomycin과 10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였으며, 계대 배양은 3일에 한번씩 시행하였다. L6세포를 4.5 g/L의 포도당을 포함한 DMEM 배지를 이용하여 5 × 10<sup>4</sup> cells/ml로 조절한 후 24 well plate에 seeding하고 24시간 배양시킨 후 1 g/L의 포도당을 포함한 DMEM 배지로 교환하여 4시간 더 배양하였다. 추출물 또는 분획물을 4 시간 동안 처리한 후 배지에서 포도당 양을 측정하였다. 포도당은 glucose assay kit(아산제약)을 사용하여 정량하였다.

#### 나. 염증성/대사성 질환(세포)모델에서 셀레늄 및 게르마늄 차의 효능 평가

##### (1) *in vitro* 실험:

건조녹차 분말을 85°C에서 5시간 환류 추출하고, 동결 건조하여 사용하였다. 정상 녹차, 셀레늄 및 게르마늄 처리 녹차에 대하여, L6 근육세포에서 포도당 흡수 활성, 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거능을 확인 하였다. 총 페놀함량은 Folin - Ciocalteu 법에 의하여 측정하였다 (Kim 등, 2010). 샘플을 2 N Folin - Ciocalteu 시약 50 µl와 섞은 후 실온

에서 5분간 반응시켰다. 5분 후, 20% sodium carbonate 0.3 ml을 첨가하고 다시 15분간 반응을 시킨 후 증류수 1 ml을 첨가하였다. 반응 혼합물의 흡광도는 spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 725 nm에서 측정하였다. 총 플라보노이드는 Moreno 등 (2000)의 방법을 일부 수정하여 사용하였다. 시료 200  $\mu$ l에 100  $\mu$ l 10% aluminium nitrate를 섞고, 100  $\mu$ l 1 M potassium acetate를 혼합하였다. 그 후 4,600  $\mu$ l의 80% 에탄올을 넣고, 40분 뒤 UV-spectrophotometer 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. PPH 프리라디칼 소거능은 Hyun 등(2014)의 방법에 의해 계산하였다. DPPH 프리라디칼 소거능을 측정하기 위하여, 다양한 농도의 샘플과 메탄올을 4 ml로 맞추는 후 0.15 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil (DPPH)를 첨가하여 실온의 암소에서 30분간 반응시켰다. 그 후 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군으로 합성항산화제인 BHT와 천연항산화제인 비타민 E (알파-토코페롤)를 사용하였다.

## (2) 당뇨 유발 생쥐에서 셀레늄 강화 녹차의 항당뇨 개선 효과

녹차 20 g을 85°C에서 증류수로 5시간 환류 추출하고 총량을 200 ml로 맞추어 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 고농도 셀레늄처리 녹차추출액의 Se 농도는 61.05 ppb 이었으며, 정상 녹차추출물의 Se 농도는 108.15 ppb 이었다. 6 주령의 웅성 ICR mice를 일주일간 순화시킨 후 실험에 사용하였다. 사료와 물은 자유롭게 공급하였으며, 명암주기가 12시간 단위로 조절되는 실험동물실에서 사육하였다. Steptozotocin (50 mg/kg/day)을 5일간 복강 내 주사하여 당뇨를 유발하였다. 당뇨유발군, 정상녹차추출물 투여군, 셀레늄녹차추출물 투여군, sodium selenate 투여군과 당뇨를 유발하지 않은 정상 대조군의 5 군으로 구분하였다. 정상 녹차와 셀레늄녹차 추출물은 1g/kg of body weight, sodium selenate는 60 ug/kg 용량으로 2주간 경구 투여하였다. 체중, 요량 및 혈당의 변화를 1 주 간격으로 측정하였으며, 실험 종료 1일 전 내당능 검사(oral glucose tolerance test, OGTT)를 실시하였다. 내당능 검사를 위하여 0.5 g/kg의 포도당을 경구투여 하였고 시료 투여 전 혈액과 포도당 투여 후 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180 분대의 혈액을 미정맥혈에서 혈당을 측정하였다. 포도당 경구투여 후 시간에 따른 혈당변화를 그래프로 나타내고, SigmaPlot 12.5 program을 이용하여 곡선아래면적(area under the curve; AUC)을 계산하였다.

## 다. 유기 바나듐 및 셀레늄 지속처리에 의한 식물체 흡수능 및 영향평가

시험재료는 제주특별자치도농업기술원 농산물원종장 포장에 재식되어 있는 료후 및 야부기다 품종을 이용하였다. 2013년 1번 차기 1심3엽기에 수확 15일, 10일 및 5일 전 5일 간격으로 킬레이트화 바나듐을 15, 30 및 60 mg·L<sup>-1</sup> 농도로 엽면 살포하였다. 2013년 및 2014년 2번 차기 1심3엽기에 킬레이트화 셀레늄을 20 및 80 mg·L<sup>-1</sup> 농도로 엽면 살포하였다. 1심3엽 또는 1심5엽을 수확한 후 통상적인 방법으로 제다 및 건조하였다(송 등, 2013).

총폴리페놀과 총아미노산은 건조시료를 분쇄한 후 10분간 열수에서 추출한 다음 2겹의 거름 종이로 걸러 Chen과 Zhou의 방법(2005) 및 Caffin 등의 방법(2004)에 따라 각각 비색 정량하였다. 총카테킨 및 개별카테킨, 카페인, 데아닌 등은 HPLC를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석 조건은 30% 용매A(0.5% acetic acid+3% acetonitrile)에서 100% 용매B(0.5%acetic acid+30% acetonitrile)로 1.0mL·min<sup>-1</sup>의 유속으로 40분간 linear gradient를 만들어 4.6×250mm Capcell

Pak C18 MG 컬럼(Shiseido, Japan)과 35°C 컬럼오븐(GO-20A, Shimadzu, Japan)으로 분석한 후 UV/VIS 검출기(SPD-20A, Shimadzu, Japan)로 정량하였다. 조섬유는 NIR 방법(송 등, 2012)으로 분석하였다.

## 2. 연구 내용 및 결과

### 가. 염증성/대사성 질환(세포)모델에서 바나듐 차의 효능 구명

#### (1) 지방세포를 이용한 바나듐녹차 효능 평가

hAMSCs를 MesenProRS™ 배지에서 지방세포로 분화시키고 Oil Res O 염색으로 확인하였다(Fig. 1).

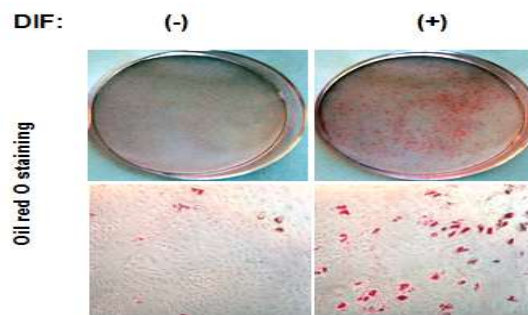


Fig. 1. Lipid formation in hAMSCs using Oil Red O staining.

3T3-L1 세포에서 분화를 유도 후 인슐린 저항성을 유발하고, 바나듐의 효능을 평가하였다. 바나듐에 대한 포도당 흡수율 측정 결과 바나듐만 처리되어 있는 배양액 내에서의 포도당은 대조군에 비하여 약 50%정도의 포도당 흡수 증가를 보였으며 뿐만 아니라 인슐린과 바나듐을 같이 처리한 경우 포도당 흡수를 더욱 증가 시켰다. 특히, 팔미트산에 의한 포도당 흡수 감소를 바나듐이 개선시켰다(Fig. 2).

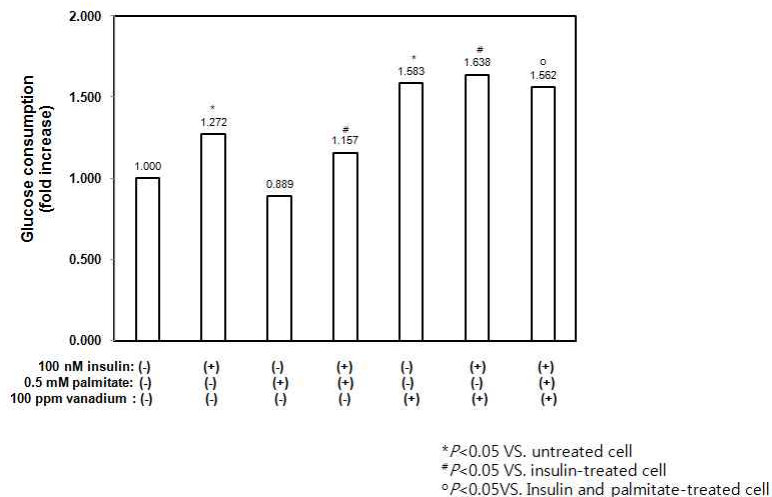


Fig. 2. Vanadium ameliorate palmitate-induced insulin resistance in 3T3 L1 adipocytes.

(2) 근육세포에서 포도당 흡수능 개선 효과

(가) L6 근육세포에서 바나듐 처리된 녹차에 대한 당 흡수효과 확인

바나듐만 처리되어 있는 배양액 내에서의 포도당은 무처리군에 비하여 약 50%정도의 포도당흡수 증가를 보였으며 인슐린과 바나듐을 같이 처리된 경우 포도당 흡수를 더욱 증가시켰다. 바나듐 처리된 녹차는 바나듐 처리되지 않은 녹차에 비해 포도당 흡수를 증가시켰으며 6 ppm 처리된 바나듐 녹차인 경우 포도당 흡수를 더욱 증가시켰다(Fig. 3).

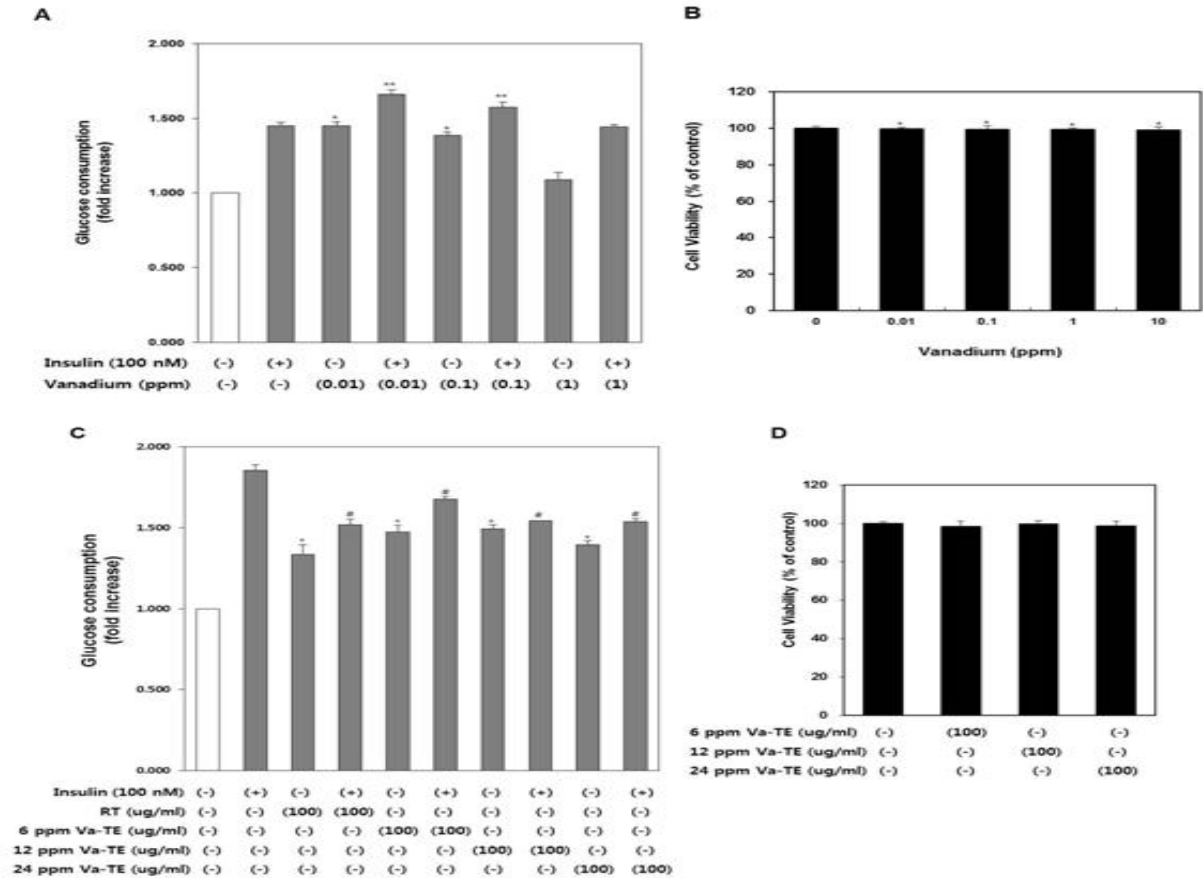


Fig.3. Effect of vanadium-enriched green tea extract (Va-TE) on the viability of cell and glucose consumption.

(나) 바나듐 처리된 녹차에 대한 AMPK 인산화 및 Akt 인산화에 대한 영향

바나듐 처리된 녹차는 Akt 인산화에 거의 영향을 미치지 못하였으나 AMPK 인산화는 증가하였다. 또한 AMPK inhibitor(compound C)를 바나듐 처리된 녹차에 첨가하였을 경우에는 AMPK 인산화가 감소함을 확인하였다. 뿐만 아니라 세포내 포도당 흡수가 감소함을 확인하였다. 이 결과 바나듐 처리된 녹차는 포도당 이용률을 증가시키기 위해 인슐린-비의존적인 AMPK 경로와 관련이 있음을 확인하였다(Fig. 4).



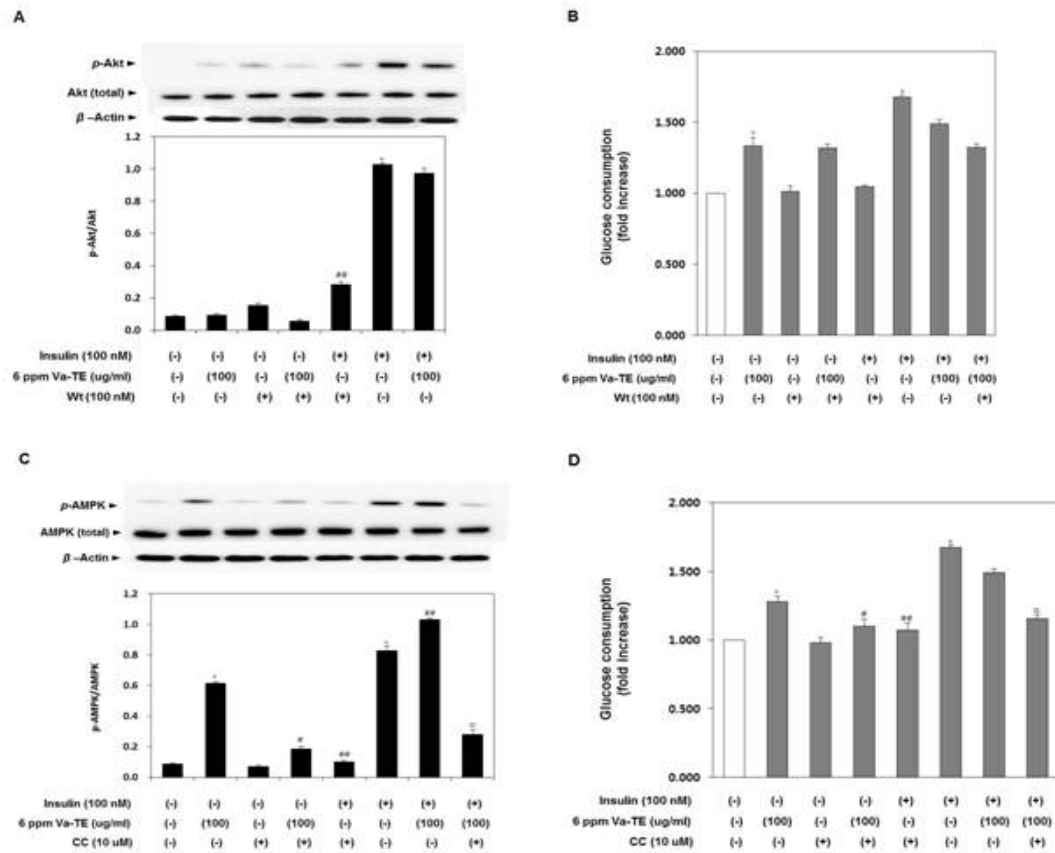


Fig. 4 Effect of vanadium-enriched green tea extract on the phosphorylation of AMPK and glucose consumption.

(다)바나듐 처리된 녹차에 의한 Glut4의 세포막 이동에 미치는 효과

바나듐 처리된 녹차에 의한 포도당 흡수증가 효과가 세포막에 존재하는 Glut4에 의한 것인지 알아본 결과 Glut4 단백질의 세포막 이동을 증가시킴을 확인할 수 있었고, AMPK 억제제인 compound c 를 전 처리한 후 바나듐 처리된 녹차를 처리한 경우 증가되었던 Glut 4 발현이 감소됨을 확인할 수 있었다. 바나듐 처리된 녹차는 인슐린 비의존적인 AMP-activated protein kinase (AMPK) 경로를 통해 포도당 수송체 4 (Glut 4)가 활성화되어 Glut 4가 세포질에서 세포막으로 이동함으로써 세포내로 포도당 유입을 촉진시킴을 알 수 있었다(Fig. 5).

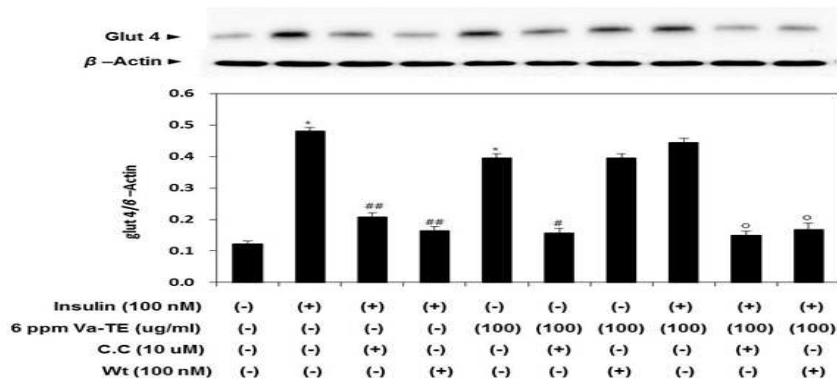


Fig. 5 Effect of vanadium-enriched green tea extract on the translocation of Glut4.

나. 염증성/대사성 질환(세포)모델에서 셀레늄 및 게르마늄 차의 효능 구명

(1) *in vitro* 실험: 셀레늄 녹차의 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거능 실험에 사용한 건조 녹차분말의 셀레늄 농도는, Se고농도처리 시  $7640.83 \pm 2010.92$  ppb 이었으며, 정상 무처리 녹차의 경우에는 500 ppb이었다. 각 시료를 85°C에서 증류수, 95 % ethanol과 70% meyhanol로 5 -7시간 환류 추출 후 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 총폴리페놀과 총플라보노이드 함량에 있어 ethanol 추출물의 경우 다소 증가 하는 경향을 보였으나 전체적으로 셀레늄 처리에 따라 유의한 변화를 보이지 않았다. 또한 각 추출물의 DPPH 소거활성에 따른 항산화능의 변화에도 영향을 미치지 못하였다(그림 5).

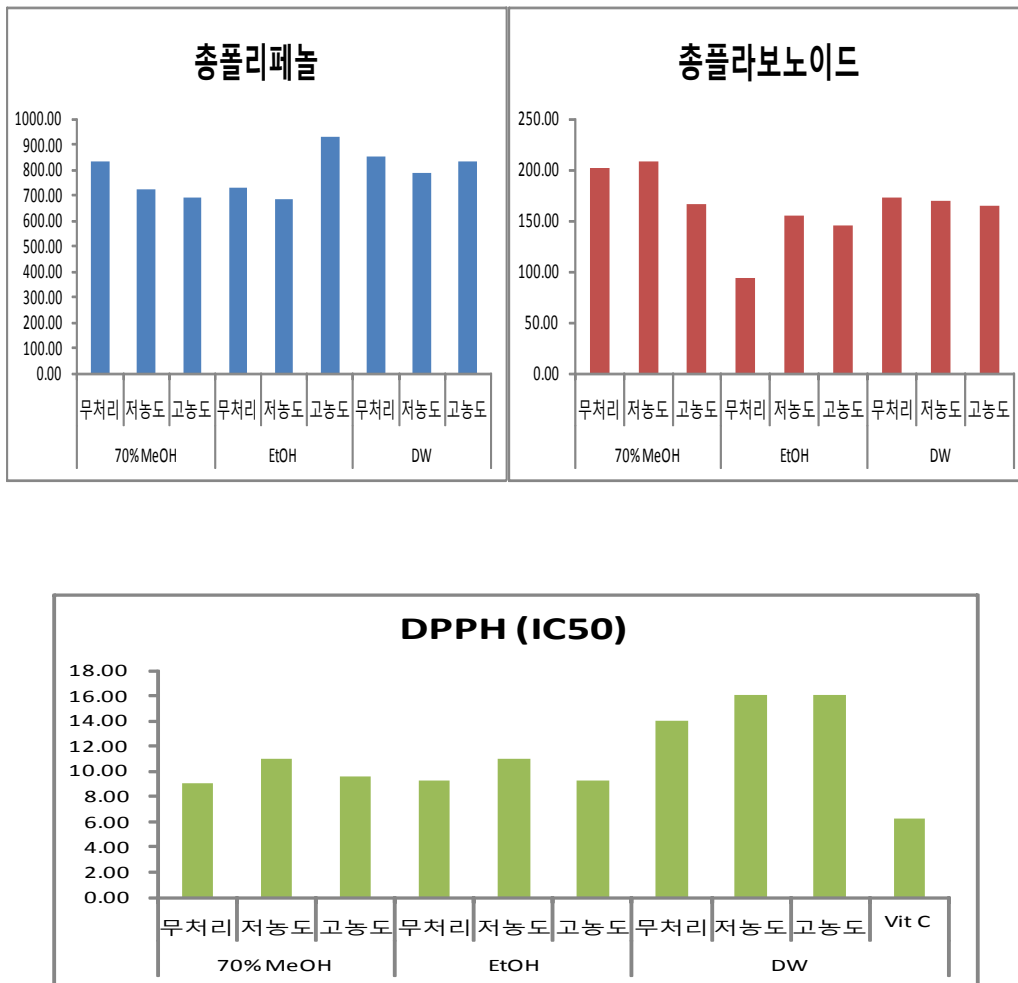


그림 5. 셀레늄 처리 녹차분말의 폴리페놀과 플라보노이드 함량 및 DPPH 활성에 미치는 영향.

(2) 근육세포(L6)에서 셀레늄 및 게르마늄 녹차의 포도당 흡수효과

셀레늄 녹차 추출물(Se-T)은 일반 녹차 추출물(GT)과는 다르게 L6 세포의 포도당 이용을 농도 의존적으로 증가시켰다. 이런 현상은 insulin이 2시간 이후 나타내는데 비하여 비교적 이른 30분-60분대에서 이루어지고 있었으며, 고농도에서는 세포 독성을 보였다(그림 6). 셀레늄 녹차 추출물을 처리 시 보이는 포도당 흡수능의 촉진은 AMPK 억제제인 compound C에 의하여 현저히 억제되는 것을 확인하였다(그림 7). 또한 게르마늄 녹차 추출물을 L6 근육세포에 처리 시 셀레늄 녹차의 경우와 유사하게 30분에 최대 흡수능을 보였으며, 2시간 및 3시간 대에서는 그 효과가 나타나지 않았다(그림 8).

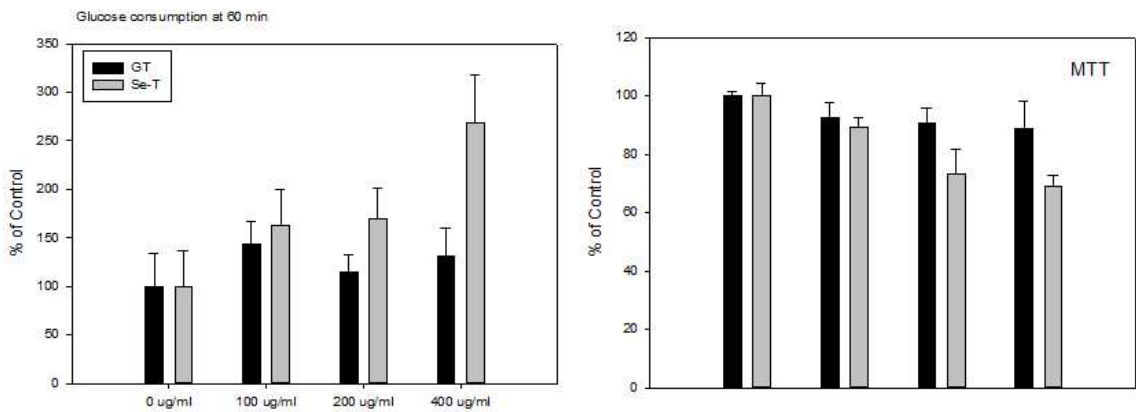


그림 6. 셀레늄 녹차 추출물(Se-T)과 녹차 추출물(GT)의 포도당 흡수능 및 세포독성.

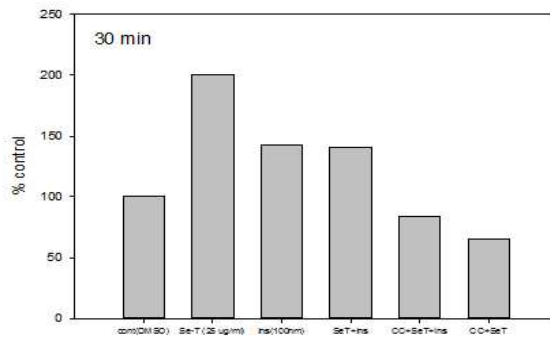


그림 7. AMPK 억제제에 의한 셀레늄 녹차 추출물(Se-T)의 포도당 흡수능 억제.

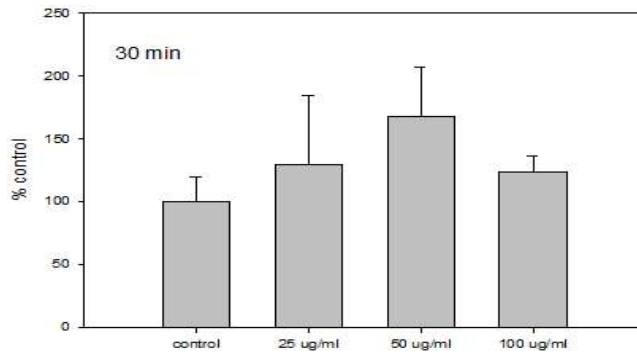


그림 8. 게르마늄 녹차 추출물에 의한 포도당 흡수능

(3) 당뇨모델동물에서 셀레늄녹차 투여에 의한 당뇨 개선 효과

실험동물에 streptozotocin을 투여하여 당뇨를 유발시키고, 공복 혈당이 250 mg/dL 이상인 경우에 당뇨가 유발된 것으로 확인하여 이 후 2 주간 각 시료를 경구 투여하였다. 당뇨가 유발된 동물 모두에서 체중의 감소와 요량의 증가가 관찰되었으나 셀레늄녹차 추출물과 sodium selenate 투여군의 경우에는 당뇨대조군에 비하여 유의한 혈당강하 효과가 관찰되었다(그림 9). 실험종료 1일전에는 oral glucose tolerance test를 실시하여 내당능에 미치는 영향을 확인하였는데, 셀레늄 녹차 추출물 투여군에서 유의한 내당능 개선 효과를 관찰할 수 있었다. 이런 효과는 셀레늄 녹차 추출물에 의한 포도당 흡수능 증진이 영향을 미친 것으로 생각된다(그림 10).

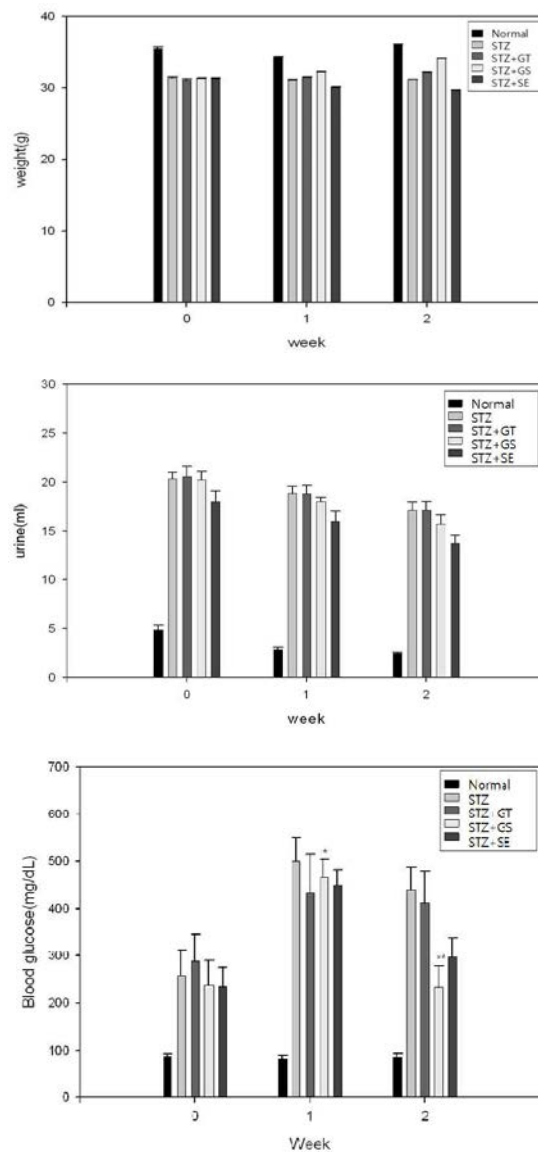


그림 9. 체중(A), 요량(B) 및 혈당(C)에 미치는 녹차 추출물들의 영향

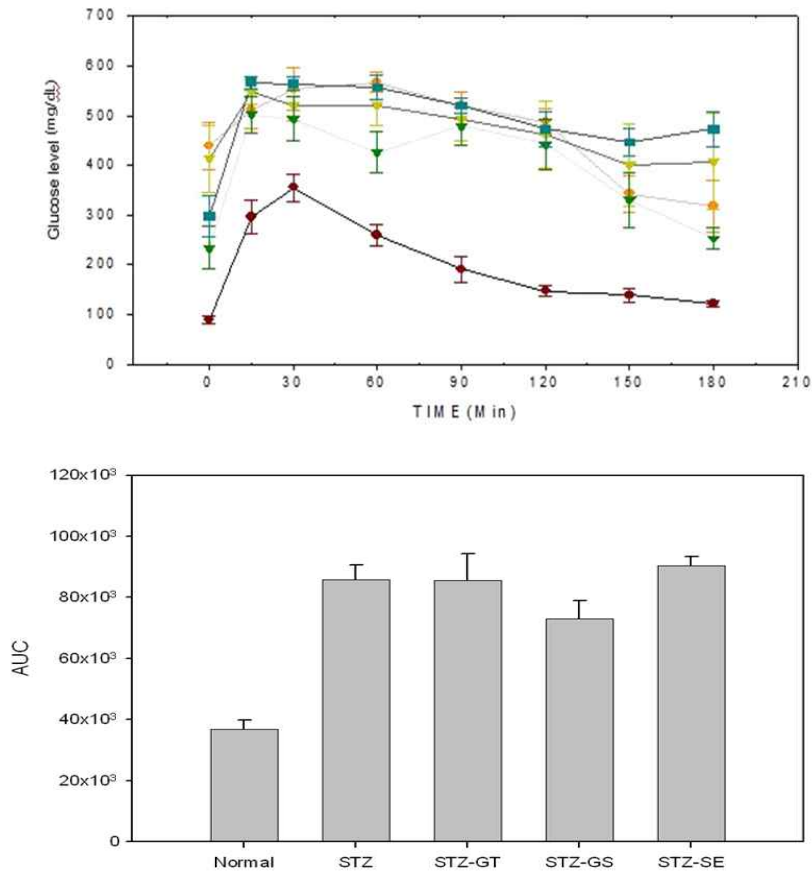


그림 10. 녹차 추출물이 내당능에 미치는 영향.

다. 유기 바나듐 및 셀레늄 지속처리에 의한 식물체 흡수능 및 영향평가

유기 바나듐의 엽면살포 횟수에 따라 신초의 바나듐 함량에 차이를 나타내었다. 그러나 총 아미노산, 테아닌 및 카페인 등 질소화합물의 함량과 총폴리페놀 및 조섬유의 함량에는 차이가 없었다(표 1). 또한 총카테킨 및 개별 카테킨 함량에도 차이를 나타내지 않았다(표 2). 그러므로 유기바나듐의 처리에 다른 바나듐의 함량 차이에 따른 유기화합물 함량에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 생각되었다.

셀레늄을 수확 전 1심3엽기부터 20 mg·L<sup>-1</sup> 및 80 mg·L<sup>-1</sup>을 처리하여 얻은 신초의 셀레늄 함량에 차이가 나타났다. 총아미노산, 카페인, 총폴리페놀 및 카테킨의 함량에 미치는 영향은 일정한 경향은 아니지만 2013년에는 차이가 있었다(표 3 및 표 4). 그러나 2014년에는 차이가 나타나지 않았다. 이는 Hu 등(2003; 2001)의 보고와는 차이가 있는 것으로 셀레늄 흡수에 의한 유기화합물 함량 차이는 분명치 않았다. 차의 품질에 미치는 영향은 품종 및 재배환경에 따라 달라질 수 있기 때문에, 추후 상세한 연구가 필요한 것으로 판단되었다.

표 1. 료후 1번차기 킬레이트 바나듐 엽면살포가 신초의 질소화합물, 총폴리페놀, 조섬유 함량에 미치는 영향.

살포농도 (mg/L)	수확전 살포시기	신초 바나듐 함량 ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	총아미노산 (%)	데아닌 (%)	카페인 (%)	총폴리페놀 (%)	조섬유 (%)
Control	-	506±134	3.2±0.4	1.8±0.5	2.6±0.1	18.2±1.5	21.3±0.3
	15	384± 35	3.2±0.3	1.7±0.3	2.5±0.1	19.6±1.2	21.4±0.2
15	15, 10	759± 74	2.8±0.4	1.6±0.4	2.5±0.1	17.9±1.5	20.9±0.8
	15, 10, 5	1,564±159	3.0±0.3	1.7±0.3	2.4±0.2	18.7±1.1	21.6±0.4
30	15	603±126	3.0±0.5	1.6±0.5	2.6±0.1	18.2±1.1	21.4±0.2
	15, 10	635± 83	3.0±0.4	2.0±0.1	2.6±0.1	19.3±0.4	22.2±0.2
60	15, 10, 5	2,750±505	3.0±0.4	1.6±0.4	2.5±0.3	20.8±1.5	21.9±0.2
	15	385± 32	3.1±0.3	1.3±0.3	2.7±0.1	20.2±0.7	20.7±0.4
60	15, 10	692± 79	3.0±0.4	1.7±0.5	2.7±0.0	21.0±1.1	21.8±0.1
	15, 10, 5	4,576±347	2.9±0.3	1.5±0.4	2.5±0.0	19.8±0.9	21.9±0.3

표 2. 료후 1번차기 킬레이트 바나듐 엽면살포가 카테킨 함량에 미치는 영향.

살포농도 (mg/L)	수확전 살포시기	신초 바나듐 함량 ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	GC(%)	GCG (%)	EGC (%)	EGCG(%)	총카테킨 (%)
Control	-	506±134	2.4±0.3	1.6±0.1	4.5±0.3	4.3±0.1	12.5±0.3
	15	384± 35	1.9±0.5	1.6±0.2	4.2±0.2	4.5±0.1	12.4±0.5
15	15, 10	759± 74	2.2±0.4	1.5±0.2	3.9±0.3	4.0±0.3	11.4±0.7
	15, 10, 5	1,564±159	2.2±0.4	1.3±0.2	4.0±0.5	4.0±0.3	11.3±1.1
30	15	603±126	2.0±0.2	1.7±0.2	3.9±0.4	4.3±0.1	11.9±0.5
	15, 10	635± 83	2.4±0.3	1.4±0.1	4.2±0.3	4.0±0.1	11.6±0.5
60	15, 10, 5	2,750±505	2.7±0.4	1.6±0.2	4.3±0.6	4.2±0.5	12.2±1.6
	15	385± 32	2.3±0.3	1.6±0.1	4.0±0.4	3.9±0.1	11.7±0.5
60	15, 10	692± 79	2.2±0.1	1.6±0.2	4.1±0.5	3.9±0.3	11.8±0.4
	15, 10, 5	4,576±347	1.9±0.2	1.3±0.1	3.6±0.1	3.9±0.2	10.2±0.4

표 3. 야부기다 2번차기<sup>2</sup> 유기 셀레늄 엽면살포가 질소화합물과 폴리페놀 함량에 미치는 영향.

살포농도 (mg/L)	신초의 셀레늄 농도 (ppm)	총아미노산(%)	카페인 (%)	총폴리페놀(%)
Control	0.2	1.9±0.1	1.9±0.1	11.7±0.5
2013	20	1.7±0.1	2.8±0.1	13.2±0.7
	80	2.7±0.1	2.1±0.1	16.1±0.8
Control	4.0	1.6±0.1	2.1±0.5	6.7±0.5
2014	20	1.8±0.0	2.4±1.9	9.1±1.1
	80	1.5±0.1	2.3±0.2	8.0±0.3

<sup>2</sup>2013년은 1심3엽을 2014년은 1심5엽을 이용 분석함

표 4. 야부기다 2번차기<sup>2</sup> 유기 셀레늄 엽면살포가 카테킨 함량에 미치는 영향.

	살포농도 (mg/L)	녹차의 셀레늄 농도 (ppm)	GC (%)	GCG (%)	EGC (%)	EGCG (%)	총카테킨(%)
2013	Control	0.2	1.2±0.1	0.2±0.0	5.4±0.3	3.4±0.3	13.7±0.7
	20	5.2	2.0±0.1	0.6±0.1	8.1±0.4	4.8±0.2	20.6±0.9
	80	48.1	1.5±0.1	0.2±0.0	6.0±0.3	4.0±0.2	15.9±0.7
2014	Control	4.0	1.1±0.0	0.2±0.0	4.0±0.1	3.1±0.1	10.3±0.1
	20	5.2	1.2±0.0	0.3±0.1	5.7±0.1	3.5±0.1	12.7±0.5
	80	11.1	1.4±0.2	0.4±0.0	6.0±0.8	3.6±0.3	13.8±1.5

<sup>2</sup>2013년은 1심3엽을 2014년은 1심5엽을 이용 분석함

## 제 2 절 기능성 차의 안전생산 기술개발

### 1. 재료 및 방법

#### 가. 유기바나듐의 지속처리 식물체 흡수능 및 생육특성 평가

시험재료로는 제주시 애월읍 봉성리 소재 차밭(해발 350m)의 10년생 료후 품종(수고 120 cm 내외)과 격리된 화분에 식재된 8년생 야부기다 품종(수고 60cm 내외)을 이용하였다. 료후 품종을 이용한 노지재배에서는 1번차, 2번차, 3번차 3시기에 걸쳐 수행하였고, 야부기다를 이용한 격리된 화분에서는 3번차에서 관주처리로 유기 바나듐 흡수능을 분석하였다.

유기 바나듐 처리시기 및 방법은 Table 5에서 보는 바와 같이, 1번차, 2번차, 3번차 시기에 관주 또는 엽면 살포의 방법으로 수행하였다. 관주처리에서 노지재배의 경우 1번차 0.75 ppm과 1.5 ppm으로, 2번차는 3.0 ppm과 6.0 ppm으로, 3번차는 6.0 ppm과 12.0 ppm으로 처리농도를 달리하였으며, 격리된 화분재배에서는 3번차에 6.0 ppm, 12.0 ppm를 각각 처리하였다. 엽면 살포의 경우 1번차 0.75 ppm, 1.5 ppm 및 3.0 ppm, 2번차 3.0 ppm, 6.0 ppm 및 12.0 ppm, 3번차 6.0 ppm, 12.0 ppm 및 24.0 ppm으로 처리농도를 달리하였다. 처리시기와 처리방법은 관비 재배에서는 1심 1엽기와 1심 3엽기에 16일 기준 단위면적당 10 l/m<sup>2</sup>를 바나듐 액비를 관주하였으며, 엽면 살포에서는 수확전 5일, 10일, 15일에 1회, 2회, 3회 처리횟수를 달리하였다. 처리 후 시료채취 소요기간은 관주처리에서 1심 1엽기의 처리는 1번차의 경우 처리 후 26일, 2번차의 경우 처리 후 22일, 3번차의 경우 처리 후 21일이었으며, 1심 3엽기의 처리구에서는 1번차, 2번차, 3번차 모두 관주처리 후 15일로 엽면살포의 기간과 동일하였다. 본 연구에 사용된 유기 바나듐은 무기 바나듐을 유기산과 함께 일정한 조건의 반응기에서 반응시켜 킬레이트화하여 식물이 흡수가 용이한 유기 바나듐을 사용하였다.

처리간에 유기 바나듐 흡수능 비교를 위한 시료는 1심 3엽을 기준으로 채취하여 비교 분석하였고, 유기 바나듐의 부위별 흡수를 정도를 알기 위한 시료는 최종 수확기에 1심 5엽의 신초를 반복별로 수확하여 줄기를 포함하여 상위 1엽, 상위 2엽, 상위 3엽, 상위 4엽, 상위 5엽으로 각각 분리하였다. 채취된 모든 시료는 흐르는 물에 충분히 씻어내어 물기를 제거하였다. 준비

된 시료는 전자레인지에서 1분간 살청 처리하여 실온에서 식힌 다음, 65℃ 열풍건조기에서 24시간 건조한 후 미세 분쇄하였다. 분석방법은 습식분해법( $H_2O_2-H_2SO_4$ )의해 분해한 후, 원자흡수 분광광도계(AAs 700, Perkin elmer, USA) 장비를 이용하여 분석하였다(Song 등, 2013).

#### 나. 유기 셀레늄 지속처리에 의한 식물체 흡수능 및 생육특성 평가

10년생 ‘야부기다’ 품종을 이용한 노지재배에서 2013년 2번차, 3번차 2시기와 2014년 1번차기에 걸쳐 수행하였다. 유기 셀레늄 처리시기는 Table 7에서 보는 바와 같이 1번차, 2번차, 3번차 시기에 수행하였다. 농도별 처리는 무처리, 20 ppm, 40 ppm, 80ppm으로, 처리시기와 처리방법은 1심 3엽기에 기준 단위면적당  $10 \text{ l/m}^2$ 를 셀레늄을 엽면 살포방법으로, 수확전 5일(1회), 수확전 10일(2회), 수확전 15일(3회) 처리횟수를 달리하였다. 처리 후 시료채취 소요기간은 1심 3엽기 엽면살포후 처리구에서는 1번차, 2번차, 3번차 15일로 동일하였다. 본 연구에 사용된 유기 셀레늄은 무기형태를 유기산과 함께 일정한 조건의 반응기에서 반응시켜 킬레이트화하여 식물이 흡수가 용이한 유기화된 셀레늄을 이용하였다. 처리간에 유기 셀레늄 흡수능 비교를 위한 시료는 1심 3엽을 기준으로 채취하여 비교 분석하였고, 유기 셀레늄의 부위별 흡수 정도를 알기 위한 시료는 최종 수확기에 1심 5엽의 신초를 반복별로 수확하여 줄기를 포함하여 상위 1엽, 2엽, 3엽, 4엽, 5엽으로 각각 분리하였다. 채취된 모든 시료는 흐르는 물에 충분히 씻어내어 물기를 제거하였다. 준비된 시료는 마이크로파 살청장치에서 1분간 처리하여 실온에서 식힌 다음, 65℃ 열풍건조기에서 24시간 건조한 후 미세 분쇄하였다. 분석방법은 습식분해법( $H_2O_2-HNO_3$ )으로 특수 압력용기를 이용하여 분해한 후, 원자흡수 분광광도계(AAs 700, Perkin elmer, USA) 장비의 흑연회화로 방식으로 분석하였다(Song 등, 2013).

#### 다. 유기 게르마늄 처리에 의한 식물체 흡수능 및 생육특성 평가

10년생 ‘후순’ 품종을 이용한 노지재배에서 2013년 2번차, 3번차 2시기와 2014년 1번차기에 걸쳐 수행하였다. 유기 게르마늄 처리시기는 Table 1에서 보는 바와 같이 1번차, 2번차, 3번차 시기에 수행하였다. 농도별 처리는 무처리, 20 ppm, 40 ppm, 80ppm으로, 처리시기와 처리방법은 1심 3엽기에 기준 단위면적당  $10 \text{ l/m}^2$ 를 유기 게르마늄을 엽면 살포방법으로, 수확전 5일(1회), 수확전 10일(2회), 수확전 15일(3회) 처리횟수를 달리하였다. 처리 후 시료채취 소요기간은 1심 3엽기 엽면살포후 처리구에서는 1번차, 2번차, 3번차 15일로 동일하였다. 본 연구에 사용된 유기 게르마늄은 무기형태를 유기산과 함께 일정한 조건의 반응기에서 반응시켜 킬레이트화하여 식물이 흡수가 용이한 유기화된 게르마늄을 이용하였다. 처리간에 흡수능 비교를 위한 시료는 1심 3엽을 기준으로 채취하여 비교 분석하였다. 채취된 모든 시료는 흐르는 물에 충분히 씻어내어 물기를 제거하였다. 준비된 시료는 마이크로파 살청장치에서 1분간 처리하여 실온에서 식힌 다음, 65℃ 열풍건조기에서 24시간 건조한 후 미세 분쇄하였다. 분석방법은 습식분해법( $H_2O_2-HNO_3$ )으로 특수 압력용기를 이용하여 분해한 후, 원자흡수 분광광도계(AAs 700, Perkin elmer, USA) 장비의 흑연회화로 방식으로 분석하였다.



## 2. 연구 내용 및 결과

### 가. 유기 바나듐의 처리 식물체 흡수능 및 생육특성

관주처리 방법에 의한 유기 바나듐 처리시기 및 농도에 따른 신초의 흡수정도를 Fig. 11과 Fig. 12에 나타냈다. 1번차에서 바나듐 흡수정도는 처리시기(1심 1엽, 1심 3엽기)와 처리농도(0.75 ppm, 1.5 ppm) 모두에서 무처리와 같이 비슷한 경향으로 신초에는 거의 흡수가 되지 않았다. 2번차에서는 처리시기가 빠를수록 신초에 흡수되는 양이 많은 경향이었고, 처리농도에서는 유기 바나듐 3.0 ppm보다 6.0 ppm 처리농도에서 높은 경향을 보였으며, 특히 1심 1엽기(수확 전 22일)에 유기바나듐 6.0 ppm 처리구에서 133 ppb/kg으로 가장 높았다. 3번차에서는 1심 1엽기(수확 전 21일)에 유기바나듐 12 ppm 처리구를 제외한 모든 처리구가 무처리와 비슷한 경향으로 거의 신초에 흡수되지 않았다. 이는 2번차와 다른 경향이었는데 노지배재에서 시험처리 시 강우량과 기상조건이 유기 바나듐의 토양 중 이동과 차나무의 흡수 이동에 영향을 미치는 것으로 판단되어졌다.

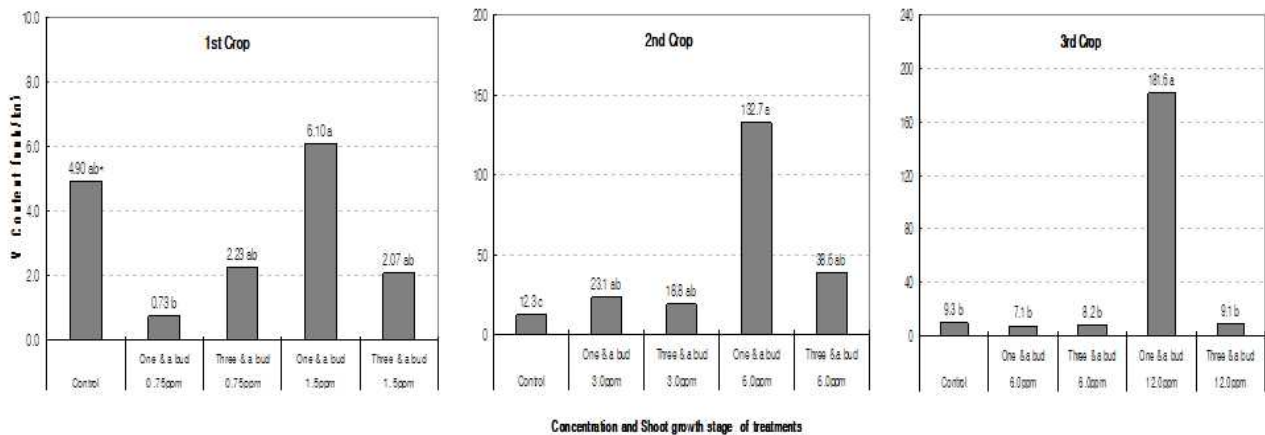


Fig. 11. Vanadium content (ppb/kg) of new young shoots from treatment of organic vanadium by fertigation at different concentrations and different shoot growth stages. Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level..

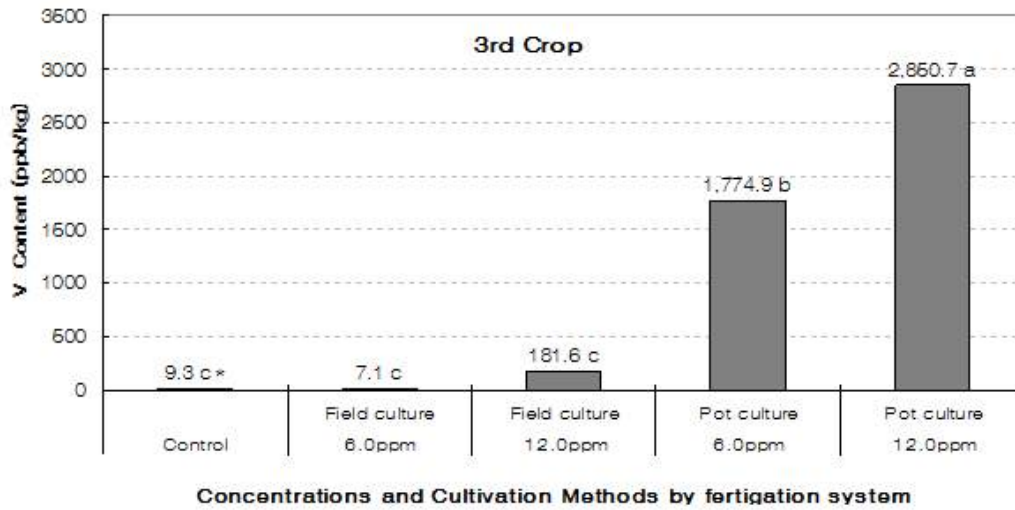


Fig. 12. Vanadium content (ppb/kg) of new young shoots from treatment of organic vanadium by fertigation at different concentrations and different cultivation methods in 3rd crop (harvested on September 11). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level.

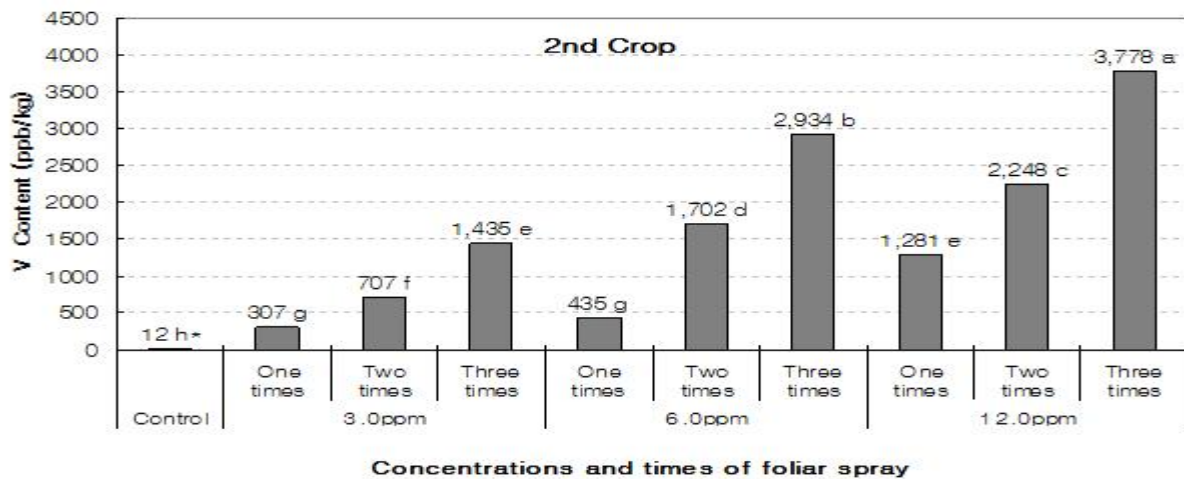


Fig. 13. Vanadium content (ppb/kg) of new young shoots from treatment of organic vanadium by foliar spray at different concentrations in 2nd crop (harvested on July 12). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level.

3번차의 1심 1엽기에 노지재배(료후 품종)와 포트재배(야부기다 품종)에서 관주처리로 유기 바나듐의 흡수능을 비교 분석한 결과는 Fig. 13에 나타난 바와 같다. 전술한 바와 같이 노지 재배에서는 유기 바나듐 12 ppm 처리구에서 신초의 바나듐 함량 182 ppb/kg에 비하여, 포트 재배에서는 처리농도 6 ppm에서 1,775 ppb/kg, 12 ppm에서 2,851 ppb/kg의 흡수로 토양과 기

상조건 및 차나무 수체특성에 따라서 신초에 흡수되는 정도가 다른 경향을 보였다.

엽면시비 방법에 의한 유기 바나듐 흡수 정도를 Table 5와 Fig. 13 및 14에 나타내었다. 1번 차에서 유기 바나듐을 처리시기 및 처리농도별 엽면시비 후 시간 경과에 따른 신초의 바나듐 함량을 보면(Table 5), 엽면시비 후 5일 수확 시 높았고, 기간이 경과할수록 낮아지는 경향을 보였다. 이는 유기 바나듐이 신초에 흡수되어 수체 내 이동이 크지 않은 것을 보여주는 것으로 보였다. 신초의 바나듐 함량은 유기 바나듐 처리 농도가 높고 처리 횟수는 많을수록 뚜렷이 높아지는 경향을 보였다.

Table 5. Vanadium content (ppb/kg) of new young shoots from treatment of organic vanadium by foliar spray at different concentrations and different spray times in the 1st crop (harvested on May 9, 14, 19).

Concentrations of treatment	Foliar spray times	Dates of treatment	Vanadium content (ppb/kg)		
			10days before harvesting	5days before harvesting	harvesting day
Control					5 ± 0.88 h
0.75 ppm	One times	15days before harvesting	621 ± 26.30 c <sup>z</sup>	339 ± 18.55 d	65 ± 14.88 h
	Two times	15, 10days before harvesting		1,042 ± 73.44 c	592 ± 67.74 g
	Three times	15, 10, 5days before harvesting			1,495 ± 50.23 e
1.5 ppm	One times	15days before harvesting	1,329 ± 76.50 b	884 ± 72.24 c	412 ± 34.51 g
	Two times	15, 10days before harvesting		3,111 ± 104.99 a	1,787 ± 142.55 d
	Three times	15, 10, 5days before harvesting			2,692 ± 33.01 b
3.0 ppm	One times	15days before harvesting	3,205 ± 78.36 a	2,296 ± 58.71 b	896 ± 40.86 f
	Two times	15, 10days before harvesting		3,311 ± 26.50 a	2,308 ± 59.99 c
	Three times	15, 10, 5days before harvesting			3,874 ± 184.63 a

<sup>z</sup> Mean seperation within in columns by Duncan's multiple range test at  $p = 0.05$ .

2번차에서 유기 바나듐의 엽면시비가 처리시기 및 처리농도에 따른 신초의 흡수정도를 보면 (Figure 13), 처리횟수와 처리농도가 높을수록 뚜렷이 높아지는 경향이였다. 처리농도와 횟수에서 6.0 ppm 농도 3회 처리가 2,934 ppb/kg였고, 12.0 ppm 3회 처리구는 3,788 ppb/kg 이였다. 3번차에서도 2번차와 비슷한 경향을 보였는데(Fig. 14), 24 ppm 농도 처리에서 1회 처리는 1,722 ppb/kg, 2회 처리는 21,207 ppb/kg, 3회 처리는 21,514 ppb/kg로 매우 높은 함량을 나타내었다. 따라서, 유기 바나듐의 신초에 흡수는 처리농도와 횟수를 높였을때 흡수가 높아지는 경향을 보였다.

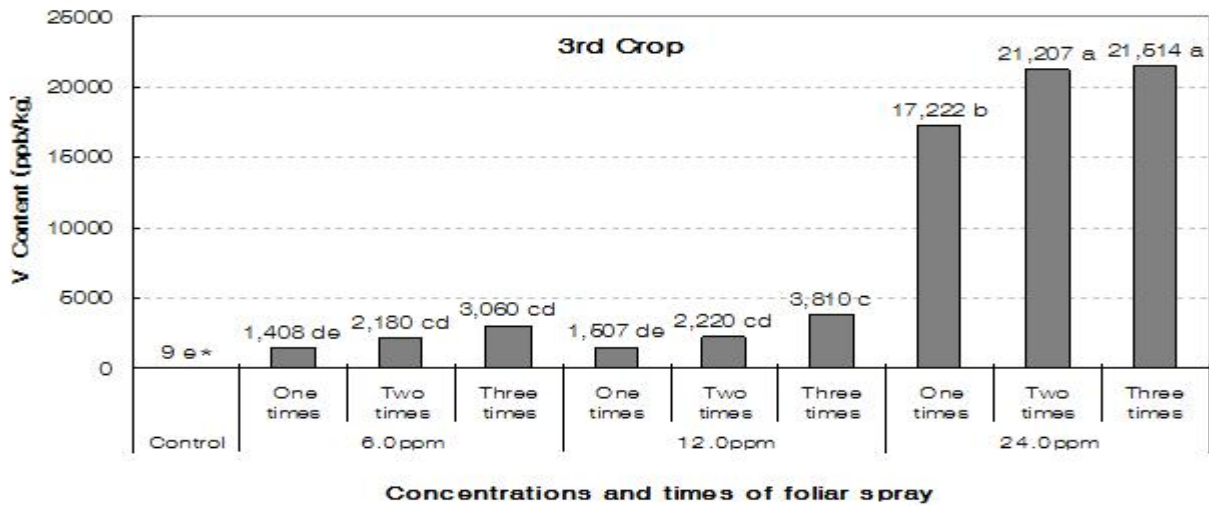


Fig. 14. Vanadium content (ppb/kg) of new young shoots from treatment of organic vanadium by foliar spray at different concentrations in 3rd crop (harvested on September 11). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level.

유기 바나듐의 처리농도와 횟수가 신초의 부위별 흡수정도를 Table 6.에서 보는 바와 같다. 신초의 부위별 바나듐 함량은 바나듐 처리시점의 신엽과 중요한 관계가 있는 것으로 판단되며, 3회 처리시에는 상위 2엽, 3엽 및 4엽에서 가장 높았고, 2회 처리는 상위 3엽과 4엽에서, 1회 처리는 상위 4엽과 5엽에서 높은 경향을 보였다.

유기 바나듐은 차기별로 농도를 달리하여 관주시스템과 엽면시비로 료후 품종과 야부기다 품종에 처리하였다. 6.0 ppm 이상의 농도를 관비 시스템으로 처리하였을 경우, 1심 3엽기에 비해 1심 1엽기에 일찍 관주처리 했을때 신초의 바나듐 함량을 증가시켰다. 재배장소에서는 포트 재배 차나무가 노지포장에 재식된 차나무보다 높은 흡수능을 보여주었다. 엽면시비에서는 수확 전 1회 살포는 식물이 성장함에 따라 희석 효과를 가지며, 3회까지 처리 횟수를 증가함에 따라 신초의 유기 바나듐 함량은 증가하는 경향을 보여 주었고, 이는 모든 차기에 관계없이 유사하였다. 신초의 위치에 따라 모든 잎의 바나듐 함량은 동일하지 않고, 오래된 하위엽에서 높은 함량을 나타내었는데, 이는 신초가 성장함에 따라 상위엽에서 희석효과를 가지기 때문인 것으

로 추정되었다.

Table 6. Vanadium content (ppb/kg) in different parts of new young shoot from treatment of organic vanadium by foliar spray at different concentrations and different spray times in 3rd crop (harvested on September 11).

Concentrations of treatment	Foliar spray times	Vanadium content (ppb/kg) in different parts of new young shoot				
		1st leaf	2nd leaf	3rd leaf	4th leaf	5th leaf
controle		11 ±	7 ±	9 ±	7 ±	6 ±
		1.856 f <sup>z</sup>	1.667 h	1.856 h	1.528 h	1.667 e
6.0 ppm	One times	511 ±	1,108 ±	1,632 ±	2,063 ±	2,225 ±
		18.279 ef	49.482 fg	40.523 fg	40.193 fg	37.302 d
	Two times	1,002 ±	1,869 ±	2,594 ±	3,147 ±	2,903 ±
		50.598 e	47.485 ef	78.869 f	51.598 ef	31.381 d
	Three times	1,818 ±	3,013 ±	4,872 ±	3,799 ±	3,056 ±
		50.598 d	66.109 d	210.452 e	144.32 e	88.004 d
12.0 ppm	One times	265 ±	633 ±	1,275 ±	1,696 ±	1,922 ±
		6.065 f	35.272 gh	31.061 g	43.589 g	92.719 d
	Two times	1,757 ±	2,135 ±	2,417 ±	2,813 ±	2,539 ±
		34.353 d	57.263 e	85.530 fg	81.385 efg	68.314 d
	Three times	2,405 ±	3,121 ±	9,314 ±	9,776 ±	8,604 ±
		44.333 d	57.097 d	506.602 d	293.464 d	146.319 c
24.0 ppm	One times	10,845 ±	16,168 ±	18,739 ±	18,234 ±	16,929 ±
		530.874 c	233.548 c	258.204 c	107.290 c	157.330 b
	Two times	13,315 ±	23,763 ±	26,607 ±	26,344 ±	22,864 ±
		278.328 b	299.921 b	603.499 a	853.821 a	1006.490 a
	Three times	18,747 ±	24,643 ±	23,214 ±	23,624 ±	22,914 ±
		434.217 a	802.575 a	903.997 b	1101.550 b	898.749 a

<sup>z</sup> Mean separation within in columns by Duncan's multiple range test at  $p = 0.05$ .

#### 나. 유기 셀레늄의 처리 식물체 흡수능 및 생육특성

유기 셀레늄 처리횟수 및 농도에 따른 처리 후 수확시기의 신초의 생육상황은 Table 7 및 Fig. 15에 나타냈으며, 20cm×20cm 구역안의 발생된 신초수, 각 신초길이의 평균, 발생신초의 총무게를 조사 하였다. 20cm×20cm 구역안의 발생된 신초수, 각 신초길이의 평균, 발생신초의 총무게를 조사하였다. 각 조사구별 평균에 유의수준 5% 덩컨의 다중범위 검정을 실시하였으나, 각 처리별 유의성이 없는 것으로 나타났다. 셀레늄 처리가 차나무의 생육 양상에 변화를 끼치는지 알아보려고 조사한 처리농도별 신초길이, 수량, 무게는 무처리구와 처리구간의 유의성을 보이지 않았으며, 셀레늄 처리횟수별 처리구간에도 크게 영향을 미치지 않는 것으로 보이며, 엽채소류

재배시 셀레늄 처리농도가 증가할수록 생체중이 감소했다는 보고가 있었으나(Lee 등, 2008), 본 실험에서는 처리농도가 차나무의 생육양상에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다. 유기게르마늄의 처리로 비슷한 경향의 결과를 보였다. 처리 횟수 면에서도 처리횟수가 증가할수록 차나무 체내 축적량이 점차 증가하는 양상으로 나타났다. 처리 농도별 식물체 내에 축적정도는 높은 농도에서 더 많은 축적 경향을 보였으며, 처리횟수가 많을수록 비례적으로 점차 많은 양이 축적됨을 보였다. 처리횟수와 처리농도가 증가되면 차나무내 축적량이 증가됨을 보였으며, 처리부위 축적양상은 저농도 처리횟수가 적을수록 2엽, 3엽에서, 고농도 3회 처리에서는 1엽, 2엽이 가장 많은 양이 축적되는 양상을 보였다.

Table 7. 유기 셀레늄 농도별 처리횟수별 엽면시비 후 차잎의 생육상황.

Concentrations of treatment	Foliar spray times	Dates of treatment	Growth characteristic of shoots		
			number of shoots	weights	length of shoots
Control			92.00	60.10	6.13
20 ppm	One times	15days before harvesting	89.67	64.63	7.50
	Two times	15, 10days before harvesting	96.67	65.97	6.22
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	86.67	65.30	6.24
40 ppm	One times	15days before harvesting	89.67	51.37	6.47
	Two times	15, 10days before harvesting	98.33	51.57	5.43
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	110.67	54.83	4.60
80 ppm	One times	15days before harvesting	89.67	72.87	6.60
	Two times	15, 10days before harvesting	83.50	56.90	6.06
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	109.67	61.97	4.70

<sup>z</sup> Mean separation within in columns by Duncan's multiple range test at  $p = 0.05$ .

1번차의 1심 3엽기에 노지재배(야부기다 품종)에서 엽면 유기 셀레늄의 흡수능을 비교 분석한 결과는 Fig. 15에 나타낸 바와 같다. 전술한 바와 같이 노지재배에서는 유기 셀레늄은 처리농도와 처리횟수 증가로 누적량도 점차 증가함을 보였다. 80ppm 3회처리에서 가장 높은농도의 축적량을 보였으며 처리횟수가 증가되면 축적량도 점차 증가되었다.

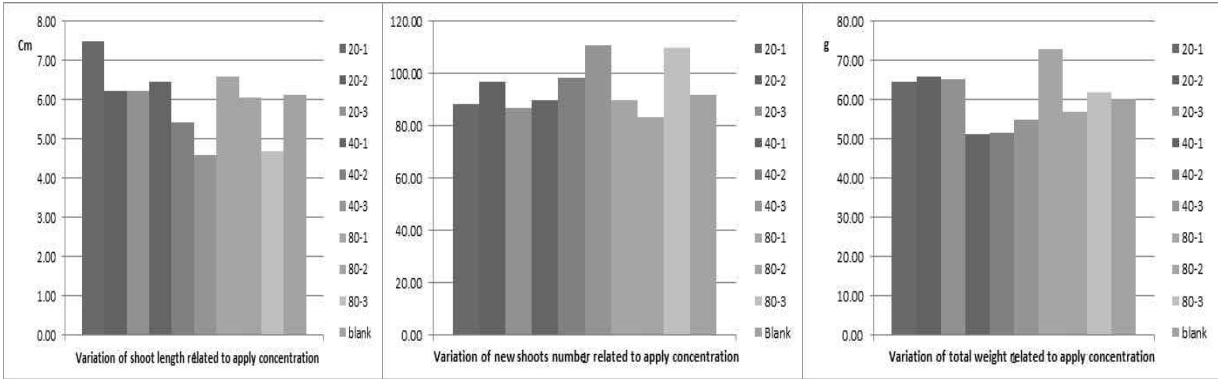


Fig. 15. The different shoot growing stage which was treated with organic Selenium by foliar spray with different concentrations

1번차의 1심 3엽기에 노지재배(야부기다 품종)에서 엽면 유기 셀레늄의 흡수능을 비교 분석한 결과는 Fig. 16에 나타낸 바와 같다. 전술한 바와 같이 노지재배에서는 유기 셀레늄은 처리농도와 처리횟수 증가로 누적량도 점차 증가함을 보였다. 80ppm 3회처리에서 가장 높은 농도의 축적량을 보였으며 처리횟수가 증가되면 축적량도 점차 증가 되었다.

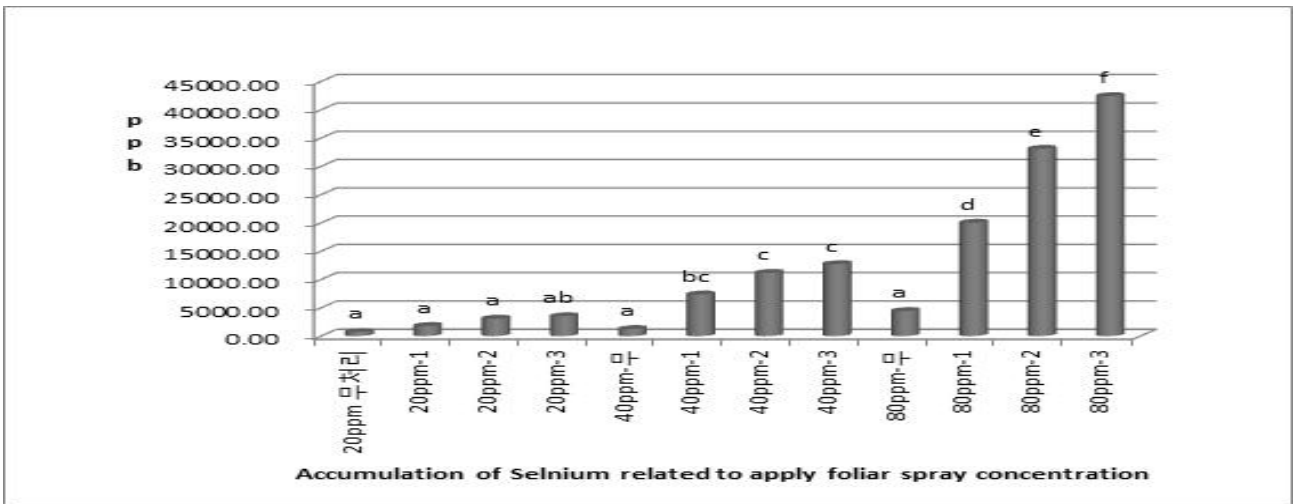


그림 16. 유기 셀레늄 농도별 처리횟수별 엽면 시비후 차이의 셀레늄 누적 함량

셀레늄 살포횟수와 농도별 처리에 따른 유기 셀레늄 흡수 정도를 각 차이의 순서별로 누적량은 Table 8 과 Figure 17, 18, 19에 나타내었다. 차이 순서별 유기 셀레늄을 처리횟수 및 처리농도별 엽면시비 후 시간 경과에 따른 신초의 셀레늄 함량을 보면(Table 2), 2번 3번 엽에서

누적량이 높았다, 이는 유기 셀레늄이 신초에 흡수되어 수체 내 이동이 크지 않아 점차 식물체의 성장으로 성장된 부위는 농도가 낮아지는 경향을 보여주는 것으로 보였다. 식물체의 셀레늄 함량은 유기 셀레늄 처리 농도가 높고 처리 횟수는 많을수록 뚜렷이 높아지는 경향을 보였다. 유기 셀레늄의 처리농도와 횟수가 신초의 부위별 흡수정도를 Table 3.에서 보는 바와 같다. 신초의 부위별 셀레늄 함량은 셀레늄 처리시점의 신엽과 연관된 것으로 판단되며, 낮은 농도의 처리횟수가 적을수록 상위 2엽 3엽이 높은 농도를 보였다. 이는 1회 처리 결과에서 보듯 1회 처리 후 새로운 엽이 출현되어 그 엽으로 흡수된 셀레늄이 전달된 것으로 보이며, 고농도 처리시에는 3회 처리 상위 1엽에서 가장 높은농도의 축적량을 보여, 이는 식물체내 이동량이 적어 누적량에 다시 재살포 됨으로 점차 증가된 것으로 사료된다. ,이는 살포시기에 식물체가 셀레늄을 흡수한후 이동성이 크지 않아서 수확기까지 성장한 상위엽에는 살포횟수가 증가되면서 누적이 되고 하위엽은 살포의 영향을 적게 받아 점차 누적량이 적어진 것으로 보인다.

Table 8. 유기 셀레늄 농도별 처리횟수별 엽면시비 후 엽위별 찻잎의 셀레늄 누적 함량.

Concentrations of treatment	Foliar spray times	Selenium content (ppb/kg) in different parts of new young leaves				
		1st leaf	2nd leaf	3rd leaf	4th leaf	5th leaf
20 ppm	control	966 <sup>a</sup>	1200 <sup>a</sup>	793 <sup>a</sup>	1531 <sup>a</sup>	1588 <sup>ab</sup>
	One times	3606 <sup>ab</sup>	13112 <sup>b</sup>	17238 <sup>bc</sup>	14438 <sup>c</sup>	10172 <sup>bc</sup>
	Two times	6580 <sup>b</sup>	32260 <sup>de</sup>	24208 <sup>ef</sup>	20855 <sup>d</sup>	15238 <sup>c</sup>
	Three times	32325 <sup>d</sup>	35623 <sup>de</sup>	31978 <sup>h</sup>	26312 <sup>e</sup>	26267 <sup>d</sup>
40 ppm	control	1715 <sup>a</sup>	551 <sup>a</sup>	457 <sup>a</sup>	1209 <sup>a</sup>	463 <sup>a</sup>
	One times	19507 <sup>c</sup>	15505 <sup>b</sup>	15010 <sup>b</sup>	8290 <sup>b</sup>	5703 <sup>bc</sup>
	Two times	23175 <sup>c</sup>	22307 <sup>c</sup>	17063 <sup>bc</sup>	11382 <sup>bc</sup>	10563 <sup>b</sup>
	Three times	41907 <sup>e</sup>	30547 <sup>d</sup>	22342 <sup>cd</sup>	18483 <sup>c</sup>	14312 <sup>c</sup>
80 ppm	control	138 <sup>a</sup>	828 <sup>a</sup>	435 <sup>a</sup>	400 <sup>a</sup>	1096 <sup>a</sup>
	One times	28412 <sup>d</sup>	38463 <sup>e</sup>	30110 <sup>fg</sup>	25033 <sup>de</sup>	23927 <sup>d</sup>
	Two times	75783 <sup>f</sup>	57660 <sup>f</sup>	52010 <sup>i</sup>	43450 <sup>f</sup>	34923 <sup>e</sup>
	Three times	115700 <sup>g</sup>	86697 <sup>g</sup>	66460 <sup>j</sup>	61173 <sup>g</sup>	49890 <sup>f</sup>

<sup>z</sup> Mean separation within in columns by Duncan's multiple range test at  $p = 0.05$ .



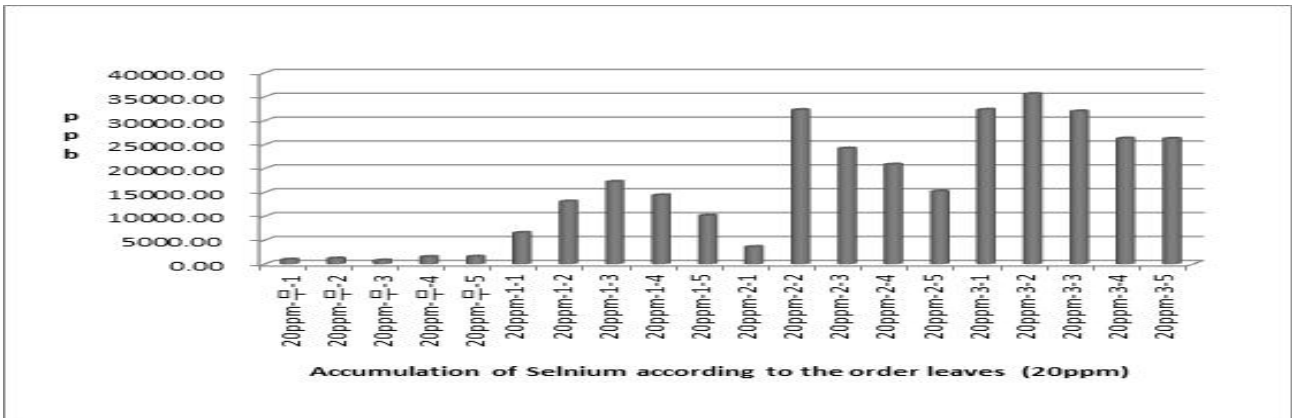


Fig. 17. Selenium content (ppb/kg) about numerical order of young leaves treated with 20ppm organic Selenium by foliar spray (harvested on May 16). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level.

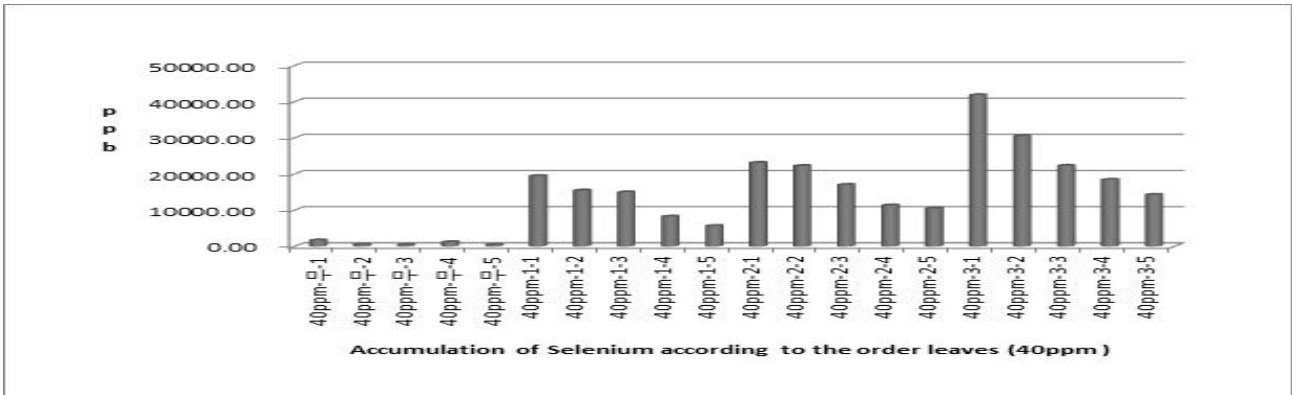


Fig. 18. Selenium content (ppb/kg) about the numerical order of young leaves treated with 40ppm organic Selenium by foliar spray (harvested on May 16). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level]

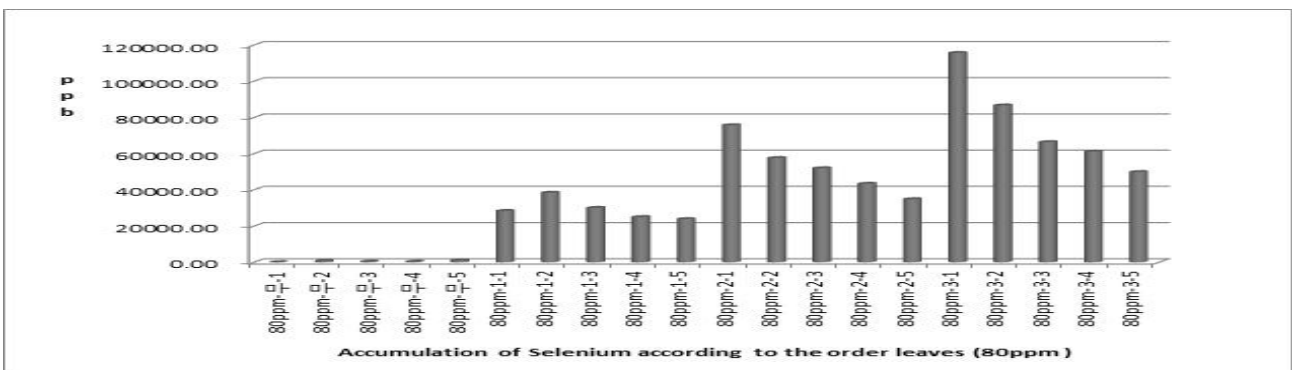


Figure 19. Selenium content (ppb/kg) about the numerical order of young leaves treated with 80ppm organic selenium by foliar spray (harvested on May 16). Mean values were compared with Duncan's multiple range test at 5% level.

다. 유기 게르마늄 처리에 의한 식물체 흡수능과 생육특성 평가

유기 게르마늄 처리횟수 및 농도에 따른 처리방법 및 처리횟수는 Table 9 에 나타냈으며, 처리 후 수확시기의 신초의 생육상황은 Fig. 20 에 나타냈다, 20cm×20cm 구역안의 발생된 신초수, 각 신초길이의 평균, 발생신초의 총무게를 조사 하였다. 각 조사구별 평균에 유의수준 5% 덩컨의 다중범위 검정을 실시하였으나, 각 처리별 유의성이 없는것으로 나타났다. 게르마늄 처리가 차나무의 생육 양상에 변화를 끼치는지 알아보하고자 조사한 처리농도별 신초길이, 수량, 무게는 무처리구와 처리구간의 유의성을 보이지 않았으며, 게르마늄 처리횟수별 처리구간에도 크게 영향을 미치지 않는 것으로 보이며, 엽채소류 재배시 셀레늄등 처리농도가 증가할수록 생체중이 감소했다는 보고가 있었으나, 본 실험에서는 처리농도가 차나무의 생육양상에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 사료된다. 유기게르마늄의 처리로 비슷한 경향의 결과를 보였다.

Table 9. 유기 게르마늄 농도별 처리횟수별 엽면시비 후 차잎의 생육상황.

Concentrations of treatment	Foliar spray times	Dates of treatment	Growth characteristic of shoots		
			number of shoots	weights	length of shoots
Control			91.00	52.60	7.57
20 ppm	One times	15days before harvesting	87.33	56.23	8.13
	Two times	15, 10days before harvesting	96.00	51.37	7.19
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	85.67	53.13	7.47
40 ppm	One times	15days before harvesting	94.67	58.73	7.54
	Two times	15, 10days before harvesting	101.33	50.63	7.26
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	108.67	52.20	6.63
80 ppm	One times	15days before harvesting	101.33	50.80	7.22
	Two times	15, 10days before harvesting	98.00	47.43	7.55
	Three times	15, 10, 5days before harvesting	93.67	57.97	8.39

<sup>z</sup> Mean seperation within in columns by Duncan's multiple range test at  $p = 0.05$ .

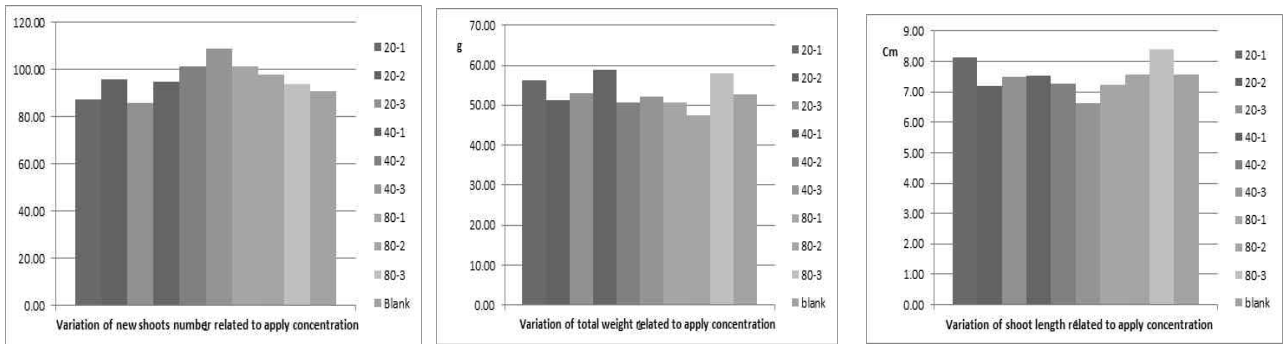


그림 20. 유기 게르마늄 농도별 처리횟수별 엽면시비 후 찻잎의 생육

### 3. 적 요

바나듐 및 셀레늄 처리 농차에 의한 당뇨개선 효과와, 바나듐 및 셀레늄의 신초 흡수에 따른 신초내 유기성분 함량 및 품질에 미치는 영향을 평가하였다. 근육세포(L6)에서 바나듐 처리 농차는 정상 농차보다 포도당 흡수를 증가시켰다. 바나듐 처리 농차는 Akt 인산화에는 영향을 미치지 못하였으나 AMPK 인산화는 증가시켰다. 동시에 포도당 수송체 4 (Glut4)의 세포막 이동을 증가시켰다. AMPK inhibitor인 compound C의 처리는 AMPK 인산화, Glut4의 발현 및 포도당 흡수에 대한 바나듐 처리 농차의 영향을 차단하였다. 이런 결과로 바나듐 처리 농차는 인슐린 비의존적인 AMP-activated protein kinase (AMPK) 경로를 통해 포도당 수송체 4 (Glut 4)가 활성화되어 Glut 4가 세포질에서 세포막으로 이동함으로써 세포내로 포도당 유입을 촉진시킴을 알 수 있었다. 셀레늄 농차 추출물 또한 L6 세포의 포도당 이용율을 농도 의존적으로 증가 시켰다. 이런 현상은 30분-60분대에서 이루어졌다. 셀레늄농차 추출물을 처리 시 보이는 포도당 흡수능의 촉진은 AMPK 억제제인 compound C에 의하여 현저히 억제 되는 것을 확인 하였다. steptozotocin에 의한 당뇨유발 동물에서도 셀레늄농차 추출물은 정상 대조군에 비하여 유의한 혈당 강하 효과가 관찰되었으며, 유의한 내당능 개선 효과를 관찰 할 수 있었다. 유기 바나듐 및 셀레늄을 1번 차기 및 2번 차기에 각각 수확전 15일부터 5일 간격으로 엽면살포 처리한 후 신초내 유기성분 함량 및 품질에 미치는 영향을 평가한 결과 이들 물질의 처리횟수 및 농도에 따라 신초에서의 흡수 농도는 다르게 나타났다. 바나듐의 흡수는 신초내 아미노산, 카페인, 폴리페놀, 카테킨의 함량에 영향하지 않은 것으로 나타났으나, 셀레늄의 경우는 그 영향이 분명치 않았다.

기능성이 강화된 차를 개발할 목적으로 차나무의 유기 바나듐 흡수능과 유기 셀레늄 흡수능을 평가하기 위하여 수행하였다. 유기 바나듐은 차기별로 농도를 달리하여 관주시스템과 엽면시비로 료후 품종과 야부기다 품종에 처리하였다. 6.0 ppm 이상의 농도를 관비 시스템으로 처리하였을 경우, 1심 3엽기에 비해 1심 1엽기에 일찍 관주처리 했을 때 신초의 바나듐 함량이 증가되었다. 포트재배 차나무가 노지포장에 재식된 차나무보다 높은 흡수능을 보여주었다. 엽면시비에서는 수확 전 1회 살포는 식물이 생장함에 따라 희석 효과를 가지며, 3회까지 처리 횟수를 증가함에 따라 신초의 유기 바나듐 함량은 증가하는 경향을 보여 주었고, 이는 모든 차기에 관계없이 유사하였다. 신초의 위치에 따라 모든 잎의 바나듐 함량은 동일하지 않고, 오래된

하위엽에서 높은 함량을 나타내었는데, 이는 신초가 성장함에 따라 상위엽에서 희석효과를 가지기 때문인 것으로 추정되었다. 유기 셀레늄은 차기별로 농도를 달리하여 엽면처리로 야부기 다 품종에 적용하였다. 0, 20, 40, 80 ppm 농도를 각각 처리 구간 비교해 보면 농도가 진해질 수록 차나무 체내 누적량은 점차 증가됨을 보였으며, 처리횟수별 엽면처리 방법으로 처리하였을 경우, 횟수가 증가할수록 누적량은 증가하였다. 엽위별 셀레늄 누적량의 비교에서는 2~3엽 부위에서 가장 누적량이 많은 것으로 측정되었고 1번엽과 5번엽은 누적량이 다소 적어지게 나타났다. 엽면시비에서는 수확 전 1회 살포는 식물이 성장함에 따라 희석 효과를 가지는 것으로 보이며, 3회까지 처리 횟수를 증가함에 따라 신초의 유기 셀레늄 함량은 증가하는 경향을 보여 주었고, 이는 모든 차기에 관계없이 유사하였다. 신초의 위치에 따라 모든 잎의 셀레늄 함량은 동일하지 않고, 오래된 하위엽에서 높은 함량을 나타내었다.

## 제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

### 제 1 절 목표대비 달성도

당초 목표	개발 내용	달성도(%)
<input type="checkbox"/> 제1세부과제 : 기능성 차의 생리활성 구명		
○ 바나듐 기능성 차의 항비만 (슬리밍) 및 항당뇨 효능평가	바나듐 기능성 차의 항비만(슬리밍) 및 항당뇨 효능 평가	100
○ 셀레늄 및 게르마늄 차의 항비만 및 항당뇨 효능 평가	셀레늄 및 게르마늄 기능성 차의 포도당 흡수능 및 동물에서 항당뇨 효능 평가	100
<input type="checkbox"/> 제2세부과제 : 기능성 차의 안전생산 기술개발		
○ 유기바나듐 및 셀레늄 지속 처리에 의한 식물체 흡수능 및 영향평가	유기 바나듐의 농도별 처리횟수별 식물체 흡수능과 생육특성	100
○ 유기 셀레늄 및 게르마늄의 지속 처리에 의한 식물체 흡수능 및 영향평가	유기 셀레늄 의 농도별, 처리횟수별 식물체 흡수능과 생육특성 유기게르마늄의 농도별 처리횟수별 식물체 생육특성	100

제 2 절 정량적 성과(논문게재, 특허출원, 기타)를 기술

성과지표명		목표	성과	달성도(%)	가중치(%)
논문	SCI				
	비SCI	5	4	80	
학술발표	국제		3		
	국내	6	5	133	
기술이전					
시책건의					
영농활용					
홍보성과					
계					

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### ○ 기능성 차의 개발과 농가 소득원 확대

- 바나듐은 열수에 추출되기 어려워 일반 녹차 제품의 개발은 여의치 않으나, 분말을 이용한 가루차 및 식품 소재 이용은 가능할 것으로 판단되어, 추후 바나듐 강화 가루차 개발 등에 활용할 계획임
- 최근 차광재배에 의한 가루차 분말 수요가 증가하고 있어, 차광재배시 유기 바나듐, 셀레늄 및 게르마늄 처리에 따른 흡수능 평가와 생산기술 개발에 활용코자 함

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 일본 및 스리랑카의 경우 총폴리페놀 및 카테킨의 정량분석을 국제표준분석법(ISO 14502-1 및 ISO 14502-2)에 의해 수행하고 있음
- 중국 난징대학교에서 유기 셀레늄의 처리에 의한 아미노산 함량 증가 및 폴리페놀 함량 감소를 보고(2001)하는 등 기능성 차에 대한 중국의 연구가 오래 전에 진행되어 오고 있음



## 제 7 장 기타 중요 변동사항

- 해당 없음

## 제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구장비 현황

- 해당 없음

## 제 9 장 참고문헌

- Anan, T., H. Takeayanagi, K. Ikegaya, and M. Nakagawa. 1991. Changes in chemical components during the development of tea shoots and manufacture of green tea. Bull. Natl Res. Insti. Vege. Ornam. Plants Tea Series B (kanaya)4:25-91.
- Cabrera, C. R. Artacho, and R. Gimenez. 2006. Beneficial effects of green tea-a-review. J. Amer. Coll. Nutr. 25:79-99.
- Caffin, N.B.D., L. Yao, and R. Gavin. 2004. Developing an index of quality for Australian tea. BIRDC 4:33.
- Cai, X.J., A. Beuck, and T.C. Stadtman. 1991. Catalytic properties of an Escherichia coli formate dehydrogenase mutant in which sulfur replaces selenium. Proc. Natl Acad Sci. 88(19):8450
- Chen, L. and Z.X. Zhou. 2005. Variations of main quality components of tea genetic resources [Camellia sinensis (L.) O. Kuntze] preserved in the China national germplasm tea repository. J. Plant Food Hum. Nutr. 60:31-35
- Henry, P. R., Echevaria, M. G., Ammerman, C. B. and Rao, P. V. 1988. Estimation of the relative biological availability of inorganic Selenium source for ruminants using tissue uptake of Selenium. J. Anim. Sci. 66:2203-2312
- Hu, Q.H., J. Xu, and G.X. Pan. 2003. Effect of selenium on the yield and quality of green tea leaves harvested in early spring. J. Agr. Food Chem. 51:3379-3381.
- Hu, Q.H., J. Xu, and G.X. Pan. 2001. Effect of selenium spraying in green tea quality. J. Sci. Food Agric. 81:1387-1390.
- Hyun TK, Kim CH and Kim JS. (2014). Antioxidant and antidiabetic activity of Thymus quinquecostatus Celak. Industrial Crops and Products 52:611-616.
- Kim JS, Kwon YS, Chun WJ, Kim TY, Sun J, Yu CY and Kim MJ. (2010). Rhus verniciflua Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect. Food Chemistry. 120:539-543.
- Kim, J.W., J.K. Kim, J.H. Kim, G.H. Shin, J.S. Han, J.H. Park, K.S. Cho, and H.K. Choi. 1998. The current status of tea cultivation and utilization in Taiwan. J. Kor. Tea Soc. 4(2):93-104.
- Ko, K.S., S.S. Oh, J.H. Lee, J.W. Hyun, Y.G. Kim. 2010. Distribution of inorganic elements in Jeju green tea. J. Kor. Tea. Soc. 16(1):85-88.
- Lauchli, A. 1993. Selenium in plants: uptake, function and environmental toxicity. Bot. Acta 106: 455-468

- Lee, S. J., H. M. Kang, 2008. Effect of sodium selenate supplied condition by fertigation on the growth and content of minerals, ascorbic acid, nitrate, and selenium of some western vegetables. *J. Bio-Environ. Control* 17: 43-50
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA. (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*. 71:109-11
- NIAST (2000) Methods of soil and crop plant analysis, National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea
- Song, I.K., E.U. Oh, B.V. Kim, K.S. Kim, J.H. Yoon, C-S. Kim, and K.J. Song. 2011. Changes in quality characteristics of different cultivars at different tea seasons and shoot growth stages in Jeju. *J. Kor. Tea Soc.* 17(1):41-47
- Song, I.K., T.G. Kim, S.G. Kang, S.S. Lee, and K.J. Song. 2013. Effect of treatment methods and concentration on organic vanadium absorbance of tea (*Camellia sinensis* L.) shoots. *J. Kor. Tea Soc.* 19(2):68-72
- Song, I.K., Y-D. Kim, B-C. Kim, S-G. Kang, and K.J. Song. 2012. Characteristics of tea shoot quality in yearly variation at different harvesting seasons and growth stages in Jeju. *J. Kor. Tea Soc.* 18(2):60-68.
- Trelease, S. F. and Beath, O. A. 1949. Selenium: Its geological occurrence and its biological effects in relation to botany, chemistry, agriculture, nutrition and medicine. The Champlain Printers, Burlington, VT., USA.
- 신미경 (2007) 차와 웰빙문화. 제주녹차 발전과 차문화 저면확대를 위한 세미나. 제주 녹차협력단. pp. 25-36.

## 주 의

1. 이 보고서는 농촌진흥청에서 시행한 「지역전략작목산학협력사업」의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서의 내용을 인용·발표할 때는 반드시 농촌진흥청에서 시행한 「지역전략작목산학협력사업」의 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.