

## 차나무 잎의 캘러스 배양을 통한 카테킨류의 생산성 개선

오순자, 고석찬\*

제주대학교 생명과학과, 기초과학연구소

### Improvement of Catechin Productivity in Callus Cultures of *Camellia sinensis* Leaves

Soonja Oh and Seok Chan Koh\*

Department of Life Science & Research Institute for Basic Sciences,  
Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

#### ABSTRACT

The effects of thiamine-HCl or polyvinylpyrrolidone (PVP) on growth and catechin contents of calli from *Camellia sinensis* leaves were investigated to improve catechin productivity in callus cultures on the selective medium. The growth of calli was great on the proliferation medium (the MS medium with 0.2 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L TDZ) supplemented with 20~30 mg/L thiamine-HCl. Although the caffeine content was low in calli compared to young leaves, the total content of catechins was high in calli. Particularly, (-)-epicatechin (EC) which not detected in young leaves was also detected in calli on the propagation medium containing thiamine-HCl or PVP. In addition, the (-)-epicatechingallate (ECG) content was significantly higher in calli than in young leaves. In conclusion, the proliferation medium supplemented with 30 mg/L thiamine-HCl as a vitamin source seemed to be optimal condition for the growth and catechin production in callus culture.

**Key words :** *Camellia sinensis*, callus culture, caffeine, catechins, thiamine-HCl

#### 서론

녹차는 음료 중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있으며 커피, 코코아와 함께 카페인을 함유한 비알코올성 기호음료로 널리 음용되고 있다. 녹차가 기호음료로서 발전해 온 가장 큰 이유는 여러 민족의 구미에 맞는 대중적인 기호성을 가지고

있을 뿐만 아니라 생체리듬의 조절, 면역력 증진, 질병의 예방이나 회복, 노화억제 등 신체조절 기능을 갖는 기능성 식품으로서의 중요성이 부각되고 있기 때문이다. 녹차는 카페인, 카테킨류, 질소화합물, 당, 유기산, 비타민 및 무기질 등을 다량 함유하고 있으며, 특히 다른 식물에 비해 카페인과 polyphenol인 카테킨류의 함량

\*교신저자 : E-mail : sckoh@cheju.ac.kr

이 많은 것이 특징이다 (Graham, 1992). 카페인은 중추신경계, 심장, 신장에 작용해서 신경 흥분, 강심, 이노작용을 나타낸다. 카테킨류는 차의 주요 생리활성물질로 작용하며, 현재까지 알려진 녹차의 카테킨류는 (+)-catechin (C)과 (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin gallate (ECG), (+)-epigallocatechin (EGC) 및 (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) 등이 있다. 이들 카테킨류는 혈중의 콜레스테롤 저하 (Suzuki *et al.*, 1998), 혈압저하 (Huang *et al.*, 1998), 혈당강하 (Chakravarthy *et al.*, 1982) 등의 약리작용이 있으며, 이외에 항산화작용 (Lotito and Fraga, 1998), 항균작용 (Ikigai, 1993), 항암작용 (Fujiki *et al.*, 1998) 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 이처럼 녹차의 카테킨류가 다양한 생리활성 및 약리학적 효과가 입증됨에 따라 여러 가지 기능성 소재 및 식품소재로서의 이용 가능성이 증대되고 있다.

하지만 이들 성분들은 품종에 따라 그리고 같은 종 내에서도 계절, 장소, 기후, 재배조건, 식물체의 부위 등에 따라 생산성이 다르다. 그러나, 조직배양은 자연환경의 제약을 받지 않고도 식물이 생산하는 생리활성물질을 안정적으로 생산할 수 있으며 기내의 최적 환경에서 원하는 시기에 대량생산이 가능하므로 상업적으로 중요하다고 할 수 있다. 본 연구에서는 thiamine-HCl과 polyvinylpyrrolidone (PVP)가 차나무 잎 켈러스의 성장과 카테킨 함량에 미치는 영향을 분석하여 이들 화합물이 켈러스 내 카테킨류의 함량과 조성의 변화를 확인한 바, 카테킨류의 효율적 생산을 위한 방안이 될 것으로 판단하여 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 분석시약

본 실험에 사용한 차나무 (*Camellia sinensis*)는

제주대학교 농장에 식재되어 있는 Yabukita 품종이며 켈러스 유도 및 증식을 위해서 신초를 사용하였다. 시험분석을 위한 시약으로 표준품인 카페인, (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechingallate (ECG), (+)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)는 Sigma사 제품을 사용하였다. 그리고, acetonitrile, N,N-dimethyl formamide, ethyl acetate, tetrahydrofuran 등의 용매들은 Sigma사의 HPLC용을, 그 밖의 전처리 과정에 사용된 시약은 특급시약을 사용하였다.

### 켈러스의 유도 및 증식

신초를 0.2×0.5 cm크기로 잘라 켈러스유도배지 (0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA가 첨가된 MS 배지)에 치상하여 켈러스를 유도하였다 (오 등, 1996). 유도된 켈러스는 식물체 절편으로부터 분리하여 켈러스증식배지 (0.2 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L TDZ가 첨가된 MS 배지)에 치상하여 증식하였다. Thiamine-HCl과 PVP가 켈러스의 성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 동일한 배지에 thiamine-HCl (0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L)과 PVP (0, 100, 200, 300, 400, 500 mg/L)를 농도별로 첨가한 후, 0.2 g의 켈러스를 각각의 배지에 옮겨 배양하였으며, 4주 후에 켈러스의 생체중을 측정하여 비교하였다. 켈러스의 유도 및 증식은 온도 25±1℃, 조도 4,000 lux, 광주기는 16/8시간의 조건에서 수행하였다.

### 시료추출물의 제조

켈러스 또는 신초는 80℃의 건조기에서 20시간 건조시켜 분쇄한 후 카페인과 카테킨류 함량을 분석하기 위한 재료로 사용하였다. 먼저 분쇄한 시료 100 mg을 시험관에 넣고 10 ml 증류수를 첨가한 다음 80℃ 항온 수조에서 50~60분간 가온 추출하여 TOYO 여과지로 여과하였다. 여과한 추출액을 분액깔대기에 넣고 chloroform 20 ml를 넣어 잘 흔들었다. 이 과

정을 3회 반복한 후 chloroform층을 모아 45℃로 조정된 향온수조에서 감압농축한 후, HPLC용 증류수 3 ml를 첨가하여 녹인 다음 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 카페인 분석을 위한 재료로 사용하였다. 카테킨류는 chloroform층을 제거한 상층액을 분액깔대기에 넣고 ethyl acetate 20 ml를 넣어 추출하였다. 이 조작 역시 3회 반복한 후 ethyl acetate층을 60℃로 조정된 향온수조에서 감압농축한 후 다시 3 ml HPLC용 ethyl acetate를 첨가하여 녹인 후 0.45 μm membrane filter로 여과하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다.

### 카페인과 카테킨류의 함량 분석

카페인과 카테킨류의 함량 분석은 UV detector가 장착된 HPLC (Waters 590, U.S.A)를 이용하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다. 카테킨류 중에 EC, EGC, EGCG는 method I으로, ECG는 method II로 분석하였다. 카페인과 카테킨류의 함량은 카페인과 4가지 카테킨 (EC, ECG, EGC, EGCG) 표준 물질의 표준곡선을 작성하여 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### 켈러스의 증식

켈러스는 배지의 성분이나 물리적, 화학적인 배양조건에 따라 생장과 이차대사산물 합성에 영향을 받기 때문에 배양조건은 켈러스배양에 있어서 매우 중요하다 (Sakurai *et al.*, 1997). 더군다나, 배양중에 켈러스 생장이 저조하거나 갈변현상이 일어날 수 있어 이를 해결하는 것이 우선적으로 필요하다. 차나무 싹초를 켈러스유도 배지에서 배양하여 켈러스를 유도하였으며, 유도된 켈러스는 켈러스증식배지에서 증식하였다 (데이타 미제시).

켈러스 생장에 가장 적합한 배지를 선정하기 위해 차나무 싹초로부터 유도된 켈러스를 켈러스 증식배지에 thiamine-HCl 또는 PVP를 첨가하여 4주간 배양한 후 켈러스 성장량을 조사하였다 (Table 2). Thiamine-HCl 농도에 따른 켈러스의 생장은 대조구에 비하여 thiamine-HCl 처리시 증가하였다. 특히, 20 mg/L thiamine-HCl 처리시 1.10g으로 대조구의 0.64g에 비해 1.7배로 증가하였고, 그 이상의 농도에서는 다소 감소하였지만 대조구에 비하여 켈러스의 생장이 증가하였다. 이러한 결과는 담배 켈러스에서 thiamine-HCl의 농도를 높였을 때 4배의 성장을 보였으며, 장미의 경단배양시 thiamine-HCl을 첨가하였을 때 켈러스 생장이

Table 1. HPLC conditions for the analysis of caffeine and catechins

	Caffeine	Catechins	
		Method I	Method II
Column	ODS(14×0.5cm) column	μ-Bondapak C <sub>18</sub>	μ-Bondapak C <sub>18</sub>
Mobile phase	70% Methanol	25% Tetrahydrofuran 1% Phosphoric acid	Acetonitrile : 130 ml Acetic acid : 5 ml Methanol : 20 ml Water : 862 ml
Flow rate	1 ml/min	1 ml/min	1 ml/min
Wavelength	254 nm	280 nm	280 nm
Chart speed	0.5 cm/min	0.25 cm/min	0.25 cm/min
Injection volume	10 μl	10 μl	10 μl

Table 2. Effects of thiamine-HCl and PVP on the growth of calli cultured in the proliferation medium

	Concentration (mg/L)	Callus growth (g)
Control	0	0.64
	10	0.73
Thiamine-HCl	20	1.10
	30	1.02
	40	0.84
	50	0.85
	100	0.62
PVP	200	0.86
	300	0.89
	400	0.39
	500	0.40

\* Values are mean values of triplicate.

촉진된다는 결과와 유사하였다 (Linsmaier *et al.*, 1967; Hasegawa, 1979, 1980). PVP의 농도에 따른 캘러스 성장을 보면, 대조구에 비해 300 mg/L PVP까지는 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 생장이 떨어지는 경향을 나타내었다. 온대산 *Cymbidium*의 경정배양시 활성탄과 PVP를 처리한 배지에서 생존율이 높았으며 (Choi *et al.*, 1996), *Datura inoxia*의 화분 배양에서 배형성과 캘러스 생장은 0.5% PVP를 처리했을 때 생장이 양호하다는 보고와 같이 (Tyagi *et al.*, 1981), PVP가 300 mg/L까지는 캘러스 생장에 우호적으로 작용하고 있음을 알 수 있다.

### 신초와 캘러스의 카페인 및 카테킨류 함량의 비교

식물 유래의 생리활성물질은 일반적으로 서식 환경에 민감하여 같은 종 내에서도 영양원, 수분 스트레스, 온도, 일장 등 환경적인 요인과 지역적인 차이에 따라서 그 생산성이 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 차나무 신초의 주요 생리활성물질인 카페인과 카테킨류도 기상 및 재배조건, 채취시기 등에 따라 차이가 있는 것으로 보고된다 (김 등, 2002). 식물조직배양은 이러한 문제를 해결하는 방안으로 이용될 수 있으며 현재 식물체 내에 함유되어 있는 생리활성물질을 기내배양을 통하여 생산하는 연구가 활발히 이루어지고 있다.

차나무 신초와 그 신초로부터 유도된 캘러스에서 카페인과 카테킨류의 함량을 HPLC를 이용하여 분석하여 비교하였다. 캘러스의 카페인 함량은 0.74mg/g으로 매우 낮아서 신초의 카페인 함량 14.73mg/g의 5%에 불과하였다 (Table 3). 카테킨류는 신초와 캘러스에서 모두 ECG, EGC, EGCG가 검출되었으나 EC는 검출되지 않았다. 캘러스의 EGC, EGCG 함량은 각각 1.63mg/g, 0.3mg/g으로 신초의 73%, 13%에 해당하였다. 그러나 캘러스의 ECG 함량은 0.74mg/g으로 신초에서 보다 2.6배나 높게 검출되었다. 이러한 결과는 배양환경의 적절한 조절로 차의 주요성분인 카페인과 카테킨류 함량을 조절할 수 있음을 시사한다고 할 수 있다. 더욱이, 캘러스는 배지 내에서 무균 상태로 배양하기 때문에 연중 아무 때나 대량생산이 가

Table 3. Comparison of caffeine and catechin contents between young leaves and calli cultured in the proliferation medium

	Caffeine (mg/g)	Catechins (mg/g)				
		EC	ECG	EGC	EGCG	total catechins
Young leaf	14.73	-	0.29	2.23	2.30	4.82
Control	0.74	-	0.74	1.63	0.30	2.67

\* Values are mean values of triplicate.

- Not detected on the basis of HPLC.

능하고 여러 가지 물질의 생합성 과정에 있어서의 반응 메카니즘 또는 특정물질의 생합성 과정의 각 단계를 조절하는데도 활용할 수 있을 것이다.

### Thiamine-HCl과 PVP 첨가 배지에서 켈러스의 카페인 함량

켈러스의 카페인 함량은 thiamine-HCl과 PVP의 농도에 따라 차이가 있으나 10mg/L의 thiamine-HCl에서 0.64mg/g으로 대조구의 86%, 400~500mg/L의 PVP에서 0.33~0.35 mg/g으로 대조구의 45~47%로 낮게 분석되었다 (Table 4). 카페인은 적당량을 섭취하면 신경 활동이 활발해지고 피로가 경감되는 효과가 있으나 과잉으로 섭취하면 중추신경계에 영향을 미쳐 신경과민, 흥분, 불면 등을 유발할 수 있으며 특히 신장질환이나 위궤양 환자에게 나쁜 영향을 미친다 (Tonychou, 1992; Kunugi *et al.*, 1988). 일반적으로 사람들은 철저히 복용량을 지키는 의약품과는 달리 카페인 함유식품에 대해서는 아무런 의심없이 습관적으로 음용하게 되어

개인에 따라서는 많은 양의 카페인을 섭취하게 된다. 켈러스 내의 카페인 함량은 thiamine-HCl이나 PVP 농도에 따라 차이가 있으나 전반적으로 Table 3에서 제시한 차나무 신초에서보다 훨씬 낮아 10% 미만의 적은 함량을 포함하고 있다. 이러한 결과를 토대로 조직배양으로 녹차의 카페인 함량을 낮출 수 있을 것이며, 켈러스를 이용하여 제품을 생산한다면 카페인 섭취를 최소화 할 수 있을 것이다.

### Thiamine-HCl과 PVP 첨가 배지에서 켈러스의 카테킨류 함량

Thiamine-HCl과 PVP가 첨가된 켈러스증식배지에서 배양된 켈러스의 카테킨류의 함량을 분석하여 비교하였다 (Table 5). HPLC로 확인한 결과, Thiamine-HCl 또는 PVP를 첨가하여 배양한 켈러스에는 배양조건에 따라 차이가 있으나 EC, ECG, EGC, EGCG 등 4가지 성분이 모두 포함되어 있다. 이러한 결과는 Table 3에서 차나무 신초와 그 신초로부터 유도된 켈러스에서 EC가 검출되지 않았음을 고려했을 때 thiamine-HCl과 PVP가 EC 합성에 관여하는 것으로 보이며, 배양조건에 따라 카테킨류의 함량이나 조성이 달라질 수 있음을 시사한다고 할 수 있다. 각 배양조건에서 카테킨 함량을 비교해보면, EC는 대조구에서 검출되지 않았으나 thiamine-HCl과 PVP 하에서는 농도에 관계없이 1.11~2.83mg/g 범위의 비교적 높은 함량이 검출되었다. 하지만, EGC는 thiamine-HCl이나 PVP를 첨가한 배지에서 모두 대조구보다 그 함량이 낮았다. 반면에 ECG와 EGCG는 thiamine-HCl이나 PVP를 첨가함으로써 대부분 그 함량이 높았다. 특히, ECG는 40-50mg/L의 thiamine-HCl에서 1.25-1.39mg/g으로 그 함량이 높았다. EGCG는 30~50mg/L의 thiamine-HCl에서 2.16~2.46mg/g으로 대조구보다 7.2~8.2배나 높게 검출되었다. 본 실험의 결과 thiamine-HCl은 Table 2에서 보는바와 같이 켈러스의 증식에 효과가 있을 뿐만 아니

Table 4. Effects of thiamine-HCl and PVP on the caffeine contents of calli cultured in the proliferation medium

	Concentration (mg/L)	Caffeine (mg/g)
Control	0	0.74
Thiamine-HCl	10	0.64
	20	0.99
	30	.07
	40	1.39
	50	1.15
PVP	100	1.19
	200	1.27
	300	1.32
	400	0.33
	500	0.35

\* Values are mean values of triplicate.

Table 5. Effects of thiamine-HCl and PVP on the catechin contents of calli cultured in the proliferation medium

	Concentration (mg/L)	Catechins (mg/g)				
		EC	ECG	EGC	EGCG	total catechins
Control	0	-	0.74	1.63	0.30	2.67
	10	1.48	0.74	1.23	1.13	4.58
Thiamine-HCl	20	2.15	0.66	1.21	1.67	5.69
	30	1.87	0.88	1.39	2.16	6.30
	40	2.83	1.25	1.29	2.46	7.83
	50	2.27	1.39	1.56	2.21	7.43
	100	1.91	0.74	1.23	1.23	5.11
PVP	200	2.77	0.44	0.63	1.28	5.12
	300	2.21	0.44	0.57	1.13	4.35
	400	1.11	0.88	0.91	1.49	4.39
	500	1.17	0.34	0.91	0.71	3.13

\* Values are mean values of triplicate.

- Not detected on the basis of HPLC.

라 차의 주요 생리활성물질로 작용하는 카테킨류의 생산에도 영향을 미침을 알 수 있다. 총 카테킨 함량은 대조구에서는 2.67mg/g으로 낮았으나 thiamine-HCl이나 PVP를 첨가한 배지에서 배양된 캘러스에서는 전반적으로 높게 검출되었다. 특히 40~50mg/L thiamine-HCl을 첨가한 배지에서 배양된 캘러스에서 7.43~7.83mg/g으로 대조구보다 2.8~2.9배나 높게 검출되었다. 그러나, Table 3에서 신초의 카테킨류 함량과 비교해 보았을 때, 총 카테킨류 함량은 40 mg/L thiamine-HCl에서 가장 높아 신초보다 1.6배나 높게 검출되었다. 그리고, thiamine-HCl이나 PVP를 첨가한 배지에서 배양된 캘러스에서는 EGC와 EGCG 함량이 신초보다 낮았으며, EC와 ECG 함량은 신초에서 보다 높은 함량을 나타내었다. 즉, 신초에서는 검출되지 않았던 EC가 thiamine-HCl 또는 PVP를 첨가한 배지에서 배양된 캘러스에서는 모든 처리에서 검출되었으며, ECG는 50 mg/L thiamine-HCl이 첨가된 배지에서 배양된 캘러스가 신초에서 보다 4.8배나 높은 함량을 나타내었다. 따라

서 thiamine-HCl과 PVP는 EC와 ECG 합성에 관여하는 것으로 보이며, 첨가된 농도에 따라서 이들 함량을 조절할 수 있을 것으로 보인다. 또한 본 연구의 결과는 차나무 잎의 주요 생리활성물질인 카테킨류 생산에 캘러스의 기내배양이 보다 유용하게 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 thiamine-HCl과 PVP를 첨가한 캘러스증식배지에서 배양된 캘러스에서는 총 카테킨 함량이 높았으며 신초에서 검출되지 않는 EC가 비교적 높은 농도로 검출되었다. 더욱이 이들 캘러스는 신초에서 보다 카페인 함량이 낮았다. 따라서 조직배양을 통해 카페인 함량은 낮추면서 차의 주요 생리활성물질로 작용하는 카테킨류의 생산을 증대시킬 수 있을 것으로 보인다. 그리고 Table 2에서 20-30 mg/L의 thiamine-HCl에서 캘러스 성장량이 높은 것을 고려하였을 때 카테킨류의 효율적 생산을 위해서는 30 mg/L thiamine-HCl이 포함된 배지에서 배양하는 것이 바람직할 것으로 보이며, 본 연구 결과는 고효율의 카테킨의 생산성

을 향상시키기 위한 기초자료로 응용될 수 있을 것으로 보인다.

## 적요

차나무 카테킨류의 생산성을 높이기 위하여 차나무 잎의 캘러스 배양시 thiamine-HCl과 PVP의 효과를 조사하였다. 캘러스의 생장은 20 mg/L thiamine-HCl이 포함된 캘러스증식배지 (0.2 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L TDZ가 첨가된 MS 배지)에서 가장 왕성하여 대조구에 비해 1.7배의 생장을 보였다. 배양된 캘러스의 카페인 함량은 신초에 비해 10%이하로 낮아졌고 총 카테킨류 함량은 40 mg/L thiamine-HCl에서 가장 높아 신초의 1.6배까지 증가하였다. 특히 신초에서는 검출되지 않았던 (-)-epicatechin(EC)이 thiamine-HCl 또는 PVP를 처리하여 배양하였을 경우 모든 처리에서 검출되었으며, (-)-epicatechingallate(ECG)는 신초에서 보다 4.8배나 높은 함량을 나타내었다. 캘러스 생장과 고효율의 카테킨 생산을 고려했을 때 30 mg/L thiamine-HCl이 포함된 배지가 최적의 배양조건으로 판단된다.

## 사사

본 연구는 제주도가 지원한 제주생물자원 공동연구개발사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

Chakravarthy, B.K., S. Gupta and K.D. Gode. 1982. Functional beta cell regeneration in the islets of pancreas in alloxan induced diabetic rats by (-)-epicatechin. *Life Sci.* 31(24) : 2693-2697.  
Choi, S.O., J.D. Chung and J.H. Lee. 1996. Effect of

차나무 잎의 캘러스 배양을 통한 카테킨류의 생산성 개선

culture media on rhizome formation and its subsequent growth from shoot-tip culture of temperate *Cymbidium* species. *Kor. J. Plant Tiss. Cult.* 23(3) : 167-172.  
Fujiki, H., M. Suganuma, S. Okabe N. Sueoka, A. Komori, E. Sueoka, T. Kozu, Y. Tada, K. Suga, K. Imai and K. Nakachi. 1998. Cancer inhibition by green tea. *Mutat. Res.* 402(1-2) : 307-310  
Graham, H.N. 1992. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* 21 : 334-350.  
Hasegawa, P.M. 1979. In vitro propagation of rose (*Rosa hybrida* L.). *Hort. Sci.* 14 : 610-612.  
Hasegawa, P.M. 1980. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 105 : 216-220.  
Huang, Y., A. Zhang, C.W. Lau and Z.Y. Chen. 1998. Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery. *Life Sci.* 63(4) : 275-283.  
Ikigai, H., T. Nakae, Y. Hara and T. Shimamura. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim. Biophys. Acta* 1147(1) : 132-136.  
Kunugi, A., T. Aoki and S. Kunugi. 1988. Determination caffeine in coffee, black tea and green tea-by high performance liquid chromatography. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 29 : 136-140.  
Linsmaier, E.M. and F. Skoog. 1967. Thiamine requirement in relation to cytoplasm in normal and mutant strains of tobacco callus. *Planta* 72 : 146-184.  
Lotito S.B. and C.G. Fraga. 1998. (+)-Catechin prevents human plasma oxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 24(3) : 435-441.  
Sakurai, M., Y. Ozeki and T. Mori. 1997. Induction of antocyanin accumulation in rose suspension cultured cells by conditioned medium of strawberry suspension cultures. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 50 : 211-214.

- Suzuki, H., A. Ishigaki and Y. Hara. 1998. Long-term effect of a trace amount of tea catechins with perilla oil on the plasma lipids in mice. *Int. J. Vitam. Nutr. Rec.* 68(4) : 272-274.
- Tonychou, M.D. 1992. Wake up and smell the coffee-caffeine, coffee and the medical consequences, *West. J. Med.* 157 : 544-553.
- Tyagi, A.K., A. Rashid and S.C. Maheshwari. 1981. Promotive effect of polyvinylpolypyrrolidone on pollen embryogenesis in *Datura innoxia*. *Plant*

*Physiol.* 53 : 405-406.

김봉수, 양원모, 최정. 2002. 산지별 시판녹차의 카페인, 유리아미노산, 비타민C 및 카테킨 함량 비교. *한국차학회지* 8(1) : 55-62.

오순자, 한태완, 허인옥. 1996. 차나무 callus의 catechin류 함량 분석. *기초과학연구* 9(2) : 79-89.

(접수일 2005. 1. 15)

(수락일 2005. 4. 20)