

## HPLC에 의한 증제와 볶음 녹차 중의 유리 아미노산과 유리당의 정량

고 영 수 · 이 인 숙  
한양대학교 식품영양학과  
(1985년 6월 17일 접수)

### Quantitative Analysis of Free Amino Acids and Free Sugars in Steamed and Roasted Green Tea by HPLC

Young-Su Ko and In-Sook Lee

Department of Food and Nutrition, Han Yang University  
(Received June 17, 1985)

#### ABSTRACT

Changes of free amino acids and free sugars in steamed and roasted green tea were determined after heat treatment at 110°C. Sixteen kinds of free amino acids and four kinds of free sugar were analyzed by HPLC. Free amino acids isolated were aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine and arginine. Free sugars were sucrose, glucose, fructose, and raffinose. After the heat treatment, free amino acids and free sugars were decreased considerably.

#### 序 論

녹차는 학명으로는 *Teaceae* 種의 *Camellia* 科에 속하는 것으로<sup>1)</sup> Fig. 1과 같은 가공과정에서 가열 조작에 의해 저장성의 증가와 더불어 맛과 향을 개선시키는 것으로 알려져 있다.<sup>2-5)</sup>

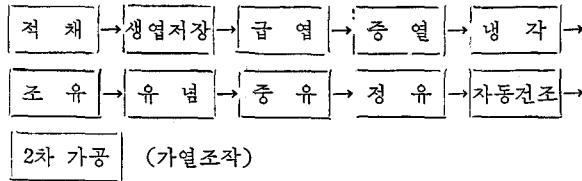
차엽의 일반적인 화학 성분으로는 수분이 75~80%이고 20~25%가 고형물, 즉, 탄닌, 카페인, 단백질, 아미노산, 아미드와 당, 전분, 섬유소, 펙틴 등의 탄수화물과 색소, 향기 성분인 정유, 비타민 및 무기질 등을 함유하고 있다.<sup>6)</sup> 그 중에서도 차의 단맛, 감칠맛 및 신맛을 나타내는 유리 아미노산은 2~3%, 유리당류가 5~6% 함유되어 있다고 보고되어 있다.<sup>6)</sup>

김상현 등<sup>7)</sup>의 보고에 의하면 차엽중의 단백질은 가공중 탄닌과 결합하거나 가열에 의한 응고로 차엽

을 울거낸 물에는 녹아 나오지 않지만 아미노산이나 아미드는 수용성이므로 울거낸 물에 용출되어 차맛에 크게 관여한다고 하였다.

Yammamoto 등<sup>8)</sup>은 녹차의 가공중 아미노산 변화 양상에 대한 연구에서 아미노산은 가열 단계에서 감소되는 것으로 보고하고 있다. 한편 Skobeleva<sup>9)</sup>는 paper chromatography와 spectrophotometry에 의한 분석에서 alanine, phenylalanine, valine, leucine과 isoleucine 등의 아미노산이 감소한 반면, aldehyde류와 acetic acid, phenylacetic acid, valeric acid 등 유기산의 증가를 나타냈다고 하였다. 또한 Torii와 Kenazawa<sup>9)</sup>는 녹차에서 glucose, fructose, sucrose와 2개의 oligosaccharides를 검출하였고, Kretovich와 Tokareva 등<sup>10)</sup>은 많은 식품이 향기성분을 생성할 때 환원당이 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 한편, Bokuchava<sup>11)</sup>는 높은 온도에서 아미노산과 탄닌이 환

1) 증제법



2) 가마볶음 제법

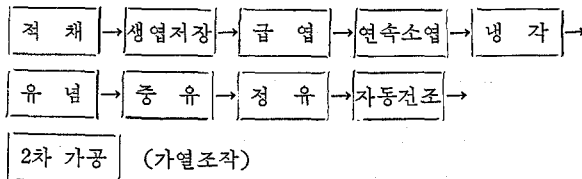


Fig. 1. Process of green tea manufacturing

원당과 상호 작용하므로써 aldehyde 류를 형성하는 것을 확인하였다. 이에 관한 연구는 많은 학자들<sup>10-13)</sup>에 의해서 이미 보고되어 있다. 이에 본 실험에서는 볶음과 증제법으로 1차 가공이 끝난 crude green tea 를 2차 가공단계인 가열 조작단계에서 열처리를 한 후 HPLC 에 의해 유리아미노산과 유리당을 정량하여 녹차의 맛성분을 분석하는데 목적이 있다.

材料 및 方法

1. 材 料

1) 유리 아미노산

1984년 5월 제주지방에서 재배된 야부기다種 1번 녹차엽을 채취하여 증제와 볶음에 의한 crude green tea 를 110°C 에서 30분 가열 처리한 후 20 mesh 로 분쇄하여 사용하였다.

2) 유리당

유리 아미노산과 같은 처리를 한 crude green tea 를 110°C 에서 10분, 20분, 및 30분 가열 처리한 후 20 mesh 로 분쇄하여 사용하였다.

2. 方 法

1) 유리 아미노산 分析<sup>12)</sup>

녹차 중의 유리 아미노산의 함량은 시험관에 시료 0.4 g 과 6 N HCl 3 ml 를 첨가하고 질소로 purging 한 후 screw cap 으로 막고 110°C autoclave 에서 24시간 가수분해한다. 45°C 에서 rotary vacuum evaporator 로 농축하고 다시 증류수 5 ml 를 넣어 이 조작을 두번 반복해서 남은 HCl 을 제거한다. 농축된 시료를 deionized water 25 ml 로 희석하여 0.45 μ

membrane filter 로 여과한 후 시료 10 μl 를 HPLC 에 주입하였다. 분석기기는 다음과 같다.

- 1) Chromatograph : Waters Liquid Chromatograph
- 2) Injector : Waters Model U6K
- 3) Detector : Waters Model 420AC
- 4) Sensitivity : 10<sup>3</sup>×2<sup>3</sup>
- 5) Column : Waters Amino Acid Column 3.9 mm×30 cm(Strong Cation Exchange-Styrene Divinyl Benzene Copolymer)
- 6) Solvent : Pump A : Waters Model 6000A  
Pump B : Waters Model M 45
- 7) Column temperature : 62°C
- 8) Mobile phase  
Buffer A : Sodium citrate pH 3.05  
Buffer B : Sodium nitrate pH 9.60
- 9) Chart speed : 0.25 cm/min

2) 유리당의 分析<sup>12)</sup>

시료 3 g 에 더운 물 50 ml 를 가하여 수조에서 약 15 분간 추출한 후 여과하였다. 이 여과액을 양이온 교환수지(Amberite IR-120 B) 75 ml, 음이온 교환수지(Amberite IRA-68) 75 ml 로 각각 충전된 column (2 cm×40 cm)에 1 ml/min의 유속으로 통과시켜 유기산, 아미노산 등을 제거하고 column 内の 잔존물질을 methanol 로 씻어내어 최종 유출액의 총량이 약 300 ml 되게 받았다. 여액을 evaporator 로 10 ml 가 되게 농축하여, 이 시료액 10 μl 를 HPLC 에 주입하였다. Fructose, glucose, sucrose, raffinose 의 각 표준용액의 농도는 5, 10, 15 mg/ml 되게 하여 각 peak 의 면적을 계산하여 당류별 표준곡선을 작성하였다. 다음 시료액중 각 당류가 나타내는 peak 의 면

적을 계산하여 표준곡선에서 이에 상응하는 값을 구하였다. 구해진 값을 C라 하면,

유리당의 함량(mg/g) =  $C \times 10 \times \frac{1}{3}$ 이다. 이 때 사용된 장치 및 측정조건은 다음과 같다.

Chromatograph : Waters Associates Model 206 C  
Solvent Delivery System and  
Model U 6 K Injector.  
Detector : Waters Associates R-401  
Refractive Index Detector  
Column : 300×4(id) mm  $\mu$ -Bondapak/  
carbohydrate  
Mobile phase : 80% acetonitrile(HPLC grade)  
Flow rate : 1.0 ml/min

結果 및 考察

1. 유리 아미노산의 변화

녹차의 유리아미노산과 유리당을 분석한 결과 유리아미노산의 함량은 Table 1과 같으며 증제차의 경우가 볶음차 보다 높았다. 이것은 휘발성 물질인 furans, pyrroles, pyrazine 이 녹차의 열가공중 유리 아미노산과 당류로부터 생성되어 녹차의 향기에 영향을 미치는 것으로 추측된다. 보고된<sup>13)</sup> 바와 같이 증제에 의한 녹차가 볶음차보다 향기 성분이 강함을

Table 1. Amino acid analysis of steamed roasted green tea with heat treatment for 30 min at 110°C.

Peak No.	Amino acids	Contents of amino acid (%)	
		Steaming	Roasting
1.	Aspartic acid	1.07	0.76
2.	Threonine	10.92	10.62
3.	Serine	1.00	0.79
4.	Glutamic acid	5.93	5.15
5.	Proline	1.26	0.72
6.	Glycine	1.40	0.97
7.	Alanine	1.44	0.99
8.	Cystine	none	none
9.	Valine	1.41	0.96
10.	Methionine	0.24	—
11.	Isoleucine	1.07	0.72
12.	Leucine	1.98	1.31
13.	Tyrosine	0.59	0.22
14.	Phenylalanine	1.04	0.67
15.	Histidine	0.99	0.38
16.	Lysine	1.92	1.27
17.	Arginine	1.82	1.18
Total(%)		34.08	26.68

알 수 있었으며, 또한 가공차를 끓일 때 alanine을 넣으면 aldehyde 함량이 증가한다는 Roberts 등<sup>14)</sup>의 보고와도 일치하였다. 녹차의 맛을 내는데 탄닌과 더불어 중요한 역할을 하고 있는 유리아미노산은 본 실험 결과 16종이 검출되었다. 이 때의 각 아미노산은 표준 chromatogram에 의해 구하였으며, 아미노산의 종류와 함량은 증제와 볶음차에 있어서 모두 Fig. 2와 Fig. 3에서 보는 바와 같이 threonine과 aspartic acid, glutamic acid, lysine 등의 함량이 많았다. 이것은 녹차가 영양적인 면에 있어서 가치가 있다는 것을 나타내고 있다.<sup>15)</sup>

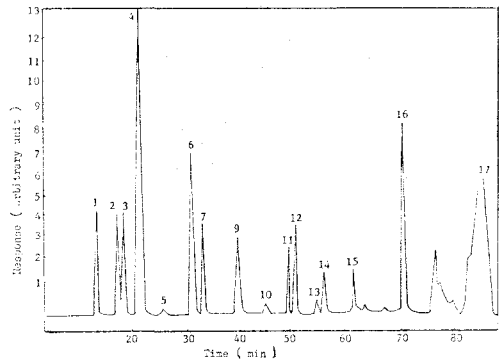


Fig. 2. HPLC chromatogram of amino acids in steamed green tea with heat treatment for 30 min at 110°C.

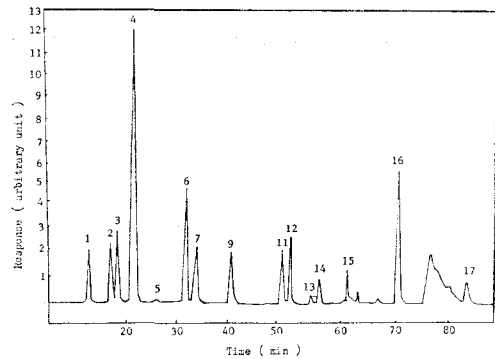


Fig. 3. HPLC chromatogram of amino acids in roasted green tea with heat treatment for 30 min at 110°C.

2. 유리당의 변화

HPLC로 녹차의 유리당을 분석한 결과 fructose, glucose, sucrose 및 raffinose가 확인되었으며 Table 2에서 보여주는 각 유리당의 함량은 증제와 볶음차

Table 2. Change in the contents of sugars in steamed and roasted green tea after heat treatment according to time. (mg/g sample)

Components	Crude Green Tea		10 min		20 min		30 min	
	Steaming	Roasting	Steaming	Roasting	Steaming	Roasting	Steaming	Roasting
Sucrose	14.6	14.4	12.5(14)	11.9(17)	7.0(52)	6.2(57)	4.8(67)	4.8(66)
Fructose	4.4	4.8	3.7(16)	3.8(21)	3.0(32)	3.0(25)	2.9(34)	2.7(44)
Glucose	5.7	5.5	4.0(30)	4.1(26)	3.8(33)	3.8(31)	3.2(44)	3.2(42)
Raffinose	10.2	10.6	9.4 (8)	9.2(13)	6.0(41)	6.4(40)	3.8(63)	3.6(66)

\*Numbers in parentheses indicate percentages of loss.

공법에 의한 영향이 크지 않았다. 그러나 가열 시간이 경과함에 따라 각 유리당의 함량은 상당한 감소를 나타냈으며, 각 유리당의 함량은 Table 2와 같았다. 이와 같은 감소현상은 녹차의 열가공중 당과 아미노산의 반응으로부터 생성된 aldehyde 같은 향기 성분에 기인하는 것으로 생각된다.<sup>11)</sup>

녹차중 당에 대해 연구한 Torii 등<sup>12)</sup>은 glycoside 성(性) glucose, rhamnose, galactose, 그리고 arabinose를 발견했다고 보고하고 있다.

### 要 約

녹차의 맛을 내는데 주요 성분인 유리아미노산과 유리당을 HPLC로 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 16종의 유리아미노산이 검출되었다. 즉, aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine이 그것이었다.

2. 증제차가 볶음차보다 유리아미노산의 함량이 많았고, 녹차중에는 특히 threonine과 aspartic acid, lysine의 함량이 많았다.

3. Fructose, glucose, sucrose, raffinose 등 4종의 유리당이 검출되었다.

4. 유리당은 가열시간 증가에 따라 각 성분의 함량이 현저히 감소하였다.

### 文 獻

1. Bokuchava, M. A. and Skobeleva, N. I.: *Ber. Akad. Wiss. USSR*, **112** (896), 215(1957)

2. Fujimaki, M. T. and Kruta, T.: *化學と生物*, 115(1971)

3. 阿南豊正·天野心權·中川致之: *日本食品工業學會誌*, **28**, 2 (198)

4. Yammanishi, T.: In *Tea, Coffee, Cocoa and Other Beverages, Flavor Research Recent Advances*, Marcel Dekker Inc., New York, 223 (1971)

5. 原利男久·保田悦郎: *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **58**, 25 (1984)

6. 김상현·김봉호: *茶藝叢書*, **3**, 96(1984)

7. Yamamoto R., Hayashi, I. and Takeo, K.: *Shig. Kenritsu, Tankidaigaku, Gakujutsu, Hokoku, Ser.*, **1**(6), 30, from *Chem. Abstr.* **51**, 10789 (1954)

8. Roberts, E. and Williams, D.: *J. Sci. Food. Agr.*, 217(1958)

9. Torii, H. and Kanazawa, J.: *J. Agr. Chem. Soc. Japan.*, **28**, 34(1954)

10. Kretovich, W. L. and Tokareva, R. R.: *Biokhimiya*, **13**, 508 (1948)

11. Bokuchava, M. A., Soboleva, G. A. and Knyazeva, A. M.: *Biokhimiya*, **23**, 266 (1957)

12. Anan, J. H., Takayanagi, K.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **12**(28), 632 (1981)

13. Bokuchava, M. A. and Popov, V. R.: *Dokl. Akad. Nauk, USSR*, 145(1954)

14. Roberts, E. and Wood, D.: *Biochem. J.*, **49**, 414(1951)

15. 유춘희·정재기·정태영·나상무: *한국영양학회지*, **6**(3), 17(1973)