

오롱차 및 홍차 추출물의 아질산염 분해작용

안철우 · 여생규†

부산전문대학 식품가공과

The Nitrite-Scavenging Effects by Component of Oolong and Black Tea Extracts

Cheol-Woo Ahn and Saeng-Gyu Yeo†

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

Abstract

The present study was conducted to elucidate the functional property of tea extract obtained from tea extracts, semi-fermented tea(oolong tea) and fermented tea(black tea). Tea extracts exhibited remarkable nitrite-scavenging actions, and the action increased with the increased of the amount of tea extracts. The nitrite-scavenging actions were hardly influenced until they were extracted three times with hot water. Furthermore, the nitrite-scavenging action of tea extracts showed pH dependent, highest at pH 1.2 and lowest at pH 6.0. The nitrite-scavenging rate in tea extracts/amine/nitrite systems proved to be faster than that in amine/nitrite systems. To screen the nitrite-scavenging factors, tea extracts were fractionated into water-soluble, methanol-soluble, methanol-precipitate and crude catechin fraction. Among these fractions of tea extracts, the crude catechin fraction possessed greater nitrite-scavenging action than the other fractions. The nitrite-scavenging action of tea extracts increased with the contents of total phenols and an absorbance at 280nm, nitrite-scavenging factors were supposed to be and catechins in tea polyphenol compounds.

서 론

식품에 첨가되는 식품첨가물과 식품성분간의 반응으로 생성되는 유전독성물질은 식품의 안전성을 위협하는 것으로 알려지고 있는데, 그 중 수산제품의 가공시에 첨가되는 아질산염은 유육의 발색을 좋게하고¹⁾, 풍미의 향상²⁾ 뿐만 아니라 식품 중에서 식중독을 일으키고 치사율이 높은 *Clostridium botulinum*의 성장 및 독소 생성을 억제하는 효과^{3,4)}

가 있는 것으로 알려져 식품의 가공, 저장 및 조리 중에 널리 사용되고 있다. 한편, 이 아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 함유되어 있는 2급 및 3급 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하며^{5,6)}, 일부는 인체 내에서 diazoalkane($\text{RCH}_2\text{-N}\equiv\text{N}^+$)의 상태에서 단백질, 핵산 또는 세포내 성분 등에 alkyl화를 일으켜 암을 유발한다고 알려져 있다. 이와같이 니트로사민은 식품성분간의 상호반응으로 생성될 수도 있으며, 니트로소화 반응이 인체 위내

† Corresponding author

의 pH와 유사한 조건에서 반응 최적 조건을 나타내고 있어 식품안전성 측면에서 중요한 문제로 되고 있다. 지금까지 니트로사민 생성억제에 관한 보고를 보면, melanoidin⁷⁾, 플라보노이드 화합물⁸⁾, 야채와 해조추출물⁹⁾, 결명자¹⁰⁾ 및 녹차추출물¹¹⁾ 등에 의해서도 아질산염이 분해되어 니트로소화 반응을 억제한다고 보고되고 있다.

아질산염은 발암성 니트로사민의 생성인자의 하나이므로, 이를 분해시키는 것이 니트로사민의 생성억제와 밀접한 관련이 있다고 하겠다. 따라서 시판되는 반발효차인 오룡차와 발효차인 홍차를 사용하여 발암성 니트로사민의 생성인자의 하나인 아질산염 분해작용과 이를 茶성분 중에 존재하는 분해인자의 검색을 시도하였다.

재료 및 방법

시료 및 각 획분의 조제

본 실험에 사용한 시료는 시판되는 반발효차인 오룡차와 발효차인 홍차를 구입하여 시료로 사용하였다. 오룡차 및 홍차 추출물의 수용성획분, 메탄올 가용성 및 침전획분의 조제방법은 다음과 같다. 즉, 수용성획분은 시료 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 진공 증발 농축기로 농축시킨 후 진공 동결 건조기로 건조시켜 수용성획분으로 하였다. 메탄올 가용성 및 침전획분은 1, 2 및 3차 추출물을 각각 2g 씩 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. 茶의 polyphenol화합물인 粗catechin획분은 原 등¹²⁾의 방법에 따라 조제하였다. 즉, 오룡차를 각각 120g, 그리고 홍차의 경우 150g을 취해 끓인 증류수 1,000ml를 가하여 3분 동안 침출시킨 후 여과지로 여과한 추출액을 분액 깔대기에 넣고 caffeine을 제거하기 위하여 동량의 CHCl₃을 가해 추출하여 CHCl₃을 제거한 물총을 얻었다. 여기서 얻은 물총에 동량의 ethyl acetate를 가하여 3회 반복 추출한 다음, ethyl acetate 총을 감압 농축하여 乾固시켜, 여기에 소량의 증류수를 가해 다

시 감압 농축시킨 것을 동결건조하여 粗 catechin 획분을 얻었다.

아질산염 분해작용의 측정

각 획분의 아질산염 분해작용은 여 등¹¹⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 1mM NaNO₂ 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 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정한 후, 반응용액의 부피를 10ml로 하였다. 그리고 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1ml 씩 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 0.4ml를 가하여 상기와 같은 방법으로 행하였다.

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

S : 아질산염 분해율

A : 1mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도

B : 1mM NaNO₂ 용액의 흡광도

C : 시료 추출물의 흡광도

방향족 화합물 및 총페놀 함량 측정

각 획분 별 추출물을 0.1%의 용액이 되도록 증류수에 녹여 분광광도계를 사용하여 280nm에서 흡광도를 측정하여 방향족 화합물의 함량을 측정하였으며, 총 페놀 함량의 분석은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색 반응을 나타내는 현상을 이용한 것으로 Folin-Denis법¹³⁾을 개량하여 정량 하였다. 즉 조제된 각 획분에 증류수를 가하여 1%의 용액이 되게하여, 이 시료용액을 시험관에 0.5ml를 취하고 여기에 증류수 2.5ml 가한 다음, Folin-Denis시약 2ml를 넣고 다시 포화 sodium carbonate 5ml를 가해 1시간 방치한 후, 분광광도계를 사용하여 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 분석은 茶추출물을 추출횟수에 따라 각각 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었고, 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용하여 미리 작성한 검량곡선에 의하여 총 페놀 함량을 구하였다.

Catechin 화합물의 정량

Catechin 화합물의 정량은 상기 방법에 의해 추출된粗 catechin을 일정량 씩 취해 ethyl acetate에 녹여 다음과 같이 행하였다. 표준용액은 고순도의 栗田社 제품인 (-)-EC, (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin gallate(ECg) 및 (-)-epigallocatechin gallate(EGCg) 10mg을 각각 ethyl acetate 1ml에 녹여 회석시켜 4 종류의 표준용액으로 조제하였으며, 이를 각 표준용액으로부터 5μl씩 취하여 HPLC(Water Associates HPLC system ; Column, μBondapak C18 : Detector, UV 280nm : Mobile phase, acetonitrile : acetic acid : methanol : H₂O=130 : 5 : 20 : 862)에 주입하여 얻은 크로마토그램의 농도와 면적비의 상관관계 검량선을 작성하여 이 검량선으로부터 catechin류의 함량을 구하였다.

결과 및 고찰

각 획분별 pH에 따른 영향

오룡차 및 홍차 추출물의 pH에 따른 아질산염 분해작용은 Table 1과 같다. 인체 위내의 pH와 유사한 조건인 pH 1.2에서 각 획분 모두 아질산염 분해작용이 높았으며, pH가 증가할수록 아질산염 분해작용은 감소하는 경향을 나타내었는데, 이는 Fox 등¹⁴⁾이 환원성 물질을 아질산염과 산성조건에서 반응시킬 때의 반응속도는 아질산염 농도에 대해서는 1차, 환원성 물질에서는 0.5차, 수소이온 농도에 대해서는 1.5차에 각각 비례하여 진행된다는 것과 일치함을 알 수 있었다. 오룡차 및 홍차의 pH 1.2에서 각 획분 간의 아질산염 분해작용은 수용성획분에서 53.9% 및 53.2%, 메탄올 가용성획분은 90.2% 및 87.6%으로 나타났으나,

메탄올 침전획분에서는 다른 획분과 달리 각 pH의 모든 영역에서 아질산염 분해작용이 아주 낮게 나타났으며, 아질산염의 분해정도도 아주 낮은 것으로 나타났다. 粗 catechin획분에서는 99.7% 및 99.4% 및 91.8%로 가장 높은 분해작용을 나타내었으며, 반발효차인 오룡차가 발효차인 홍차 보다 아질산염 분해작용이 더 우수하였으며, pH 조건의 변화에 따른 분해작용의 차이는 더 큰 것으로 나타났다. 따라서 오룡차 및 홍차 추출물의 아질산염 분해작용에는 茶 polyphenol 화합물인 catechin류가 크게 작용하고 있음을 알 수 있었다. 그리고 pH 의존성이 커서 pH 3.0과 4.2에서는 각 시료 모두 아질산염 분해작용이 큰 차이를 나타내었다.

추출횟수 및 농도에 따른 영향

시료 추출물의 농도에 따른 아질산염 분해작용(Fig. 1)은 茶 추출물의 농도가 증가할수록 아질산염 분해작용도 증가하는 경향을 나타내었고, 실제 음용하는 농도인 0.5~1.0 mg/ml에서는 약 53~90%의 높은 아질산염 분해작용을 나타내었다. 그리고 pH 1.2에서 추출횟수에 따른 아질산염 분해작용을 측정해 본 결과(Table 2), 茶 추출물의 추출횟수가 증가하더라도 아질산염 분해작용에는 뚜렷한 변화가 없었다.

디메틸아민의 영향

Fig. 2의 결과와 같이, pH 1.2의 조건에서 茶 추출물과 아질산염과의 반응에서 반응시간이 경과함에 따라 아질산염 분해작용은 증가하는 경향을 나타내었으나, 오룡차 추출물, 아질산염 및 디메틸아민과의 반응에서는 디메틸아민을 첨가하지 않은 것에 비해 약간 낮은 분해작용을 나타내었다.

Table 1. Nitrite-scavenging effects of each fraction obtained from oolong and black tea extracts under different pH conditions

Fraction	Nitrite-scavenging rate(%)			
	1.2	3.0	4.2	6.0
Water-soluble	53.9(53.2)	33.1(23.0)	1.7(0.5)	-
MeOH-soluble	90.2(87.6)	60.7(58.6)	8.1(5.4)	3.5(2.6)
MeOH-precipitate	6.4(8.3)	-	-	-
Crude catechin	99.4(91.8)	79.4(43.3)	13.4(4.5)	-

Numbers in parenthesis indicate values of black tea

Nitrite was incubated with tea extract(0.5mg/ml) at 37°C for 1hr

Table 2. Comparision of nitrite-scavenging rate(%) of water-soluble fraction by the extraction frequencies of tea

Kind of tea	Nitrite-scavenging rate(%)			
	1st. extract	2nd. extract	3rd. extract	AV*
Oolong tea	53.9	64.7	60.4	59.7
Black tea	53.2	58.1	65.4	58.9

Nitrite was incubated with tea extract(0.5mg/ml) at 37°C for 1hr under at pH 1.2

AV* : average value

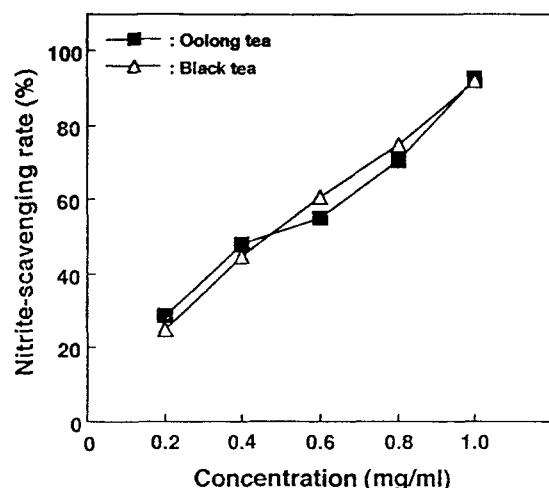


Fig. 1. Changes of nitrite-scavenging effect of water-soluble fraction obtained from tea extracts by its added concentration.

Nitrite was incubated with tea extract at 37°C for 1hr under at pH 1.2.

그리고 아질산염과 디메틸아민과의 반응에서는 시료를 첨가한 경우 보다 아질산염 분해작용이 떨어지는 것으로 나타났는데, 이는 아질산염과 아민과의 반응으로 인한 니트로사민의 생성속도 보다 시료 성분에 의한 아질산염의 분해속도가 빠르다는 것을 알 수 있다.

갈변도, 방향족 화합물 및 총 페놀 함량

각 획분에 있어서의 시료 추출물의 갈변도는 420nm에서 흡광도로 나타내었고, 또한 방향족 화합물의 양은 방향족 화합물의 최대흡수파장인 280nm에서의 흡광도로 각각 나타내었다(Table 3). 오룡차의 경우 粗 catechin 획분을 제외한 전 획분에서 갈변도가 비슷하게 나타났으나, 홍차의 경우에 있어서는 전반적으로 갈변도가 높게 나타났으며, 특

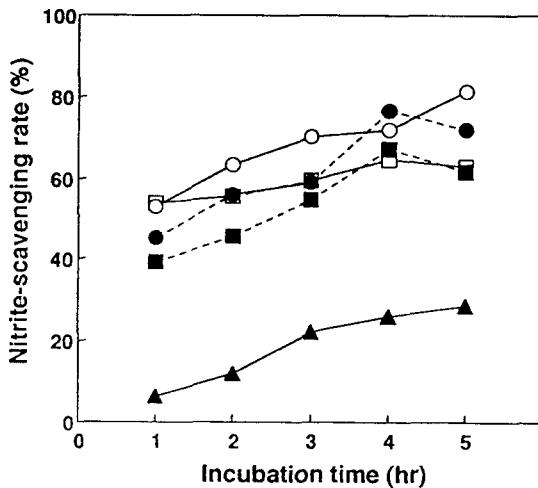


Fig. 2. Nitrite-scavenging effects of water-soluble fraction obtained from oolong and black tea extracts with and without dimethylamine at pH 1.2.

Nitrite was incubated with tea extract(0.5mg/ml) at 37°C.

- ▲- : Dimethylamine(DMA)
- : Oolong tea + NaNO₂
- : Oolong tea + NaNO₂ + DMA
- : Black tea + NaNO₂
- : Black tea + NaNO₂ + DMA

히 수용성 획분 및 粗 catechin 획분에서 가장 높은 갈변도를 나타내었다. 방향족 화합물의 함량은 전 시료 모두 粗 catechin 획분에서 가장 높은 흡광도를 나타내었으며, 이에 비해 메탄ول 침전 획분에서 가장 낮았다. 따라서 粗 catechin 획분에서 방향족 화합물이 가장 많이 함유되어 있는 것으로 나타났는데, 특히 주목할만한 사실은 각 획분 모두 280nm에서 흡광도가 높은 경우에는 예외없이 아질산염 분해작용이 높은 것으로 나타났다. 茶추출물의 총 페놀 함

Table 3. The absorbance at 280nm and browning intensities at 420nm of water-soluble, methanol-soluble, methanol-precipitate and crude catechin fractions obtained from tea extracts

Fraction	Absorbance at 420nm		Absorbance at 280nm	
	Oolong tea	Black tea	Oolong tea	Black tea
Water-soluble	0.27	0.53	8.76	10.01
MeOH-soluble	0.22	0.35	8.57	7.85
MeOH-precipitate	0.22	0.35	3.95	5.57
Crude catechin	0.15	0.53	17.76	16.54

Table 4. Total phenol contents of water-soluble, methanol-soluble, methanol-precipitate and crude catechin fractions obtained from tea extracts

Fraction	Total phenol(mg/100g)	
	Oolong tea	Black tea
Water-soluble	0.96	0.89
MeOH-soluble	0.98	0.68
MeOH-precipitate	0.23	0.40
Crude catechin	3.50	2.00

량은 Table 4와 같이, 모두 粗 catechin 획분에서 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타났으며, 반면 메탄올 침전 획분에서 가장 낮은 함량을 나타내었다. 茶 polyphenol 화합물인 粗 catechin 획분에서 아질산염 분해작용이 가장 뛰어난 오룡차 및 홍차의 경우 3.50mg/100g 및 2.00mg/100g 이었으며, 아질산염 분해작용이 가장 낮은 메탄올 침전 획분에서는 0.23mg/100g 및 0.40mg/100g으로 나타났다. 따라서 여기서도 페놀 함량이 많은 획분에서 예외없이 아질산염 분해작용도 높은 것으로 나타나, 아질산염 분해작용에는 茶 polyphenol 화합물인 catechin류가 크게 관여하는 것으로 생각된다.

茶추출물의 catechin 함량

茶추출물의 粗 catechin 획분에서 茶 polyphenol 화합물인 catechin류를 분석해 본 결과, 전 시료 모두 다음과 같은 4종류의 catechin류, 즉 (-)-EC, (-)-EGC, (-)-ECg 및 (-)-EGCg의 catechin 화합물이 각각 동정되었다(Fig. 3, Table 5). 이중 평균함량을 살펴보면, (-)-EC, (-)-EGC, (-)-ECg 및 (-)-EGCg가 69.4 μ g/mg, 110.0 μ g/mg, 127.1 μ g/mg 및 464.9 μ g/mg으로 (-)-EGCg가 가장 많이 검출되었으며, 홍차에서는 78.1 μ g/mg, 171.8 μ g/mg,

80.7 μ g/mg 및 51.4 μ g/mg으로 각각 나타났다. 이들 catechins 중 (-)-EGCg는 발효차인 홍차를 제외하고 가장 많이 검출되었다. 이는 寺田 등¹⁵⁾에 의하면 茶의 제조과정에서 catechin류는 발효에 의해 산화, 중합되어 theaflavin류가 생성된다고 보고하고 있으며, 또한 Hashimoto 등^{16,17)}은 오룡차 제조과정에서 부분적인 발효가 진행됨에 따라 茶잎에 함유하고 있는 phenol 화합물인 monomeric flavan-3-ol 유도체의 함량 및 성분이 홍차와는 아주 다른 차이를 나타낸다고 하였다. Nonaka 등¹⁸⁾은 완전 발효가 진행된 홍차에서는 기존에 알려진 theaflavin류 외에 3종류의 theaflavin과 관계되는 색소로 epiteaflagallin-3-o-gallate, theaflagallin 및 epiteaflagallin 등의 새로운 theaflavin류가 생성된다고 한다. 따라서 이상의 결과와 결부시켜 볼 때, 본 실험의 결과에서도 발효정도가 강한 茶인 홍차에서 (-)-EC, (-)-EGC 및 (-)-EGCg의 함량은 아주 낮게 나타났으나, 반면 (-)-ECg의 함량은 증가되는 경향을 나타내어, 이와 같은 사실을 추정할 수 있었다. 그리고 아질산염 분해작용과의 상관성을 살펴보면, 홍차 보다 아질산염 분해작용이 더 높은 오룡차에서 전체적으로 볼 때 catechin류의 함량이 높으며, 또한 gallate기를 함유한 catechin류의 함량이 더 높음을 알 수 있어, 아질산염 분해작용에는 茶 polyphenol 화합물인 catechin류 중 gallate기가 관여하는 것으로 추정되었다. 또한 특이할 만한 점은 茶의 추출횟수에 따른 catechin류의 함량 변화는 추출횟수가 증가하여도 그 함량에는 거의 변화가 없었다.

요약

기호음료로서 음용되고 있고, 또 기능성 식품으로 관심이 모아지고 있는 반발효차인 오룡차 및 발효차인 홍차를 시료로하여 아질산염 분해작용에 대하여 실험 검토하였다. 오

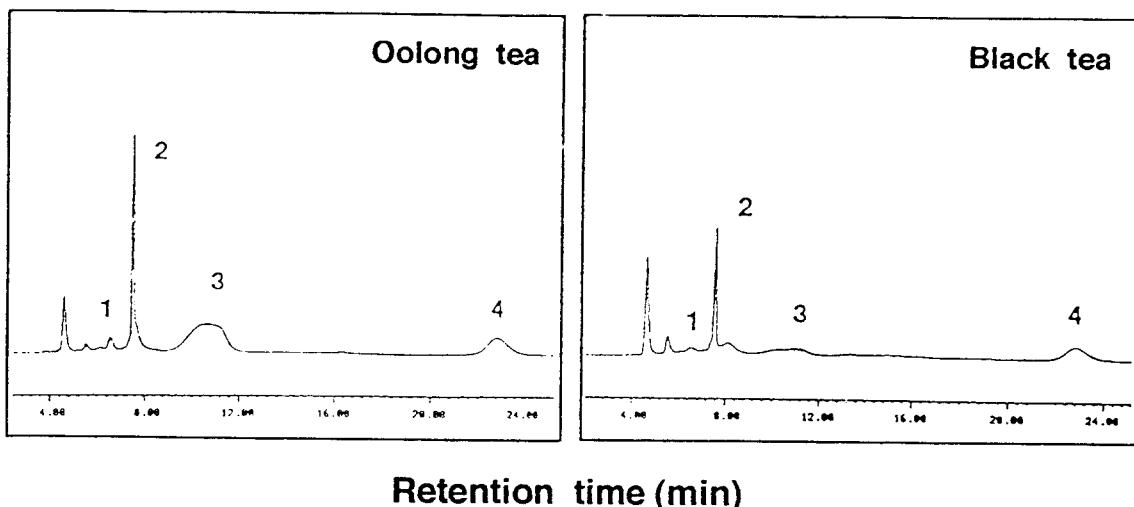


Fig. 3. HPLC profiles of catechins in oolong and black tea extracts.

Instrument, Waters Associates HPLC system ; detector, UV 280nm ; column, μ Bondapak C18(3.9mm \times 30 cm) ; mobile phase, acetonitrile/acetic acid/methanol/ H_2O (130/5/20/862) ; flow rate, 0.8ml/min.

1 : (-)-EC 2 : (-)-EGC 3 : (-)-EGCg 4 : (-)-ECg

Table 5. Catechin contents of crude catechin fraction obtained from tea extracts ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

Division	(-)-EC	(-)-ECg	(-)-EGC	(-)-EGCg
Oolong tea				
1st. extract	70.8	110.2	112.0	474.0
2nd. extract	70.6	108.4	149.2	440.4
3nd. extract	66.8	114.4	120.2	480.2
Black tea				
1st. extract	69.8	160.6	66.4	28.4
2nd. extract	79.6	174.4	85.4	54.2
3nd. extract	84.8	180.4	89.8	71.6

통차 및 홍차 추출물의 수용성획분, 메탄올 가용성 및 粗 catechin 획분에서 모두 아질산염 분해작용을 나타내었으며, 특히 粗 catechin 획분에서 아질산염 분해작용이 큰 것으로 나타났다. 그리고 1, 2 및 3차에 걸쳐 추출하였을 때, 아질산염 분해작용은 뚜렷한 유의적인 차이를 찾아 볼 수 없었다. 또한 반응액의 pH 변화에 따른 아질산염 분해작용은 pH 의존성이 컸으며, 특히 인체 내의 pH 조건과 유사한 pH 1.2에서 높은 분해작용을 나타내었다. 각 시료 모두 농도가 증가할수록, 또 반응시간이 길어질수록 아질산염 분해작용이 높았다. 아질산염 분해속도는 아질산염과 아민과

의 반응속도 보다 빠른 것으로 나타났으며, 아질산염 분해 인자를 검색한 결과, 茶 polyphenol 화합물인 catechin류인 것으로 추정되었으며, 추출횟수에 따른 catechin류 각각의 함량 변화도 추출횟수가 증가하여도 그 함량에는 거의 변화가 없었다.

감사의 글

본 논문은 1995년도 부산전문대학 학술연구소 연구비의 일부 지원에 의해 수행되었음을 밝히며, 아울러 감사를 드립니다.

참 고 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 *Clostrium botulinum* by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *Can. Inst. Food Tech. J.*, 2, 52(1969).
5. 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" pp.1~56, Chrichster, C. O.(ed.), Academic Press, N. Y.(1976).
6. Fiddler, W., Pensabene, J. W., Piotrowski, E. G., Doerr, R. C. and Wasserman, A. E. : Use of sodium ascorbate or erythrobrate to inhibit formation of *N*-nitrosodimethylamine in frankfurters. *J. Food Sci.*, 38, 1084(1973).
7. 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 (5), 1333(1987).
8. 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(3), 266(1993).
9. 안방원, 이동호, 여생규, 강진훈, 도정룡, 김선봉, 박영호 : 천연식품성분에 의한 발암성 니트로사민의 생성 억제작용. *한국수산학회지*, 26(4), 289(1993).
10. 도정룡, 김선봉, 박영호, 박영범, 최재수, 김동수 : 결명자의 아질산염 소거작용. *한국식품과학회지*, 25(5), 526(1993).
11. 여생규, 염동민, 이동호, 안철우, 김선봉, 박영호 : 녹차 추출물의 아질산염 분해작용. *한국영양식량학회지*, 23 (2), 287(1994).
12. 原征彦, 石上正 : 茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌活性. *日本食品工業學會誌*, 36(12), 996(1989).
13. A.O.A.C. *Official methods of analysis*, 13th ed. pp. 462~870, Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C.(1980).
14. 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).
15. 寺田志保子, 前田有美恵, 増井俊夫, 鈴木裕介, 伊奈和夫 : 各種茶(緑茶, 半醸酵茶, 紅茶) 浸出液およびティードリンクス中のカフェイン, カテキン組成. *日本食品工業學會誌*, 34(1), 20(1987).
16. Hashimoto, F., Nonaka, G. and Nishioka, I. : Tannins and related compounds. LVI. ; Isolation of four new acylated flavan-3-ols from oolong tea(1). *Chem. Pharm. Bull.*, 35(2), 611(1987).
17. Hashimoto, F., Nonaka, G. and Nishioka, I. : Tannins and related compounds. LXIX. ; Isolation of structure elucidation of B, B'-linked bisflavanoids, theasinensins D-G and oolongtheanin from oolong tea(2). *Chem. Pharm. Bull.*, 36(5), 1676(1988).
18. Nonaka, G., hashimoto, F. and Nishioka, I. : Tannins and related compounds. XXXVI. ; Isolation of structures of theaflagallins, new red pigments from black tea. *Chem. Pharm. Bull.*, 34(1), 61(1986).