

혐기처리 녹차의 처리조건에 따른 γ -Aminobutyric Acid(GABA) 및 주요 성분의 변화

장지신 · 이병순 · 김영걸

(주)태평양화학 기술연구소

Changes in γ -Aminobutyric Acid(GABA) and the Main Constituents by a Treatment
Conditions and of Anaerobically Treated Green Tea Leaves

Ji-Shin Chang, Byong-Soon Lee, Young-Gui Kim

R & D Center, Pacific Chemical Co. Ltd., Suwon

Abstract

Korean green tea leaves which were harvested three times(May, June, August) were treated with anaerobic conditions and were measured changes of γ -aminobutyric acid(GABA) and other constituents. In anaerobically treated green tea leaves, the content of γ -aminobutyric acid(GABA) and alanine increased while glutamic acid decreased. Whereas theanine, arginine, caffeine and tannin showed little change and the content of vitamine C slightly decreased with the passing of the anaerobic treatment time. Formation of GABA, a hypotensive constituents, was proportioned to the content of glutamic acid and the optimum time of the anaerobic treatment was about 12 hours. In the anaerobic treatment of green tea leaves, effect of nitrogen gas and vacuum condition was no difference between two.

Key words: green tea, anaerobic treated tea, γ -aminobutyric acid(GABA), hypotensive constituents

서 론

녹차는 기원전 2,700년경부터 기호차로서 음용^[1]되어 왔을 뿐만 아니라 최근에는 녹차에 함유된 여러 성분들의 약리적인 메커니즘이 점차 밝혀짐에 따라 그 가치가 재인식되고 있으며, 특히 녹차에 있어서 주요성분의 하나인 폴리페놀류(EC, EgC, ECg, EgCg)의 항종양^[2-4], 항산화^[5-7], 항균^[8-10], 중금속 해독^[11,12]작용 등에 대해 발표되면서 크게 주목되고 있다. 한편 일본 東北 大學의 Mekuro 등은 녹차의 폴리페놀류(Catechins)가 혈압강하작용에 유효한 성분임을 밝혀냈다. 또한 Tsushida 등^[13]은 녹차 생엽의 전처리 과정에서 생엽을 혐기적으로 처리함으로써, 우수한 혈압강하작용이 있는 것으로 알려져 있는 γ -aminobutyric acid가 축적되는 것을 발견하였다. γ -aminobutyric acid(이하 GABA라 칭한다.)는 비단백질 구성아미노산으로서 사람에 있어서는 신경세, 혈액에 함유되어 있고 이의 대부분은 뇌의 풀수에 존재하여 Acetyl choline이라 불리우는 신경전달 물질을 증가시키고, 뇌기능을 촉진시키는 등의 생리작용을 하며, 특히 주목되는 것으로 GABA가 연골의 혈관 충축에 작

용하여 우수한 혈압강하작용을 하는 것으로 알려져 다^[14-16]. GABA의 혈압강하작용에 대해서는 Stanton 이 개, 토끼, 돼지 등에 투여하여 그 효과를 확인하였으며 또한 Omori 등^[17]은 GABA를 다양 함유한 녹차에 우수한 혈압강하 효과가 있음을 보고하였다.

따라서 본 연구는 녹차의 채엽 시기별(1, 2, 3번차)도 녹차의 생엽을 진공처리 및 질소가스 치환처리 등의 혐기적 처리후, 혐기처리 시간의 경과에 따른 GABA의 함량변화/주요 아미노산 변화 및 폴리페놀, 카페인, 비타민 C 등의 함량변화를 조사하여 혐기처리 녹차 제조에 있어서의 최적조건을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

녹차용 재료는 제주도 다원의 차 생엽을 1번차(5월 초순), 2번차(6월 중순), 3번차(8월 초순)에 각각 채엽하여, 사용하였다.

협기처리 녹차의 제조

적체 직후의 차 생엽을 20 kg들이 알루미늄 은박 봉투에 약 10 kg씩 넣어 질소가스 치환 및 진공상태로 하여 각각 6, 9, 12, 15, 18, 24시간씩 실온에 정지한 후, 혐

Table 1. Changes in the amino acids' contents in No. 1 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Amino acids (mg%)	Vacuum						Nitrogen						Control 12 hr
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Theanine	682.7	687.5	693.4	692.5	696.9	685.3	689.5	691.4	697.5	686.7	692.4	697.3	702.3
Arg	235.4	229.6	236.3	235.7	236.5	226.4	224.6	219.4	228.9	225.7	218.4	226.7	232.1
Glu	54.7	43.2	39.6	38.5	39.4	36.7	57.5	49.6	42.2	40.7	41.3	33.4	188.5
Ala	85.7	96.3	107.6	106.4	105.2	102.3	82.5	98.3	109.8	108.7	109.3	105.5	17.9
GABA	173.5	198.3	217.0	220.3	218.2	216.4	172.3	199.4	210.2	215.4	213.7	209.4	57.2

Table 2. Changes in the amino acids' contents in No. 2 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Amino acids (mg%)	Vacuum						Nitrogen						Control 12 hr
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Theanine	405.6	411.4	403.0	403.3	392.5	419.2	392.4	395.3	388.8	394.3	344.1	397.1	411.2
Arg	33.6	39.6	46.4	41.5	41.4	43.2	32.8	35.4	39.7	47.7	44.8	31.6	39.6
Glu	42.1	33.4	6.6	5.3	4.7	5.9	45.4	28.5	11.3	2.9	7.8	4.7	170.4
Ala	87.7	98.5	106.0	104.7	105.2	102.8	87.4	85.5	86.3	69.2	70.7	88.2	10.3
GABA	127.8	160.2	177.9	176.4	179.3	180.9	133.4	156.7	180.9	177.4	174.6	176.1	29.0

Table 3. Changes in the amino acids' contents in No. 3 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Amino acids (mg%)	Vacuum						Nitrogen						Control 12 hr
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Theanine	301.3	300.6	310.7	306.2	305.3	308.4	307.3	299.6	303.5	298.7	305.7	309.3	311.0
Arg	28.2	26.4	30.2	33.4	37.3	36.7	29.2	33.5	28.6	31.4	30.9	30.9	32.3
Glu	25.2	12.6	11.4	11.9	11.7	10.4	21.2	11.5	9.7	9.9	10.2	8.4	92.3
Ala	54.2	61.3	68.0	66.9	67.2	66.3	49.8	63.4	69.3	67.6	68.3	69.3	6.6
GABA	69.3	82.3	85.6	83.3	80.5	82.7	71.4	80.5	84.6	86.2	83.9	84.2	8.9

기처리하지 않은 차엽과 더불어, 일반 찐차 제조공정과 동일한 방법인 찐, 1차건조, 유념, 2차건조, 성형 및 건조, 최종 건조의 공정을 거쳐, 혼기처리 녹차를 제조하였다.

C의 함량은 A.O.A.C 법⁽²¹⁾을 이용하여 정량하였다.

결과 및 고찰

녹차 생엽의 채엽시기(1번차, 2번차, 3번차)에 따라 진공처리 및 질소가스 치환 처리의 혼기적 조건으로 하여 혼기처리 시간의 경과에 따라 차를 제조한 후 HPLC를 이용하여 GABA 함량의 변화 및 주요 아미노산의 함량 변화를 혼기처리하지 않은 일반 녹차엽과 비교 측정한 결과는 Table 1, 2, 3과 같다. 녹차를 혼기적 조건으로 처리함에 따라 혼기처리하지 않은 녹차엽에 비하여 1, 2, 3번차 모두 GABA와 alanine의 함량은 4~10배까지 현저하게 증가한 반면 glutamic acid는 현저하게 감소하였다.

이와 같이 혼기적 조건하에서의 GABA 및 alanine의 측정에 대하여는 Steeter 등⁽²²⁾이 무우의 잎을 이용한 실험에서 glutamic acid의 함량이 감소함에 따라 GABA 및 alanine의 함량이 현저하게 증가하는 것을 확인하여 보고하였으며 차엽에 대하여는 Murai 등^(13,23)이 차엽을 혼기적 조건으로 처리하였을 때도 Steeter 등⁽²²⁾과 같은 결과가 나타나는 것을 확인하여 보고하였다. 이러한 메카니즘에 대하여 Tsushida 등⁽²⁴⁾은 차엽을 혼기적 조건

화학성분의 분석

아미노산의 함량⁽¹⁸⁾은 각 시간별로 질소가스 치환 및 진공상태로 혼기적 처리를 한 차엽과 혼기처리하지 않은 차엽 1g을 마쇄하여, 정평한 후, 약 10배량의 물을 가하여 비등 수욕상에서 단백질을 응고시킨 후, 여과하여, 수증을 채취하였다. 잔사는 2~3회 소량의 물로 세정하여, 세정액을 앞의 수증에 합한 후, 수증을 감압하에서 전조하고, 이를 0.02 N-HCl 용액 용해하여 분석용 시료로 하였으며, HPLC(High performance liquid chromatography, Hitachi, Japan)를 사용하여 아미노산을 정량하였다. 이때, 사용한 column은 아미노산 분석 column (#2619F, Hitachi, Japan)이며, O-Phthalic aldehyde (OPA)법을 이용하여 분석하였다.

폴리페놀의 함량은 비색정량법⁽¹⁹⁾을 이용하였으며, 카페인의 함량⁽²⁰⁾은 Gas Chromatograph(GC-9A, Shimadzu, Japan)로 분석하였다. 이때 사용한 column은 SE-30 glass column이고, 검출기로는 FID detector를 사용하였으며, carrier gas로서 N₂ gas를 사용하였다. 비타민

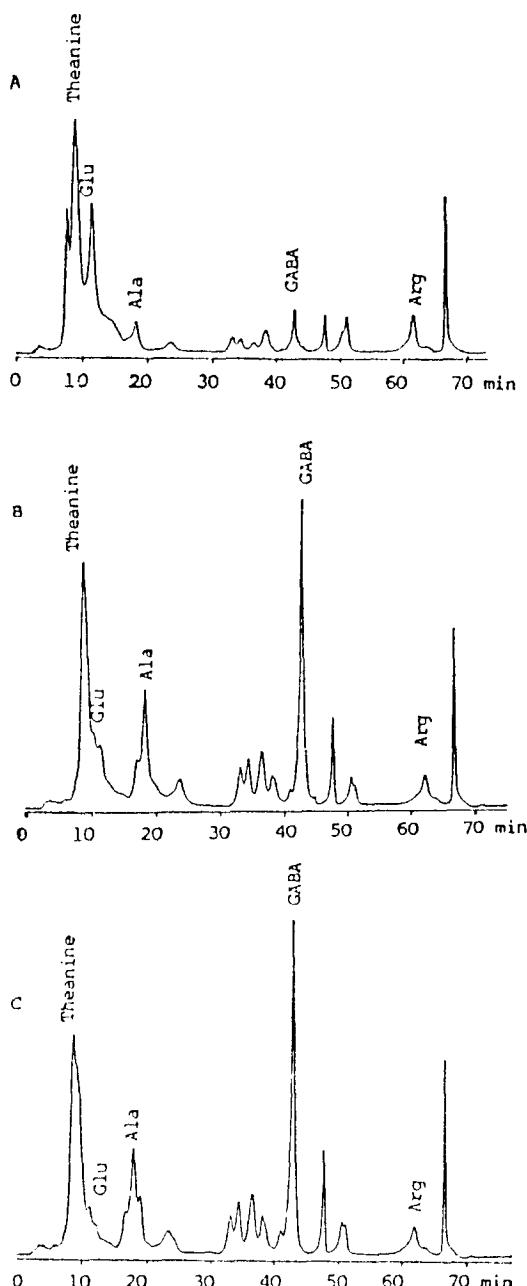


Fig. 1. HPLC Chromatograms of Amino acids of Preparations Prepared from Green Tea Leaves

Sample: A. Untreated Tea(Control), B. Treated by Nitrogen Gas, C. Treated by Vacuum

으로 처리함으로써 차엽 속의 glutamic acid가 glutamate decarboxylase에 의해 탈탄산되어 GABA와 alanine을 생성하는 것으로 추정하였으며, 따라서 본 실험의 결과는 상기 연구자들의 실험 결과와 일치하고 있다.

한편 녹차종 가장 풍부한 아미노산인 theanine은 argi-

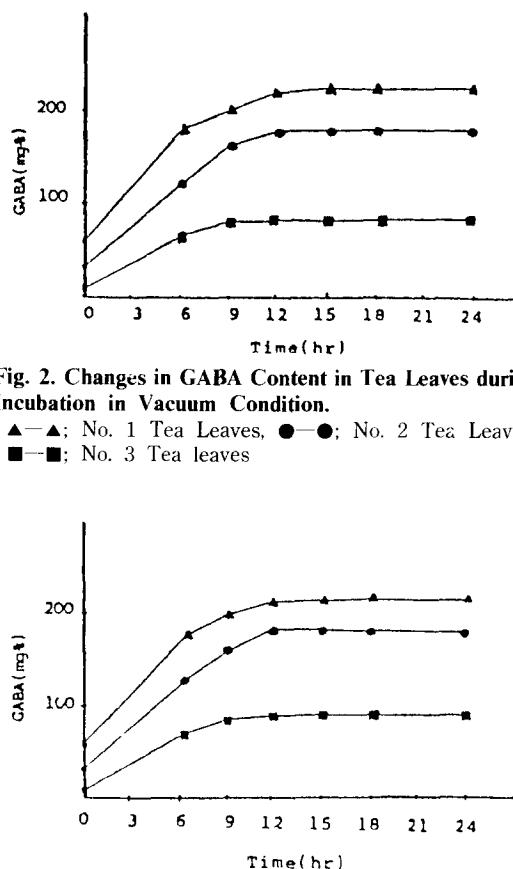


Fig. 2. Changes in GABA Content in Tea Leaves during Incubation in Vacuum Condition.

▲—▲; No. 1 Tea Leaves, ●—●; No. 2 Tea Leaves,
■—■; No. 3 Tea leaves

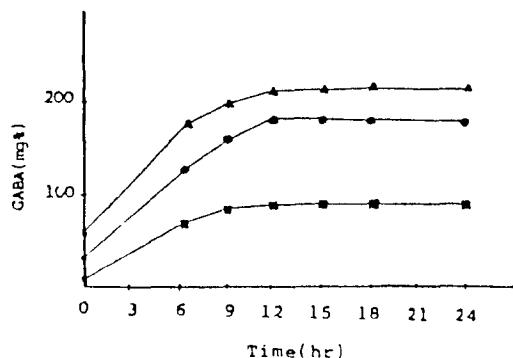


Fig. 3. Changes in GABA Content in Tea Leaves during Incubation in Nitrogen Gas

▲—▲; No. 1 Tea Leaves, ●—●; No. 2 Tea Leaves,
■—■; No. 3 Tea leaves

nine과 더불어 혼기처리 조건에 관계없이 함량의 변화를 거의 보이지 않았다. 지금까지의 보고에 의하면, 차생엽의 최적의 혼기적 처리조건으로서, 질소가스를 이용하는 것으로 보고되어 있으나⁽²⁵⁾, 본 실험의 결과, 혼기적 처리조건에 있어서 질소가스 치환처리와 진공처리 사이의 효과에 있어서의 차이는 보이지 않았다. 이러한 결과로 볼 때, 차엽 중의 GABA를 최대로 생성시키기 위하여 가장 유의해야 할 점은 혼기처리 기간 동안에 최적의 혼기적 상태를 유지해야 할 것으로 사료된다. Fig. 1은 처리조건에 따른 12시간 처리 차엽의 아미노산의 HPLC Chromatogram이다.

혼기처리 시간에 따른 변화를 살펴보면 혼기처리 후 6시간까지는 1, 2, 3번차 모두 GABA와 alanine의 함량이 급격히 증가하였으며, 12시간까지는 와만하게 증가되었고 12시간 이후에는 거의 변화를 보이지 않았다.

혼기적 처리에 따른 적체 시기별 GABA의 함량을 비교하면, 1번차>2번차>3번차의 순서로 GABA가 많이 생성되었음을 볼 수 있다. 이와 같은 결과는 아미노산의

Table 4. Changes in the contents of polyphenol, caffeine and vit.C in No. 1 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Constituent	Vacuum						Nitrogen						Control
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Polyphenol(%)	10.3	9.9	9.6	9.9	9.7	9.8	10.1	9.8	9.6	9.7	9.6	9.8	10.8
Caffein(%)	2.1	2.3	2.3	2.1	2.2	2.3	2.2	2.1	2.3	2.3	2.2	2.3	2.1
Vit.C (mg%)	567.3	564.2	554.3	535.3	510.5	497.5	563.2	560.3	538.9	533.2	515.3	510.2	587.9

Table 5. Changes in the contents of polyphenol, caffeine and vit.C in No. 2 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Constituent	Vacuum						Nitrogen						Control
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Polyphenol(%)	13.2	12.7	14.2	13.1	12.3	12.9	13.3	13.1	13.2	12.7	12.3	13.0	13.5
Caffein(%)	2.0	2.1	2.3	2.0	2.0	2.1	2.1	2.1	1.9	2.1	2.0	2.1	2.0
Vit.C (mg%)	267.6	252.1	248.3	245.3	240.3	235.7	262.1	255.4	253.6	248.7	242.1	233.2	263.6

Table 6. Changes in the contents of polyphenol, caffeine and vit.C in No. 3 tea leaves during incubation in anaerobic conditions

Constituent	Vacuum						Nitrogen						Control
	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	6 hr	9 hr	12 hr	15 hr	18 hr	24 hr	
Polyphenol(%)	14.8	15.6	15.1	15.6	15.3	15.0	14.8	15.3	14.7	15.5	14.9	14.8	14.8
Caffein(%)	1.7	2.0	2.0	2.1	1.7	1.7	2.1	2.0	1.7	2.1	1.8	2.0	1.7
Vit.C (mg%)	321.3	310.3	263.7	254.0	240.2	231.3	313.3	305.7	267.4	253.4	242.3	226.0	324.5

함량, 특히 glutamic acid의 함량 차이에서 비롯된 것으로 사료된다. 즉 Table 1, 2, 3에 보인 바와 같이 혼기처리하지 않은 염의 glutamic acid의 함량이 1번차(188.5 mg %), 2번차(170.4 mg%), 3번차(92.3 mg%)로서 GABA의 생성량은 차엽중의 glutamic acid의 함량과 비례하고 있다.

이상과 같은 결과를 종합하여 적재 시기별 혼기처리 조건 및 처리시간에 따른 GABA 함량의 변화를 Fig. 2, 3에 나타냈다. 즉 차엽의 혼기적 조건하에서의 GABA의 생성량은 차엽의 적재시기가 빠를수록 증가하며 질소가스 치환 및 진공처리에 관계없이 최적 혼기처리 시간은 약 12시간 정도이다.

혼기처리 조건 및 처리시간에 따른 폴리페놀, 카페인, 비타민 C의 함량의 변화를 Table 4, 5, 6에 나타냈다. Table에서 본 바와 같이 폴리페놀과 카페인의 함량은 각 실험구에 있어서, 거의 변화가 없으나, 비타민 C의 함량은 혼기처리 시간의 경과에 따라 3~40 mg%씩 감소하였다.

Omori 등⁽²⁶⁾은 혼기처리 녹차를 고혈압 자연발생쥐(SHR)에 20주간 투여한 결과, 내조군에 비해 14~17 %의 혈압강하 효과가 있었음을 보고하였다. 따라서 차엽을 혼기적으로 처리함으로써 차엽중에 다양으로 함유되어 있는 glutamic acid로부터 우수한 혈압강하작용을 하는 것으로 알려진 GABA가 다양으로 생성되며, 이와

같은 GABA의 생리작용을 이용한 혼기처리 녹차의 개발은 현대인들의 건강 지향적인 욕구에 부응할 수 있는 차로서의 기능을 할 것으로 사료된다.

요 약

제주도 다원에서 생산된 녹차 생엽을 적재 시기별(1번차, 2번차, 3번차)로 혼기적으로 처리하여, γ -aminobutyric acid(GABA) 및 기타 주요성분의 함량변화를 측정한 결과 차엽의 질소가스 치환처리 및 진공처리 모두 GABA와 alanine의 함량은 현저하게 증가한 반면에 glutamic acid는 현저하게 감소하였다. 또한 theanine, arginine, caffeine 및 polyphenol의 함량은 거의 변화가 없었으며, vit.C의 함량은 혼기처리 시간의 경과에 따라 조금씩 감소하는 것으로 나타났다. 혈압강하작용 성분인 GABA의 생성량은 원엽의 아미노산의 함량, 특히 glutamic acid의 함량에 비례하였으며, 최적 혼기처리 시간은 약 12시간으로 나타났다. 한편, 차엽의 혼기적 처리조건에 있어서 질소가스 치환 처리와 진공처리 사이의 효과에 있어서의 차이는 거의 없었다.

문 현

2. 原 征彦, 松崎敏, 中村耕三: 茶カテキンの抗腫瘍作用, 日本營養・食糧學會誌, **42**, 39(1989)
3. Itaro Oguni, Keiko Nasu, Shigehiro Yamamoto, Takeo Nomura: On the Antitumor Activity of Fresh Green Tea Leaf, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1879(1988)
4. 심점순, 강명희, 김용화, 이인수, 노정구: 녹차의 항 변이원성(항 발암성) 연구, 한국독성학회, 한국 환경성 돌연변이·발암원 학회 국제심포지움 및 추계학술대회 (1990)
5. 梶本五郎: 茶葉中の抗酸化成分および抗菌性成分について(第3報), 日本食品工業學會誌, **10**, 365(1963)
6. 松崎妙子, 原 征彦: 茶葉カテキン類の抗酸化作用について, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **59**, 129(1985)
7. Mayumi Fukuyo, Taeko Matsuzaki, Yukihiko Hara: Antioxidative Activity of Tea Leaf Catechins, *Proceeding of International Tea-Quality-Human Health Symposium* (1987)
8. 川村 淳, 竹尾 忠一: Streptococcus mutansに對する茶葉カテキンの抗菌作用について, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **36**, 463(1989)
9. 原 征彦, 渡邊眞由美: 茶ポリフェノール類のボツリヌス菌に對する抗菌作用, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-shi*, **36**, 951(1989)
10. 戸田真佐子, 大久保辛枝, 生貝 初, 島村忠勝: 茶カテキン類およびその構造類似物質の抗菌作用ならびに抗毒素作用, 日本細菌學雑誌, **45**, 561(1990)
11. 木村 優, 山下 博美, 駒田 順子: 緑茶を吸着剤として用いる水中の各種重金属類の捕集除去法, *Bunseki Kagaku*, **35**, 400(1986)
12. 木村 優, 長井彌生: 緑茶の粒子表面での水銀(II)イオンの吸着, *Bunseki Kagaku*, **36**, 666(1987)
13. 津志田 藤二郎, 村井敏信, 大森 正司, 岡本 順子: γ -アミノ酪酸を蓄積させた茶の製造とその特徴, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **61**, 817(1987)
14. K. Ballanyi and P. Grawe: An Intracellular Analysis of γ -Aminobutyric Acid-Associated ion movements in Rat Sympathetic Neurons, *J. Physiol.*, **365**, 41(1985)
15. 栗山欣彌: 脳内 γ -アミノ酪酸(GABA)受容體の構造と機能, 蛋白質核酸酵素, **35**, 1455(1996)
16. 奥田拓男編: 天然藥物事典, 廣川書店, p.18(1986)
17. Masashi Omori, Toshiko Yano, Junko Okamoto, Tojiro Tsushida, Toshinobu Murai, Mitsuru Higuchi: Effect of Anaerobic Treated Tea(Gabaron Tea) on the Blood Pressure of Spontaneously Hypertensive Rats, *Proceeding of Inter. Tea-Quality-Human Health Symposium* (1987)
18. 日本藥學會: 衛生試驗法・注解, 金原出版株式會社, p. 281(1990)
19. 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正: 茶の分析法-綠茶のタンニンの比色定量法, 茶業研究報告, **71**, 52(1990)
20. Stranl, N.R., H. Lewis, R. Fargen: Comparison of Gas Chromatographic and Spectro-photometric Methods of Determination for Caffein and Teas, *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 233(1977)
21. A.O.A.C.: *Official Methods of Analysis*, 14th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C., p.844(1984)
22. J.G. Steeter, J.F. Tompson: In vivo and in vitro studies on γ -aminobutyric acid metabolism with the radish plant (*Raphanus sativus L.*), *Plant Physiol.*, **49**, 579(1972)
23. Toshinobu Murai, Tojiro Tsushida: Conversion of Glutamic acid to γ -aminobutyric acid in tea leaves under anaerobic conditions, *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2865(1987)
24. 津志田 藤二郎: 茶生葉におけるアミノ酸代謝の解明とその利用による新製品(ギャバロン茶)の開発, 茶業研究報告, **72**, 43(1980)
25. 菊田勝弘, 中田典男, 向井俊博, 福島裕和, 山口 良, 仲田智史: 嫌氣處理綠茶(ギャバロン茶)の製法改善, 茶業研究報告, **68**, 8(1988)
26. 大森正司, 矢野とし子, 岡本順子, 津志田 藤二郎, 村井敏信, 桶口 滿: 嫌氣處理綠茶(ギャバロン茶)による高血壓自然發病ラットの血壓上昇抑制作用, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **61**, 1449(1987)

(1991년 12월 9일 접수)