

침출수의 pH가 녹차 침출액 성분에 미치는 영향

김상희 · 박종대 · 이란숙 · 한대석
한국식품개발연구원

Effect of pH on the Green Tea Extraction

Sang-Hee Kim, Jong-Dae Park, Lan-Sook Lee and Dae-Seok Han
Korea Food Research Institute

Abstract

Green tea infusions were prepared by extracting them with aqueous solution of different pHs and their physicochemical properties were analyzed. Yellowness, chroma and total color difference values were increased as pH increased. The content of total amino acids in the green tea infusion was not influenced by pH values. Total catechin contents of the green tea infusion extracted at pH 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0 were 32.28, 31.84, 31.14 and 14.70 mg/g, respectively. Among the four catechins investigated, epigallocatechingallate and epigallocatechin are more unstable as the pH was changed from 6.0 to 7.0. As pH increased, the extraction of caffeine was also increased. In conclusion, extraction at low pH is preferred for the preparation of green tea infusion.

Key words: pH, green tea, amino acid, catechins, caffeine

서 론

차(茶)는 전세계의 음료 중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있으며 커피, 코코아와 함께 3대 기호 음료로 160여개 국가에서 널리 음용되고 있다⁽¹⁾. 차가 중요한 기호 음료로서 발전해 온 가장 큰 이유는 차가 여러 민족의 구미에 맞는 대중적인 기호성을 가지고 있을 뿐만 아니라 생체의 복잡한 생명활동을 조절하는 식품의 3차 기능으로서 생체리듬의 조절, 면역력의 증진, 질병의 예방이나 회복, 노화 억제 등 신체 조절기능을 갖는 기능성 식품으로서 중요성이 새삼 강조되고 있기 때문이다.

차의 기능성 성분^(1,2)으로는 카테킨 및 카테킨 산화물 등의 폴리페놀과 카페인, 아미노산류, 사포닌, 미네랄 등이 있으며, 이들은 항산화, 항암, 항돌연변이, 혈중콜레스테롤 저하, 혈압상승 억제, 혈당상승 억제, 항균, 항바이러스, 충치예방, 항알레르기, 면역능력 저하 억제 등의 생리활성 효과를 나타내고 있다.

녹차는 침출수, 침출온도, 침출시간 등 침출조건에 따라 녹차중에 함유되어 있는 기능성 성분⁽³⁾들이 달라

질 뿐만 아니라 녹차의 품종, 채엽시기, 채엽장소 등에 따라서도 영향을 받는 것으로 알려져 있는데^(1,2,4) 녹차의 품종으로는 야부키다(敷北) 종이 비타민 C, 아미노산, 총질소 등의 함량이 높아 녹차용 품종으로서 가장 적합하다고 하였으며, 녹차엽은 채엽시기가 늦어질수록 비타민 C와 폴리페놀 함량은 증가하지만 아미노산이나 카페인은 감소하는 것으로 보고된 바 있다⁽¹⁾.

침출조건에 따른 녹차의 기능성 성분에 대한 연구는 주로 침출온도와 침출시간에 대한 연구가 대부분이고 일본에서 침출수에 따른 녹차의 성분 변화에 대한 연구가 보고^(5,6)된 바 있으나 우리나라 녹차에 대해서는 아직 연구가 되어 있지 않은 상태이다. 따라서 본 연구에서는 최근에 기능성 음료로서 주목을 받고 있는 녹차의 유효성분을 효율적으로 침출하여 음료 제조시 기초자료로 활용하고자 침출수의 pH가 녹차의 색, 총아미노산, 카테킨 및 카페인 등의 침출량에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 녹차는 전남 보성군에서 1998년 5월중에 채취한 녹차엽을 가공하여 4°C에 보관한 것을 시료로 사용하였다.

Corresponding author: Sang-Hee Kim, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyonggi-do 463-420, Korea

표준품 및 시약

녹차 성분의 분석용 시약 (-)-epicatechin(EC), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epigallocatechingallate (EGCg), (-)-epicatechingallate (ECG), caffeine, glutamic acid는 Sigma사 제품을, ninhydrin은 Merck사 제품을, acetonitril(CH₃CN), ethyl acetate(EtOAc) 등 용매는 HPLC 용을, chloroform(CHCl₃) 등 그 밖의 것은 시약 특급을 사용하였다.

녹차 침출액 제조

pH가 녹차 침출액의 성분 구성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 끓여서 식힌 탈이온수로 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0의 McIlvaine 완충용액(0.1 M citric acid+0.2 M Na₂HPO₄)을 제조 후 60°C로 미리 가온한 각각의 완충용액 100 mL에 녹차엽 1 g을 가하여 15분간 침출 후 거어즈로 녹차엽을 분리하였고, 즉시 ice-water bath에 옮겨 냉각시킨 후 Whatman No. 42로 여과하여 분석용 시료로 사용하였다. 이때 각 실험은 2회 반복하여 실시하였다.

색 측정

침출조건에 따른 녹차 침출액의 색 측정을 위해 색차계 (ColorQuest II, Hunter Lab, USA)를 사용하여 Hunter L, a, b값을 구한 후 식 (1)과 같이 이 값으로부터 유도된 chroma 값과 식 (2)와 같이 total color difference(TCD) 값을 구하여 pH가 녹차 침출액의 색에 미치는 영향을 조사하였다.

$$\text{Chroma value} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (1)$$

$$\text{TCD value} = \sqrt{(L_1 - L_0)^2 + (a_1 - a_0)^2 + (b_1 - b_0)^2} \quad (2)$$

Total amino acid 정량

차의 분석법⁽⁷⁾에 따라 시료 여액에 polyvinylpoly-pyrrolidone(PVPP)을 가해 진탕하고, 30분간 정치 후 여과한 여액 1 mL를 screw-cap tube(15 mm × 125 mm)에 가하고 ninhydrin 용액(ninhydrin 5 g/ethylene glycol monomethyl ether 250 mL와 0.4 M 구연산을 2 N NaOH를 사용해 pH 5.2로 조절한 pH 5.2 구연산 완충용액 250 mL를 혼합한 용액) 0.5 mL와 SnCl₂ 용액(SnCl₂ · 2H₂O 50 mg을 pH 5.2 구연산 완충용액 25 mL에 용해) 0.5 mL를 가해 잘 혼합한 후 80°C 항온수조에서 30분간 가온한 후 신속히 냉각하여 회석액(isoprophyllalcohol : H₂O = 1:1)을 5 mL 가해 잘 흔들어 준 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 아미노산 함량은 glutamic acid를 사용해 검량선을 작성한 후

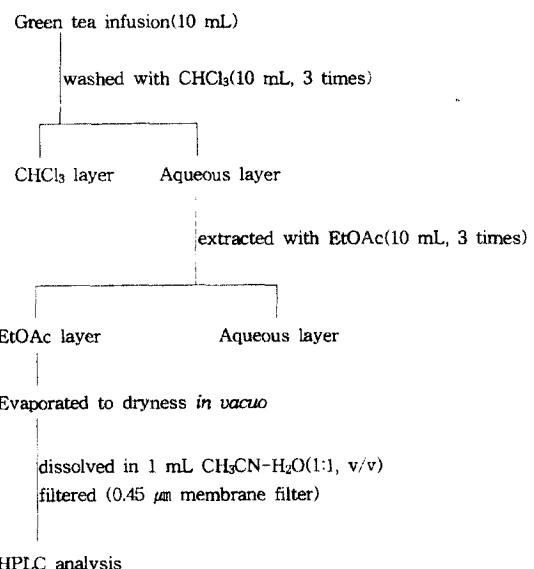


Fig. 1. Purification procedure of catechins from green tea infusion.

환산하였다.

Catechin 류 분석

침출조건에 따른 녹차 침출액은 Fig. 1과 같이 Matsuzaki 등의 방법⁽⁸⁾에 따라 counter-current chromatography를 행하여 crude catechin을 얻은 후 HPLC를 분석하였다. 즉, 침출액 일정액을 분액 깔대기에 취해 동량의 CHCl₃을 넣고 3회 반복 세정하여 카페인을 제거하였다. 카페인이 제거된 물층에 동량의 EtOAc로 3회 반복 추출한 후 감압 진공농축기 (Büchi rotavap R-124)로 농축하였다. 이를 소량의 CH₃CN-H₂O(1:1, v/v) 용액으로 녹이고 0.45 μm membrane filter로 여과하여 분석용액으로 사용하였다. 이때 카테킨 분석은 JASCO(JASCO Co., Japan) HPLC pump(Model PU-980), column oven(Model CO-965), autoinjector(Model AS-950-10) 및 UV/VIS detector(Model UV-975)로 구성된 HPLC를 이용하여 Sentri™ μBondapak C18 guard column(125 Å, 3.9 × 20 mm, Waters, USA)을 장착한 μBondapak C18 column(125 Å, 3.9 × 300 mm, Waters, USA)으로 CH₃CN-EtOAc-0.05% H₃PO₄(12:2:86, v/v/v) 을 이동상으로 하여 40°C에서 유속 1 mL/min으로 280 nm에서 검출하였다.

Caffeine 정량

차의 분석법⁽⁷⁾에 따라 시료 여액에 PVPP를 가해 진탕

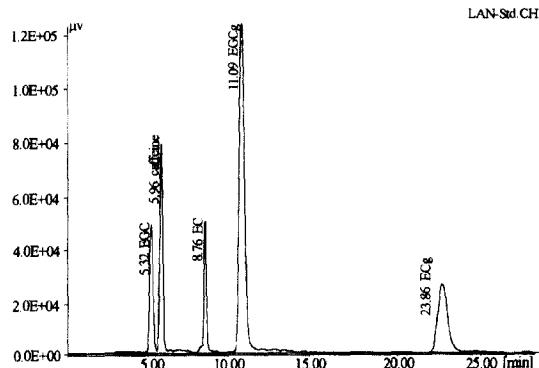


Fig. 2. HPLC chromatogram of authentic catechins and caffeine.

하여 30분간 정치 후 여과한 여액을 $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter를 통과시켜 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. 이 때 HPLC 분석조건은 카테킨류 분석과 동일하게 실시하였으며 표준용액에 대한 chromatogram은 Fig. 2와 같다.

결과 및 고찰

침출수 pH가 녹차 침출액의 수색에 미치는 영향
녹차의 수색은 음용 이전에 사람의 시각에 호소하여 차로서 입맛을 돋우는 역할을 하므로 차의 품질 평가시 매우 중요한 요소이다. 이러한 식품의 색을 측정하는 방법에는 색의 감지기능을 광학적으로 모방한 색차계를 사용하는 방법⁽⁹⁾과 분광학적인 방법으로 흡광도를 측정하여 결정하는 방법⁽¹⁰⁾이 일반적으로 사용되고 있는데 본 실험에서는 색차계를 이용하여 측정하였다.

그 결과 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 Hunter b값과 chroma값 그리고 TCD값이 pH 6.0과 pH 7.0 사이에서 급격하게 증가하는 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 녹차의 수색은 주로 플라보놀 색소에 의한 것으로 열수에 의해 녹황색(綠黃色)에서 선황색(鮮黃色)으로 변색되며 동시에 침출수의 pH가 높을수록 추출조작중에 천연형 카테킨류의 이성체가 증가하여 녹차의 갈변이 급속히 진행된다는 보고^(11,12)와 잘 일치하고 있다.

침출수의 pH가 총아미노산 함량에 미치는 영향

녹차 침출수의 pH를 4.0에서 7.0으로 조정하여 침출시에 총아미노산 함량은 Table 1에 나타낸 바와 같이 약 20.95 mg/g으로 침출수의 pH에 따라 별로 변하지 않는 것으로 나타났다.

아미노산은 녹차의 감칠맛을 나타내는 성분으로 카

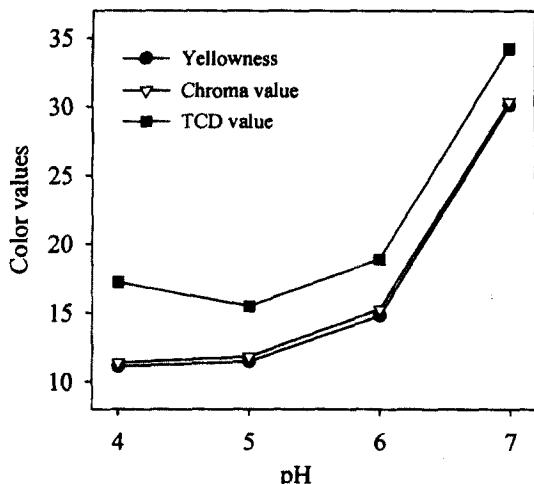


Fig. 3. Effect of pH on yellowness, chroma and TCD values in green tea infusion.

Table 1. Effect of pH on total amino acid contents in green tea infusion

pH	Total amino acid content (mg/g)
4.0	20.940
5.0	20.955
6.0	20.955
7.0	20.940

페인의 쓴맛, 카테킨의 맵은맛과 더불어 녹차의 맛을 형성하며 녹차 음용시 부드러운 맛과 유의한 상관관계를 가지고 있으며⁽¹³⁾ 이러한 아미노산 함량은 품종간 또는 차나무의 연령 및 채엽시기에 따라 변화한다고 알려져 있다^(14,15).

침출수 pH가 카테킨 용출에 미치는 영향

녹차 침출수의 pH를 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0으로 조정하여 침출했을 때 총 카테킨 함량은 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 각각 32.28, 31.84, 31.14 및 14.70 mg/g으로 침출수의 pH가 높을수록 감소하는 경향을 보였는데, 특히 pH 7.0에서 급격하게 감소하였다. 이는 pH 증가와 함께 이성화 반응이 진행^(11,12)되는데 pH 7.0에서 진행 속도가 매우 빠름을 알 수 있었다.

각 카테킨 성분별 용출 양상을 살펴보면 Fig. 5, Fig. 6과 같이 pH 4.0과 pH 5.0인 경우는 EGCg > ECg > EGC > EC pH 6.0인 경우는 EGCg > EGC > ECg > EC 그리고 pH 7.0의 경우 EGCg > ECg > EC > EGC 순으로 용출되어 pH에 따라 각 카테킨 용출량에 차이가 있

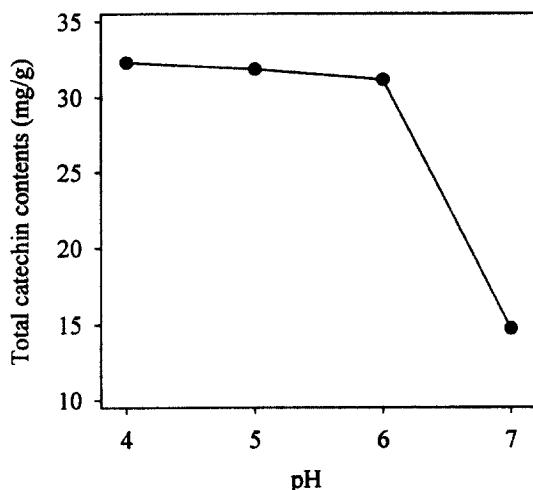


Fig. 4. Effect of pH on total catechin contents in green tea infusion.

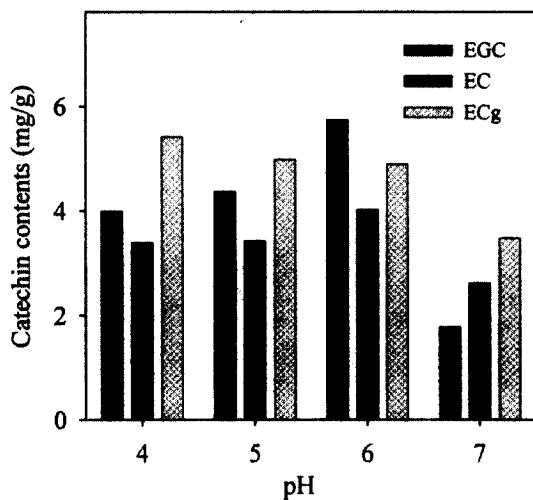


Fig. 5. Effect of pH on catechin contents in green tea infusion.

었다. 특히 항산화, 항암 및 항균작용 등 기타 기능성 작용^(1,2)이 두드러진 EGCg의 함량이 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0에서 각각 19.47, 19.07, 17.09 및 6.82 mg/g으로 pH 4.0에서 EGCg의 용출량이 가장 많았다.

小松 등⁽¹⁶⁾은 침출수의 pH가 증가함에 따라 총 카테킨 함량이 감소하였음을 보고하여 본 실험과 일치하였으나, 각 카테킨 성분별 용출 양상은 pH 4.0에서 pH 8.0까지의 모든 처리구에서 EGC > EGCg > EC > ECg 순으로 용출되었다는 보고와는 약간 상이한 결과를 나타냈는데 이는 녹차엽에 함유된 카테킨의 함량이 달라 다르게 나타난 것으로 사료된다. Terada 등⁽¹⁷⁾은

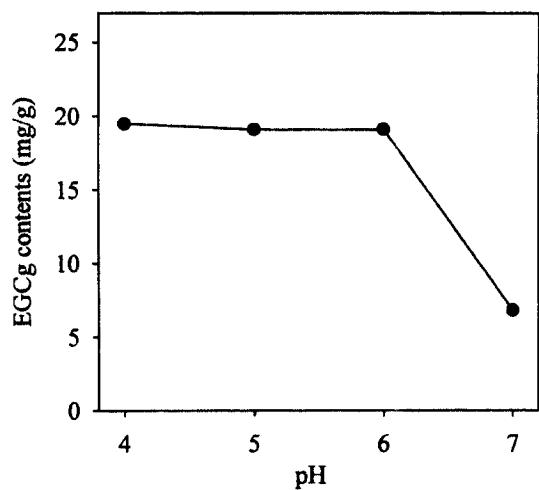


Fig. 6. Effect of pH on EGCg contents in green tea infusion.

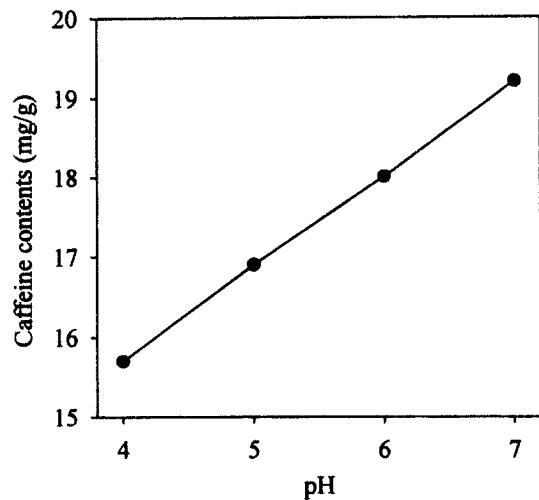


Fig. 7. Effect of pH on caffeine contents in green tea infusion.

일본내에서 시판되고 있는 다양한 종류의 차열, 티백, 캔차를 대상으로 카테킨을 분석한 결과 카테킨류의 각 성분의 함량이 다양하게 나왔음을 보고한 바 있는데 岩淺⁽¹⁸⁾과 村松⁽¹⁹⁾은 품종과 일광의 정도에 따라 각 카테킨 함량에 차이가 있다고 보고했으며 녹차용 품종의 경우 최고 20% 정도까지 차이가 인정된다고 보고했다.

침출수의 pH 가 카페인 용출에 미치는 영향

녹차 침출수의 pH에 따른 카페인의 용출정도를 분석한 결과는 Fig. 7과 같이 침출수의 pH가 높을수록

카페인 함량도 증가하는 것으로 나타났으며 이는 Suematsu 등⁽¹²⁾의 결과와도 잘 일치하고 있다. 카페인 함량은 60°C, 15분 추출에서 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0에서 각각 15.7, 16.9, 18.0 및 19.2 mg/g이 용출되어 pH 상승에 의해 최고 22.3%의 증가폭이 있었다.

위의 결과를 종합해 보면 녹차 고유의 색을 유지하고 녹차에 함유되어 있는 기능성 성분을 효율적으로 침출하기 위해서는 침출수의 pH를 낮게 유지하는 것이 바람직한 것으로 나타났다.

요 약

침출수의 pH가 녹차 침출액 성분에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 녹차의 색은 pH의 증가에 따라 Hunter b값, chroma값 및 TCD값이 증가하였으며 총 아미노산 함량은 침출수의 pH에 크게 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 총 카테킨 함량은 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0으로 추출하였을 경우 각각 32.28, 31.84, 31.14 및 14.70 mg/g으로 pH 7.0 침출수에서 급격하게 감소하였고, 4종류 카테킨 중 EGCg와 EGC가 pH의 영향을 가장 많이 받음을 알 수 있었다. 카페인 함량은 pH 4.0, 5.0, 6.0 및 7.0으로 추출하였을 경우 각각 15.7, 16.9, 18.0 및 19.2 mg/g으로 pH가 증가함에 따라 더 많이 추출됨을 알 수 있었다.

결론적으로 녹차 고유의 색을 유지하고 녹차에 함유되어 있는 기능성 성분을 효율적으로 침출하기 위해서는 침출수의 pH를 낮게 유지하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

문 헌

- Kim, J.T. Science and culture of tea. Borimsa Publishing Co., Seoul, Korea (1996)
- Nakabayashi, T., Ina, K. and Sakata, K. Chemistry and function of green, black and oolong tea. Kogaku press, Japan (1994)
- Lee, M.G., Lee, S.W., Kim, S.S., Lee, S.H. and Oh, S.L. Changes in tasting constituents (tannin, free sugar, total nitrogen) of green tea by leaching condition. Korean J. Dietary Culture 4: 411-416 (1984)
- Park, J.H. Studies on chemical composition in Korean native tea plants. Ph.D. thesis, Chonnam National Univ., Korea (1997)
- Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., and Hara, K. Effects of pH on stability of constituents in

- canned tea drinks. J. Japanese Soc. Food Sci. Tech. 39: 178-182 (1992)
- Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R. and Hara, K. Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. Biosci. Biotech. Biochem. 57: 907-910 (1993)
- Ikegaya, K., Takayanagi, H. and Anan, T. Quantitative analysis of tea constituents. Bull. Natl. Res. Tea 71: 43-74 (1990)
- Matsuzaki, T.L. and Hara, Y. Antioxidative activity of the leaf catechins. J. Agric. Chem. Soc. Japan 59: 129-134 (1985)
- Francis, F.J. Colorimetry of liquids. Food Technol. 26: 39-48 (1972)
- Somers, T.C. and Evans, M.E. Wine quality-correlations with color density anthocyan equilibria in group of young red wine. J. Sci. Food Agric. 25: 1369-1379 (1974)
- Yoshioka, H., Sugiura, K., Kawahara, R., Hujita, T., Makino, M., Kamiya, M and Tsuyumu, S. Formation of radicals and chemiluminescence during the autoxidation of the catechins. Agric. Biol. Chem. 55: 2717-2723 (1991)
- Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., and Komatsu, Y. A new extraction procedure for determination of caffeine and catechins in green tea. J. Japanese Soc. Food Sci. Tech. 42: 419 (1995)
- Nakagawa, M. Correlation of the constituents with the organoleptic evaluation of green tea liquors. J. Japanese Soc. Food Sci. Tech. 16: 12-18 (1974)
- Masuda, S. and Nakagawa, M. General chemical and physical analysis on various kind of green tea. Tea Res. J. 46: 73 (1978)
- Nakagawa, M., Buruya, G.M. Differences in amino acid, tannin, total nitrogen contents in leaves of cultivated species of green tea. Bull. Japan Tea-Technician's association 48: 84-95 (1975)
- Komatsu, Y., Hisanobu, Y., Suematsu, S. and Saigo, H. The method of making canned tea drinks. Japanese Patent 5-168407 (1993)
- Terada, S., Maeda, Y., Masui, T., Suzuki, Y. and Ina, K. Composition of caffeine and catechin components in infusion of various tea(green, oolong and black tea) and tea drinks. J. Japanese Soc. Food Sci. Tech. 34: 20-27 (1987)
- Iwaasa, S. Studies on bio-synthesis of catechin in tea Bull. Natl. Res. Tea 13: 101-135 (1977)
- Yamamoto, T., Juneja, L.R., Chu, D.C. and Kim, M. Chemistry and Applications of Green Tea. CRC Press, Boca Raton, New York, USA (1997)

(1999년 3월 30일 접수)