

## 녹차 추출물의 아질산염 분해작용

여생규\* · 엽동민\*\* · 이동호 · 안철우\* · 김선봉† · 박영호

부산수산대학교 식품공학과

\*부산전문대학 식품가공과

\*\*양산전문대학 식품영양과

## The Nitrite-Scavenging Effects by Component of Green Tea Extracts

Saeng-Gyu Yeo\*, Dong-Min Yeum\*\*, Dong-Ho Lee, Cheol-Woo Ahn\*  
Seon-Bong Kim† and Yeung-Ho Park

Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 606 - 737, Korea

\*Dept. of Food Processing, Pusan Junior College, Pusan 616 - 737, Korea

\*\*Dept. of Food and Nutrition, Yangsan Junior College, Yangsan 628 - 800, Korea

### Abstract

This paper was investigated to elucidate the nitrite-scavenging action as one of biological actions of green tea extracts. Green tea extracts exhibited remarkable nitrite-scavenging action. Among the green tea extracts, steamed green tea showed higher nitrite-scavenging action than roasted green tea. Nitrite-scavenging actions of green tea extracts were hardly influenced until three times extraction with hot water. Furthermore, the nitrite-scavenging action of green tea extracts showed pH dependent, highest at pH 1.2 and lowest at pH 6.0. The nitrite-scavenging rate in sample extracts/amine/nitrite systems exhibited faster than that in amine/nitrite systems. In order to screen the nitrite-scavenging factors, sample extracts were fractionated with methanol. In both samples, methanol-soluble fractions possessed greater nitrite-scavenging action than methanol-insoluble fractions. The nitrite-scavenging action of methanol-soluble fractions increased with proportion to absorbance at 420nm and at 280nm, while that of green tea extracts increased with the contents of total phenols and absorbance at 280nm.

**Key words :** nitrite, green tea, pH, methanol, dimethylamine, phenol

### 서 론

식육 및 수산제품의 가공시에 첨가되는 아질산염은 육 자체의 환원력과 첨가된 ascorbate 등의 환원제에 의해 일산화질소(NO)로 전환되어 육색소인 myoglobin과 작용함으로써 nitrosyl-hemochrome을 생성하여 발색을 좋게하며<sup>1)</sup>, 제품의 풍미도 향상<sup>2)</sup>시키고, 식품 중에서 식중독을 일으키고 치사율이 높은 *Clostridium botulinum*의 성장 및 독소 생성을 억제할 뿐만 아니라 산패를 억제함으로써 저장 중 산패취 발생을 감소시키는 것<sup>3-6)</sup>으로 알려져 식품의 가공 및 저장 중에 널리 사용되고 있다.

한편 이 아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 함유되어 있는 2급 및 3급 아민류와 반응하여 발암성 니트로사민을 생성하는 것으로 보고되고 있다<sup>7,8)</sup>. 그러나 이러한 아질산염에 의한 니트로사민 생성 기구에 대해서는 아직 완전히 규명되지 않고 있는 실정이다. 현재까지 니트로사민 생성억제에 관한 연구 보고를 보면, 식품성분간의 상호반응으로 생성된 melanoidin에 의한 니트로사민 생성억제 효과<sup>9)</sup>, 간장에 있어서 아미노산에 의한 아질산염 분해작용 효과<sup>10)</sup>, 또한 phenol, guaiacol 및 resorcinol 등에 의한 니트로소화 반응의 억제 효과<sup>11)</sup>, 그리고 플라보노이드 화합물<sup>12)</sup>, 결명자<sup>13)</sup> 등에 의해서도 아질산염이 분해되어 니트로소화 반응을 억제한다고 보고되고 있다.

† To whom all correspondence should be addressed

발암성 니트로사민의 생성인자의 하나인 아질산염을 효과적으로 분해시키는 것이 발암성 니트로사민 생성의 억제와 관련된다고 볼 수 있으므로, 본 연구에서는 일상생활에서 음용하고 있는 시판 녹차를 사용하여 그 성분 중에 존재하는 아질산염 분해인자를 검색하기 위하여 이들 추출물들의 아질산염 분해작용에 대하여 실험 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 시료

본 실험에 사용한 시료는 시판되는 녹차 (*Camellia sinensis* L.) 중 제조방법이 서로 다른 증제차와 덩음차를 구입하여 시료로 사용하였다.

### 수용성획분, 메탄올 가용성 및 침전획분의 조제

녹차 추출물의 수용성획분, 메탄올 가용성 및 침전획분의 조제방법은 Fig. 1에 나타내었다. 즉, 수용성획분은 증제차, 덩음차 모두 각각 20g을 취하여 증류수를 100°C에서 끓인 후, 약 70~75°C로 식힌 증류수 200ml를 가하고 3분간 방치한 다음 여과한 것을 1차 추출물로 하였다. 잔사를 같은 방법으로 재 추출한 것을 각각 2차 추출물, 3차 추출물로 하고, 얻어진 추출액은 진

공 증발 농축기로 농축시킨 후 진공 동결 건조기로 건조시켜 수용성획분으로 하였다. 메탄올 가용성 및 침전획분은 녹차 1, 2 및 3차 추출물을 각각 2g씩 취해, 75% 메탄올 200ml를 가하여 12시간 추출하여 원심분리(1,000rpm, 20분)하여 상층액을 취하고 잔사에 다시 200ml의 메탄올을 가하여 같은 방법으로 추출한 것을 농축하여 메탄올 가용성획분으로 하였으며, 남은 잔사를 건조(50°C, 12hr)한 것을 메탄올 침전획분으로 하였다.

### 아질산염 분해작용의 측정

녹차 추출물 각 획분의 아질산염 분해작용은 김 등<sup>14)</sup>의 방법에 준하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 1mM NaNO<sub>2</sub>용액 1ml에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1N HCl(pH 1.2)과 0.1M 구연산 완충용액(pH 3.0, 4.2 및 pH 6.0)을 사용하여 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정 한 후, 반응용액의 부피를 10ml로 하였다. 그리고 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1ml씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5ml를 첨가한 다음, Griess시약 0.5ml를 가하여 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후, 분광광도계를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 백분율(%)로써 나타내었다. 공시험은 Griess시약 대신 증류수

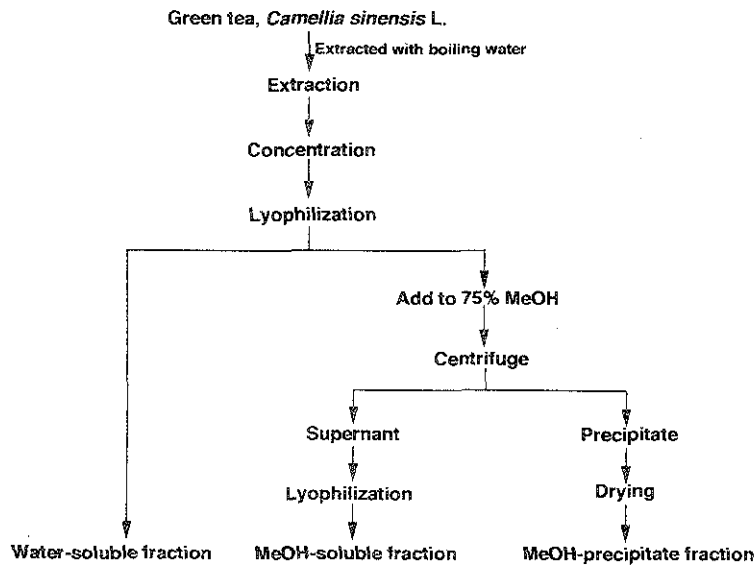


Fig. 1. Schematic procedure for the preparation of instant green tea extracts fraction.

0.4ml를 가하여 상기와 같은 방법으로 행하였다.

$$S(\%) = (1 - \frac{A - C}{B}) \times 100$$

S : 아질산염 분해율

A : 1mM NaNO<sub>2</sub>용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B : 1mM NaNO<sub>2</sub>용액의 흡광도

C : 시료 추출물의 흡광도

**갈변도 측정 및 방향족 화합물 함량 측정**

조제한 시료 모두 0.1%의 농도가 되도록 증류수에 녹여 분광광도계를 사용하여 420nm에서 갈변도를 측정하였으며, 또한 방향족 화합물의 함량을 알아보기 위하여 280nm에서의 흡광도를 측정하였다.

**총 페놀 정량**

녹차 추출물의 총 페놀 함량은 Choi<sup>15)</sup>의 방법을 개량하여 다음과 같이 정량하였다. 조제한 각 획분에 증류수를 가하여 1% 용액이 되게하여, 시험관에 0.5ml를 취해 여기에 증류수 2.5ml 가한 다음, Folin-Denis시약 (sodium tungstate 11.2g, phosphomolybdic acid 2g, metaphosphoric acid 12.85g을 75°C, 12시간 건조시키고, 증류수 75ml를 가하여 2시간 환류냉각시킨 다음, 냉각시켜 100ml로정용) 2ml을 넣고 다시 포화 sodium carbonate 5ml를 가해 1시간 방치한 후, 660nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량곡선에 의하여 총 페놀 함량을 구하였다.

**Table 1. Yield of each fraction obtained from green tea extracts**

Sample	Yield, %		
	Water-soluble	MeOH-soluble	MeOH-precipitate
Steamed	22.3 (11.2/7.8/3.3)	49.2	25.1
Roasted	20.6 ( 8.4/7.5/4.7)	47.4	24.1

Numbers in parenthesis indicate yield of water-soluble fraction obtained from green tea according to extraction frequencies

**Table 2. Nitrite-scavenging effects of each fraction obtained from green tea extracts under different pH conditions**

Fraction	Nitrite-scavenging ratio, %			
	1.2	3.0	4.2	6.0
Water-soluble	49.3 (42.0)	26.4 (26.8)	4.6 (3.0)	1.7 (2.7)
MeOH-soluble	99.8 (95.0)	68.5 (57.8)	12.0 (7.8)	5.3 (3.1)
MeOH-precipitate	24.0 (31.2)	10.0 (15.2)	3.2 (6.3)	5.4 (8.2)

Numbers in parenthesis indicate values of roasted green tea

**결과 및 고찰**

녹차 추출물의 수용성획분, 메탄올 가용성 및 침전획분 수율

증제차와 덩음차 추출물의 각 획분별 수율은 Table 1과 같다. 즉 증제차 및 덩음차의 수용성획분 수율은 각각 22.3%, 20.6%로서 제품 종류에 따른 큰 차이는 없었으며, 추출횟수에 따른 감소를 보면 2차 추출에서는 1차 추출 때의 7.8%, 3차 추출에서는 2차 추출 때의 3.3%였다. 또한 메탄올 가용성획분의 양은 침전획분의 양의 약 2배 정도였다.

**pH에 따른 아질산염 분해작용**

녹차 추출물의 pH에 따른 아질산염 분해작용은 Table 2와 같다. 위내의 pH와 유사한 pH 1.2에서 각 획분 모두 아질산염 분해작용이 높았으며, pH가 증가할수록 아질산염 분해작용은 감소하는 경향을 나타내었는데, 이는 Fox와 Ackerman<sup>16)</sup>이 환원성 물질을 아질산염과 산성조건에서 반응시킬 때의 반응속도는 아질산염 농도에 대해서는 1차, 환원성 물질에서는 0.5차, 수소는 온 농도에 의해서는 1.5차에 각각 비례하여 진행된다는 것과 일치함을 알 수 있었다. 또한 각 pH 영역에서 모두 증제차가 덩음차 보다 아질산염 분해작용이 우수하며, 수용성획분 중 증제차의 경우 pH 1.2에서 90%, 메탄올 가용성획분에서는 거의 100%에 가까운 아질산염 분해작용을 나타내었다. 또한 각 pH 영역에서 메탄올 침전획분 보다 메탄올 가용성획분에서 아질산염 분해작용이 높게 나타났다. 그리고 pH의존성이 커서 pH 3.0과 4.2에서는 각 시료 모두 아질산염 분해작용이 큰 차이를 나타내었다.

**침출횟수 및 농도에 따른 아질산염 분해작용**

녹차 추출물의 침출횟수 및 농도에 따른 아질산염 분해작용 (Table 3, Fig. 2)은 먼저 녹차 추출물의 침출횟수에 따른 아질산염 분해작용을 측정해 본 결과, 녹차 추출물의 침출액간의 아질산염 분해작용은 서로 뚜

러한 유의차는 없었으나 증제차가 덩음차 보다 아질산염 분해작용이 우수한 것으로 나타났다. 또한 녹차 추출물의 농도가 증가할수록 아질산염 분해작용도 증가하는 경향을 나타내었다.

디메틸아민 공존하에서의 녹차 추출물의 아질산염 분해작용

Fig. 3의 결과와 같이 녹차 추출물과 아질산염과의 반응에서 반응시간이 경과함에 따라 아질산염 분해작용은 증가하는 경향을 나타내었으나, 녹차 추출물, 아질산염 및 디메틸아민과의 반응에서는 디메틸아민을 첨가하지 않은 것에 비해 약간 낮은 분해작용을 나타내었다. 여기서도 역시 증제차의 경우가 좋은 아질산염 분해작용을 나타내었다. 그리고 아질산염과 디메틸아민과의 반응에서는 시료를 첨가한 경우 보다 아질산염 분해작용이 떨어지는 것으로 나타났는데, 이는 아질산염과 아민과의 반응으로 인한 니트로사민의 생성 속도 보다 시료 성분에 의한 아질산염의 분해속도가 빠

르다는 것을 추정할 수 있다.

갈변도, 방향족 화합물 및 총 페놀 함량

녹차 추출물의 갈변도는 수용성 획분, 메탄올 가용성 및 침전획분으로 각각 나누어 420nm에서 흡광도로써 나타내었다(Table 4). 전 시료 모두 메탄올 침전획분에서 갈변도가 높게 나타났다. 이는 메탄올 침전획분 조제시 다소 높은 온도(50°C)에서 장시간(12hr) 건조 하므로써 갈변물질이 생성된 것으로 여겨진다.

방향족 화합물의 양은 방향족 화합물의 최대 흡수파장인 280nm에서의 흡광도로 나타내었다(Table 5). 각 획분의 농도를 0.1%로 하였을 때, 수용성획분과 메탄올 가용성획분에서는 전 시료 모두 높은 흡광도를 나타내었으나, 메탄올 침전획분에서는 이에 비해 낮았다. 전 시료 중에서 증제차의 메탄올 가용성획분에서 흡광도가 10.90으로 가장 높게 나타났다. 특히 각 획분 모두 280nm에서의 흡광도가 높은 경우는 아질산염 분해작용이 강한 것으로 나타났다. 이에 대해서는 Fager-

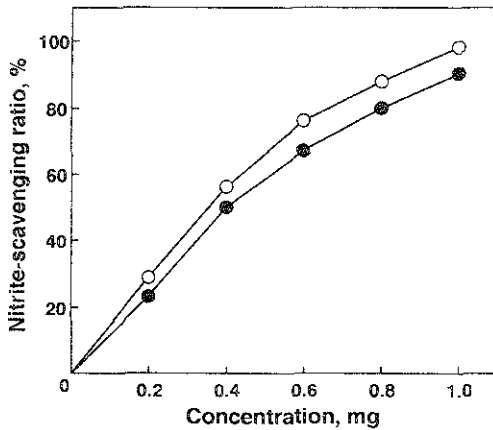


Fig. 2. Effect of dose-response on nitrite-scavenging effects of green tea extracts at pH 1.2.

○ ; Steamed green tea  
● ; Roasted green tea

Table 3. Effect of dose-response on nitrite-scavenging effects of green tea extracts at pH 1.2

Concentration (mg)	Nitrite-scavenging ratio, %					
	Steamed			Roasted		
	1st.	2nd.	3rd.	1st.	2nd.	3rd.
0.5	56.5	43.0	48.5	33.5	39.8	52.7
1.5	92.8	83.2	90.6	65.9	75.9	76.0
2.0	98.0	98.7	99.5	95.0	97.8	96.3
5.0	99.7	99.7	99.5	99.7	99.7	99.7
10.0	100.0	99.2	99.2	99.7	99.5	99.5

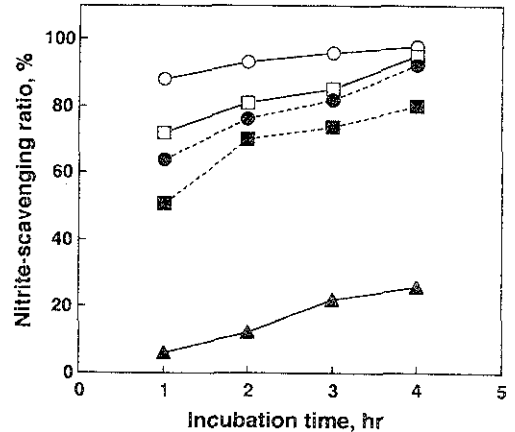


Fig. 3. Nitrite-scavenging effects of green tea extracts with and without dimethylamine at pH 1.2.

▲ ; NaNO<sub>2</sub> + dimethylamine (DMA)  
○ ; Steamed green tea + NaNO<sub>2</sub>  
□ ; Steamed green tea + NaNO<sub>2</sub> + DMA  
● ; Roasted green tea + NaNO<sub>2</sub>  
■ ; Roasted green tea + NaNO<sub>2</sub> + DMA

Table 4. Brown intensities of water-soluble, MeOH-soluble and MeOH-precipitate fraction obtained from green tea extracts

Fraction	Absorbance at 420nm	
	Steamed	Roasted
Water-soluble	0.33	0.21
MeOH-soluble	0.17	0.19
MeOH-precipitate	0.56	0.55

**Table 5. The UV absorbance of water-soluble, MeOH-soluble and MeOH-precipitate fraction obtained from green tea extracts**

Fraction	Absorbance at 420nm	
	Steamed	Roasted
Water-soluble	8.67	9.16
MeOH-soluble	10.90	10.20
MeOH-precipitate	4.77	6.11

**Table 6. Total phenol contents of water-soluble, MeOH-soluble and MeOH-precipitate fraction obtained from green tea extracts**

Fraction	Absorbance at 420nm	
	Steamed	Roasted
Water-soluble	0.53	0.79
MeOH-soluble	3.88	2.63
MeOH-precipitate	0.34	0.21

son<sup>17)</sup>은 당이 열분해를 받으면 휘발성 및 비휘발성 성분이 생성되며, 이 가운데에는 상당량의 방향족 화합물이 존재하는 것으로 보고하고 있어, 본 실험에 사용된 시료인 시판 녹차의 경우 증재 및 볶음 과정에서 이러한 성분들이 많이 생성된 것으로 추정된다.

총 페놀 함량은 Table 6과 같이 모두 메탄올 가용성획분에서 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타났으며, 그리고 전반적으로 총 페놀 함량이 높은 획분에서 아질산염 분해작용이 높은 것으로 나타났다. 이는 이 등<sup>2)</sup>의 보고에서와 같이 아질산염의 분해인자는 주로 페놀성 화합물인 것으로 추정되고, 야채 추출물에서의 아질산염 분해작용은 이들의 환원력에 의한다는 보고<sup>18)</sup> 등을 고려해 볼 때, 페놀성 화합물과 여러가지 환원성 물질들에 의한 상승효과도 아질산염 분해작용에 크게 관여하는 것으로 생각된다.

요 약

기호음료로서 음용되고 있고, 또 인체에 대한 여러가지 약리적 기능이 보고되어 관심이 모아지고 있는 녹차를 시료로 하여 아질산염 분해작용에 대하여 실험 검토하였다. 녹차 추출물의 수용성획분, 메탄올 가용성 및 침전획분 모두 아질산염 분해작용을 나타내었으며, 특히 메탄올 가용성획분에서 아질산염 분해작용이 큰 것으로 나타났다. 그리고 1, 2 및 3차에 걸쳐 추출하였을 때, 아질산염 분해작용은 뚜렷한 유의적인 차이를 찾아볼 수 없었다. 또한 증재차가 덩어리보다 아질산염 분해작용이 강하였다. 반응액의 pH 변화에 따른 아질산

염 분해작용은 pH 의존성이 컸으며, 특히 pH 1.2에서 높은 분해작용을 나타내었다. 각 시료 모두 농도가 증가할수록, 또 반응시간이 길어질수록 아질산염 분해작용이 높았다. 아질산염 분해속도는 아질산염과 아민과의 반응속도 보다 빠른 것으로 나타났으며, 아질산염 분해인자를 검색한 결과, 페놀성 화합물인 것으로 각각 추정되었다.

문 헌

1. Fox, J. B. : The chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 207 (1966)
2. Macdougall, D. B., Mottran, D. S. and Rhodes, D. N. : Contribution of nitrite and nitrate to the colour and flavor of cured meats. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1743 (1975)
3. Duncan, C. L. and Foster, E. M. : Effect of sodium chloride and sodium nitrate on germination and out growth of anaerobic spores. *Appl. Microbiol.*, **16**, 406 (1968a)
4. Jhonston, M. A., Pivnick, H. and Samson, J. M. : Inhibition of *Clostridium botulinum* by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *Can. Inst. Food Technol. J.*, **2**, 52 (1969)
5. William, L. : Nitrosamines as environmental carcinogens. *Nature*, **225**, 21 (1970)
6. Roberts, T. A. : The microbiological role of nitrite and nitrate. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1735 (1975)
7. Crosby, N. T. and Sawyer, R. : N-nitrosamines : A review of chemical and biological properties and their estimation in food stuffs. In "Advances in food research" Chrichster, C. O. (ed.), Academic Press, New York, Vol.21, p.1 (1976)
8. Fiddier, W., Pensabene, J. W., Piotrowski, E. G., Doerr, R. C. and Wasserman, A. E. : Use of sodium ascorbate or erythroate to inhibit formation of N-nitrosodimethylamine in frankfurters. *J. Food Sci.*, **38**, 1084 (1973)
9. Kato, H., Lee, I. E., Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F. : Inhibitory of nitrosamine of formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 1333 (1987)
10. 長堀隆, 茂田井, 奥原章 : 醤油中のN-ニトロソアミン生成抑制物質. 營養と食糧, **33**, 151 (1980)
11. Cooney, R. V. and Ross, P. D. : N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution : Effects of vanillin and related phenols. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 789 (1987)
12. Lee, J. H. and Choi, J. S. : Influence of some flavonoids on N-nitrosoproline formation *in vitro* and *in vivo*. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 266 (1993)
13. 도정룡, 김선봉, 박영호, 박영범, 최재수, 김동수 : 결명자의 아질산염 소거작용. 한국식품과학회지, **25**, S26 (1993)
14. 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 박영호 : 천연식품성분에 의한 발암성 니트로사민 생성인자 분해작용 : 야채추출물의 아질산염 분해작용. 한국수

- 산학회지, **20**, 463 (1987)
15. Choi, H. M. : A study on the phenolic content of potatoes. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **8**, 80 (1976)
  16. Fox, J. B. and Ackerman, S. A. : Formation of nitric oxide myoglobin : Mechanisms of the reaction with various reductants. *J. Food Sci.*, **33**, 364 (1968)
  17. Fagerson, I. S. : Thermal degradation of carbohydrates. *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 747 (1969)
- (1994년 1월 24일 접수)