

녹차 함유 카테친 및 카페인 동시분석을 위한 최적 HPLC 분석 조건

정명근* · 이민석**†

*강원대학교 생약자원개발학과, **(주)아모레퍼시픽 설록차 연구소

Optimal HPLC Condition for Simultaneous Determination of Catechins and Caffeine in Green Tea Extracts

Myoung-Gun Choung* and Min-Seuk Lee**†

*Dept. of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 245-711, Korea

**Sulloc Cha R&D Center, Jangwon Co., Seogwipo 699-920, Korea

ABSTRACT The health benefits associated with tea consumption have resulted in the wide inclusion of green tea extracts in botanical dietary supplements, which are widely consumed as adjuvants for complementary and alternative medicines. Tea contains polyphenols such as catechins or flavan-3-ols including (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG), and (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), as well as the alkaloid, caffeine. The contents of catechins and caffeine in green tea are considered as a standard of quality evaluation of green tea. Therefore, the purpose of this study was to investigate the most suitable HPLC condition for simultaneous determination of catechins and caffeine in green tea extracts. The efficient HPLC analytical condition of catechins and caffeine contained green tea extracts was developed. The gradient elution employed a 250 mm × 4.6 mm i.d. YMC-pak ODS-AM 303 column. The gradient system was used two mobile phases. A gradient elution was performed with mobile phase A, consisting of 0.1% aqueous phosphoric acid, and mobile phase B, comprising 100% MeOH, and delivered at a flow rate of 1 mL/min as follows: 0~25 min, 80% A; 26~50 min, 80~70% A; 51 min, 80% A. 51~55 min, 80% A. The UV detection wavelength was set at 280 nm. The limit of detection (LOD) for catechins and caffeine standards were under 50 ng/mL.

Keywords : green tea, catechins, caffeine, HPLC, simultaneous determination

차나무는 동백나무과(Theaceae)에 속하는 상록수로 학명

은 *Camellia sinensis*(L. O. Kuntze)이다(Mizukami *et al.*, 2006; Sung, 2006). 차의 기원은 중국의 다성(茶聖)인 육우(陸羽)가 지은 다경(茶經)에 기원전 2,700여년 중국의 신농(神農) 시대부터 마셨다는 기록이 있고(Weisburger, 1999), 우리나라에는 신라말기에 전래되었다고 보고되고 있으나(Sung, 2006), 차나무는 훨씬 이전부터 존재하였기 때문에 차 음용의 역사는 5천년 이상으로 추정되고 있다.

차는 현재 전 세계에서 물 다음으로 가장 많이 소비되는 음료 중 하나로써 전 세계 인구 1인당 하루 평균 120mL 이상이라고 보고되며(Seeram *et al.*, 2006), 커피, 코코아와 함께 카페인을 함유한 비알콜성 기호음료로 발전해 왔다(Park *et al.*, 2002). 차가 인류의 중요한 기호음료로 발전해 온 가장 큰 이유는 여러 민족의 구미에 맞는 대중적인 기호성을 가지고 있을 뿐만 아니라 생체의 복잡한 생명활동을 조절하는 식품의 3차 기능으로서 생체리듬의 조절, 면역력의 증진, 질병의 예방이나 회복, 노화억제 등 신체조절 기능을 갖는 기능성 식품으로서 중요성이 새삼 강조되고 있기 때문이다(Kim *et al.*, 1999).

차는 다른 기호음료에 비해 질소화합물, 폴리페놀, 당, 유기산, 비타민 및 무기질 등을 많이 함유하고 있는 것이 특징이며(Park *et al.*, 2002), 이들 중 특히 폴리페놀류를 많이 함유하고 있는데, 차에 함유된 폴리페놀류는 catechin 화합물로 알려진 flavonol류가 대부분이며, 녹차의 주요 catechin 화합물은 (+)-catechin, (-)-gallocatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin, (-)-gallocatechin gallate 및 (-)-epicatechin gallate 등이다(Graham, 1992). 녹차에 들어 있는 catechin 화합물은 혈중 콜레스테롤을 저하시키고(Asai *et al.*, 1987; Cho *et al.*, 1993), 항산화 작용

†Corresponding author: (Phone) +82-64-794-6491

(E-mail) leems@jwgreent.co.kr <Received April 22, 2008>

(Matsuzaki & Hara, 1985; Ryu & Park, 1990; Yeo *et al.*, 1995), 항암작용(Hara *et al.*, 1989; Hunter *et al.*, 1992) 해독작용(Choi *et al.*, 1994), 항균작용(Fukai *et al.*, 1991), 충치예방(Cao, 1995) 및 미백효과(Kim *et al.*, 1997)가 보고되고 있다. 이상과 같이 녹차의 폴리페놀 성분, 즉 catechin 화합물은 다양한 생리활성 효과 및 약리적 효과로 인해 여러 가지 형태의 식품 및 기능성 소재로의 이용 가능성이 연구되고 있으나, 이들 catechin 화합물의 활용성에 비해 분석방법에 대한 포괄적 연구는 상대적으로 미흡한 실정이다.

과거 catechin 화합물의 일반적인 분석방법은 주석산 철을 이용한 탄닌 성분의 간이 비색 정량법이 사용되었고, 1985년 이후 Ikegaya에 의해 HPLC를 이용한 개별 catechin 화합물의 분석법이 개발되었으며(Rah *et al.*, 1992), 이후 다양한 조건의 HPLC를 이용한 선행 연구가 보고되었으나(Choi *et al.*, 1992; Yoshida *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2000; Pelillo *et al.*, 2002), 차에 함유된 다양한 catechin 화합물의 동시분석, 분석 효율 및 재현성 향상 면에서는 만족할만한 수준은 아닌 것으로 판단된다.

따라서 본 연구는 녹차 함유 카테킨 화합물 및 카페인을 동시에 분석할 수 있고, 재현성이 증진된 최적의 HPLC 분석 조건을 검토하여 고 기능성 유용 차나무 품종육성 및 이용성 증진 연구의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 녹차 잎은 제주특별자치도 소재 (주) 아모레퍼시픽 설록차 연구소에서 재배된 국내 재래종 차나무의 잎을 1심 5엽기 때 신초 상위 제 1엽 ~ 3엽까지 100

g을 채취하여 증열기(TERADA)에서 40초간 통과시켜 찌고, 다시 건조시킨 후 분말로 가공하여 60 mesh 체로 사별한 후 시료로 사용하였다.

또한 실험에 사용된 표준물질로서 catechin 화합물(gallic acid(GA), (-)-gallocatechin(GC), (-)-epigallocatechin(EGC), (+)-catechin(C), (-)-epigallocatechin gallate(EGCG), (-)-epicatechin(EC), (-)-gallocatechin gallate(GCG), (-)-epigallocatechin 3-(3"-O-methyl) gallate(EGCG-3) 및 (-)-epicatechin gallate(ECG))과 caffeine은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(USA) 및 Indofine chemical Co.(USA)로부터 구입하였고, HPLC 용매로 사용된 메탄올은 J. T. Baker Inc.(USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 초순수 증류수는 초순수 제조기(Milli-Q system, USA)에서 비저항값이 18 MΩ 이상으로 제조된 증류수를 사용하였고, phosphoric acid는 일본 화광순약주식회사의 특급시약을, 기타 추출용매로 사용된 에탄올은 국산 GR 등급을 구입하여 사용하였다.

구입한 각 표준물질은 HPLC 이동상 조제에 사용된 메탄올, 증류수 및 인산이 20 : 79.9 : 0.1(v/v)로 혼합된 용액을 이용하여 500~1,000ppm의 stock solution을 조제한 후, -20°C 조건의 저온고에 보관하면서 사용하였고, 분석의 재현성 검정을 위해 사용된 녹차 추출액은 녹차 분쇄시료 0.1 g에 2% 인산 - 50% EtOH용액 20 mL를 첨가한 후 상온에서 2시간 추출한 후 Whatman No. 2 여과지로 1차 여과하였으며, HPLC 분석 직전 syringe filter(0.45 μm)로 2차 여과를 실시하고 분석에 사용하였다.

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 분석에 사용된 HPLC는 Agilent 1200 series(USA)를 사용하였으며, 최적 HPLC 분석 조건 확립을 위해 사용된 분석 컬럼은 Table 1

Table 1. The kinds of HPLC column for establishment of catechin and caffeine analysis condition.

No.	Column	Diameter (mm)	Length (mm)	Particle size (μm)
1	Lichrospher RP-18e	4.6	125	5
2	Waters Nova pak C18	3.9	150	4
3	Zorbax Eclipse XDB C8	4.6	150	5
4	Hamilton PRP-1	4.1	150	5
5	Shiseido Capcell pak C18	4.6	150	5
6	Tosoh ODS-120T	4.6	150	5
7	Zorbax Eclipse XDB C18	4.6	150	3.5
8	Shiseido Capcell pak C18	4.6	250	5
9	Tosoh ODS-120T	4.6	250	5
10	YMC-Pak ODS-AM 303	4.6	250	5
11	Waters Nova pak C18	3.9	300	4
12	Waters μ-Bondapak C18	3.9	300	10

과 같이 C18 및 C8 컬럼 12종을 사용하였다. HPLC 분석에 이용된 이동상 조건은 2상(two phase) 농도구배 조건으로 유기용매는 메탄올을, 수용매는 0.1% 인산함유 - 증류수를 사용하여 다양한 선형 농도 구배법으로 분리양상을 검토하였다.

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 분석을 위한 최적 HPLC 분석 조건의 최소 검출한계(LOD, Limit of Detection)를 확인하기 위해 catechin 화합물 및 caffeine 표준품을 농도별(0.5 ng/mL ~ 1,000 ng/mL)로 조제하여 HPLC 분석을 수행하였다. 최소 검출한계를 확인하기 위한 HPLC 분석조건은 확립된 최적의 HPLC 분석조건과 동일한 조건이었으며, 단지 검출기의 signal 대비 noise 비율(S/N ratio)이 3이 되는 조건에서 농도별 catechin 화합물 및 caffeine 표준품을 분석하고, 검출되는 peak 양상을 확인하여 최소 검출한계를 검토하였다.

결과 및 고찰

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 동시분석을 위한 최적 HPLC 흡광 검출파장 선정

녹차 함유 9종의 catechin 화합물 및 카페인 성분을 동시에 정량적으로 분석할 수 있는 최적의 HPLC 분석파장을 검토하기 위하여 자외선 210~400 nm 범위에서 각 성분별

흡수 분광특성을 검토한 결과 gallic acid(216 nm)를 제외한 9종의 화합물 모두 최대 흡수 파장이 210 nm 미만과 271~279 nm에서 최대 흡광 특성을 나타내었다(Fig. 1 및 Table 2). 이 결과로 볼 때 210 nm의 경우 메탄올을 포함한 대부분의 HPLC용 유기용매에서 uv-cut off가 일어나는 파장과 근접하며, 용매에 의한 peak noise가 극대화 될 수 있는 파장이므로, 210 nm에 비해서 상대적으로 흡광력은 낮지만 다른 파장 영역에 비해 흡수분광이 높고 일어나는 파장인 280 nm에서 검출하는 것이 가장 바람직한 것으로 조사되었다.

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 동시분석을 위한 최적 HPLC 이동상 선정

녹차 함유 9종의 catechin 화합물 및 caffeine을 동시에 정량적으로 분석할 수 있는 최적의 HPLC 분석 이동상 조건을 확립하기 위해 다양한 농도구배 조건으로 분리효율 시험을 실시한 결과 최적의 용매계는 A용매로 0.1% 인산 - 증류수와 B용매로 100% MeOH를 사용하는 것이 극성이 높은 gallic acid부터 caffeine을 포함하여 극성이 낮은 ECG까지 10성분을 동시에 분리 할 수 있는 최적의 용매계로 선정되었고(data 미제시), 예비실험에서 분리능이 양호한 것으로 조사된 Shiseido Capcell pak C18(4.6×250 mm) 컬럼을 대상으로 용매의 농도구배 조건별 분리양상을 검토한 결과 용매 programing 조건을 0분 : 80%A, 25분 : 80%A, 50분

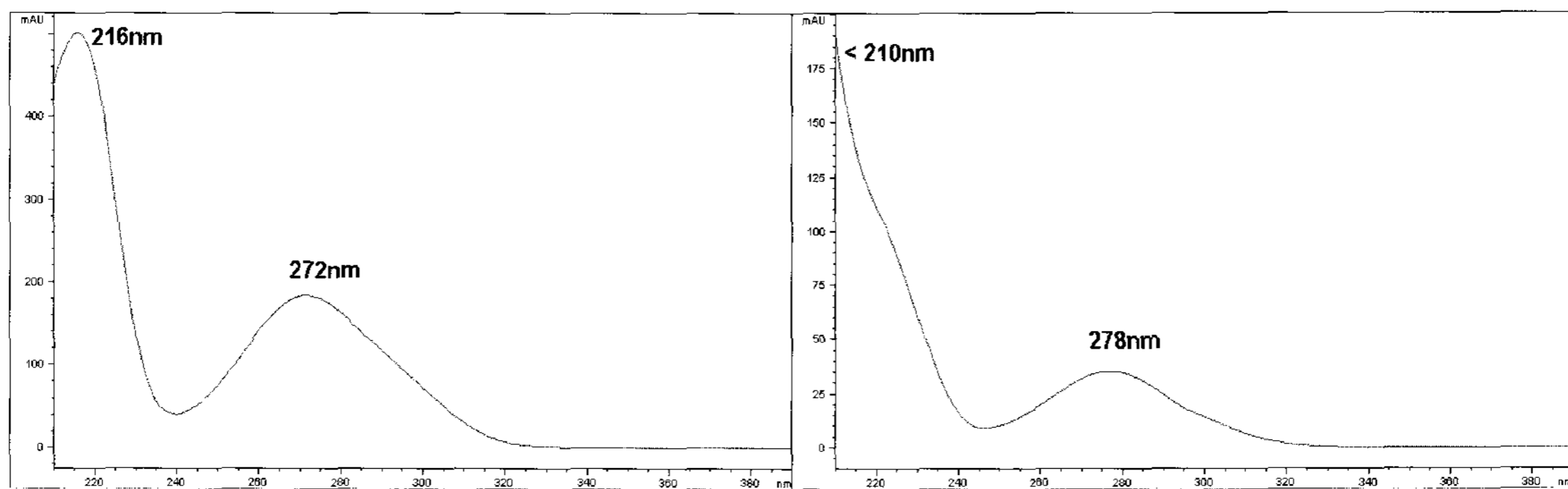


Fig. 1. UV spectra of gallic acid (left) and (-)-epicatechin gallate (right).

Table 2. Comparison on the characteristic absorbances of catechin compounds and caffeine.

Compound	λ max (nm)	Compound	λ max (nm)
GA	216, 272	EGCG	< 210, 274
GC	< 210, 271	EC	< 210, 279
EGC	< 210, 270	GCG	< 210, 275
C	< 210, 279	EGCG-3	< 210, 276
Caffeine	< 210, 273	ECG	< 210, 278

: 70%A, 51분 : 80%A, 55분 : 80%A 조건으로 분당 1 mL의 유속으로 농도구배 분석(gradient elution)을 실시할 경우 50분 안에 녹차 함유 9종의 catechin 화합물 및 caffeine 성분의 동시분석이 가능하였다.

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 동시분석을 위한 최적 HPLC column 선정

최근 HPLC 분석에 사용빈도가 극히 높은 C18 및 C8 계열의 컬럼 12종을 대상으로 녹차 함유 9종의 catechin 화합

물 및 caffeine 동시분석을 위해 선발된 최적의 이동상 농도구배 조건을 적용하였을 때, 각 컬럼별 분석 parameter 및 분리효율을 검정하였다. 그 결과 12종의 컬럼 중 Hamilton PRP-1 컬럼을 포함한 7종의 컬럼은 컬럼의 길이 및 충전물의 입자크기와 관계없이 10종의 화합물 중 7~9종의 물질만을 분리, 검출하였고, Zorbax Eclipse XDB C18을 포함한 5종의 컬럼은 녹차 함유 9종의 catechin 화합물 및 caffeine 성분 10종을 동시에 분리해 내는 것으로 조사되었다(Table 3 및 Fig. 3). 그러나 각 컬럼별 분석성분의 이론단수(No. of

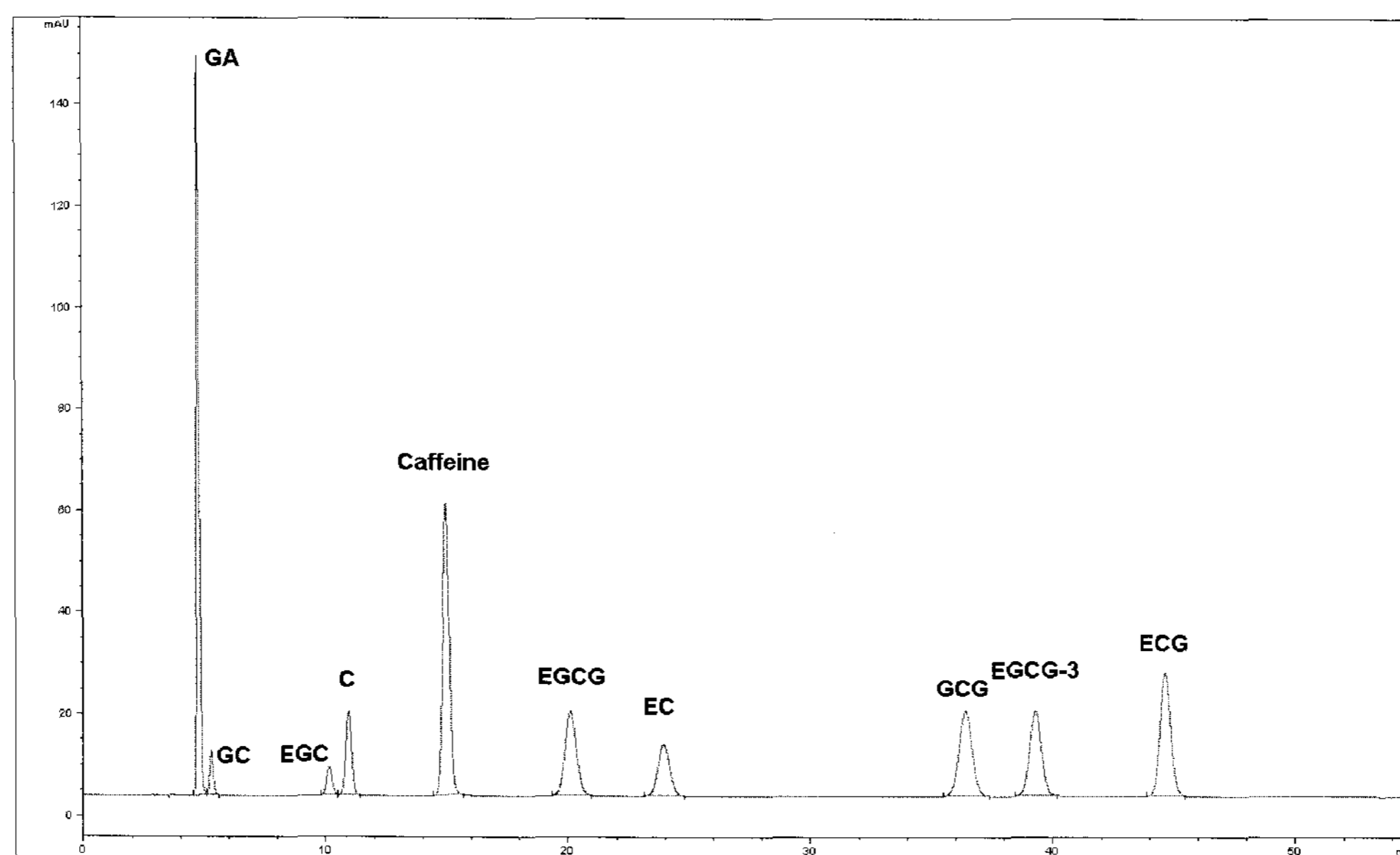


Fig. 2. HPLC chromatogram of 9 catechin compounds and caffeine standards (25 ppm) using Shiseido Capcell pak C18 column (4.6×250 mm, 5 μm)

Table 3. Comparison on the number of separation compounds with different HPLC columns.

Column	Length (mm)	No. of separation compounds
Hamilton PRP-1	150	7
Waters Nova-Pak C18	150	8
Zorbax Eclipse XDB C8	150	8
Waters μ-Bondapak	300	8
Licroprep RP18e	125	9
Tosoh ODS 120T	150	9
Waters Nova-Pak C18	300	9
Zorbax Eclipse XDB-C18	150	10
Shiseido Capcell pak C18	150	10
Shiseido Capcell pak C18	250	10
Tosoh ODS 120T	250	10
YMC-Pak ODS-AM 303	250	10

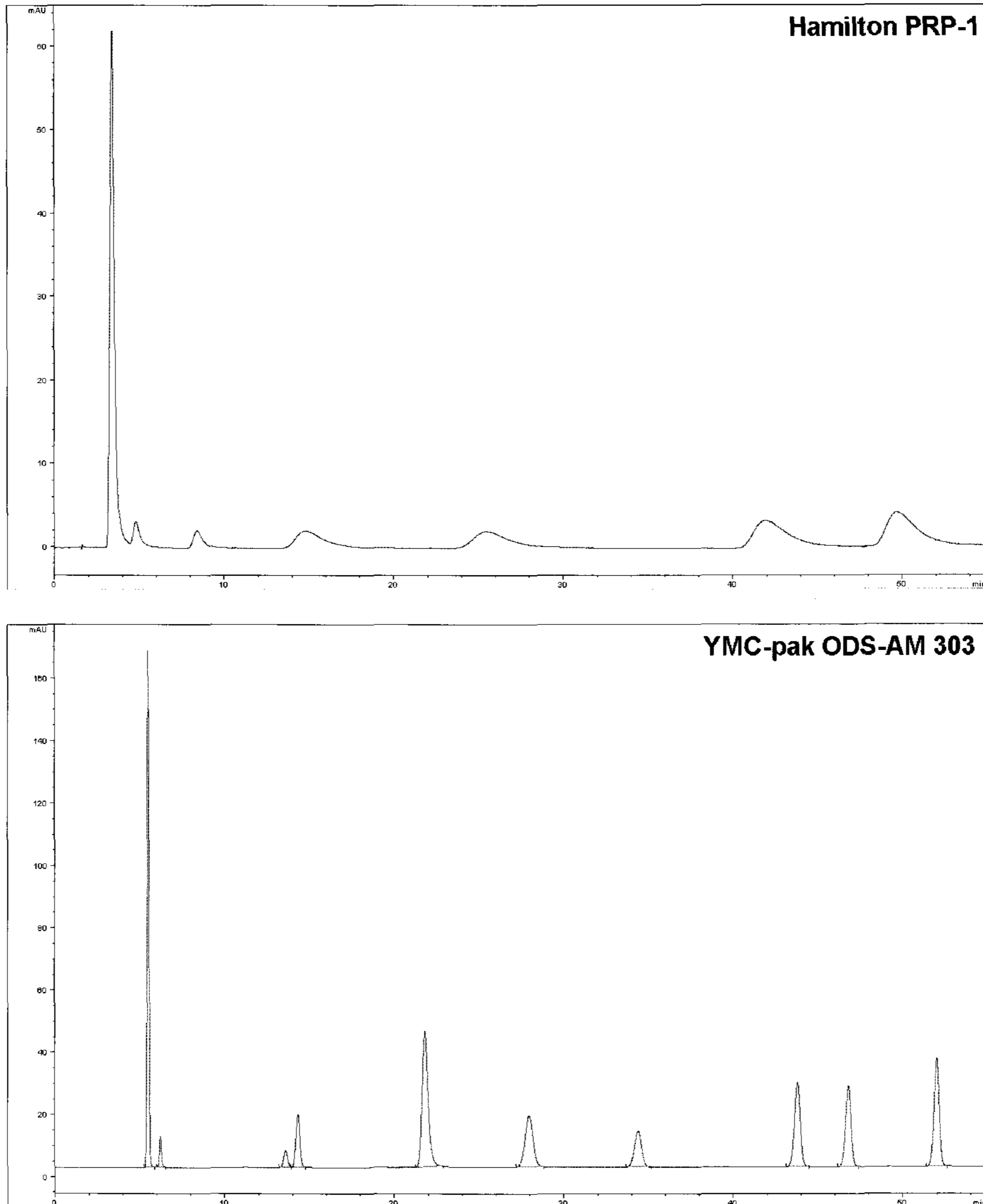


Fig. 3. Comparison on HPLC chromatograms of Hamilton PRP-1 and YMC-Pak ODS-AM 303 column.

theoretical plate), 좌우대칭도(symmetry) 및 분리능(resolution)에는 서로 다른 차이를 나타내었다(Table 4).

특히 녹차 함유 9종의 catechin 화합물 및 caffeine 성분 10종을 동시에 완전하게 분리해 내는 5종의 컬럼 중 분리 효율에 영향을 미치는 요인들을 상호비교 검토하였을 때 YMC-pak ODS-AM 303 컬럼이 크로마토그램상의 분리 양상, 분리 parameter의 이론치 비교 및 극성이 유사하여 분리가 불량한 GA와 GC, EGC와 C사이의 resolution 비교에서도 가장 우수한 분리 양상을 나타내는 컬럼으로 조사되었다.

녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 동시분석을 위한 최적 HPLC 분석조건의 재현성 검증 및 최소 검출한계 분석

최적의 분리효율을 나타내었던 YMC-pak ODS-AM 303 컬럼을 이용한 HPLC 분석 조건에서 동일 시료를 10번 계속 반복하여 분석하였을 때, HPLC 분석요인에 대한 재현성을 검증하였다(Table 5~6 및 Fig. 4). 그 결과 10종의 catechin 화합물 및 caffeine 모두 머무름 시간(Rt.)의 변이계수는 최대 1.23%, peak area의 변이계수는 최대 5.13% 미만을 나타내므로 높은 분석 재현성을 나타내었다. 따라서 상기 조건에 의해 확립된 녹차 함유 catechin 화합물 및 caf-

Table 4. Comparison on separation efficiency with different HPLC columns.

Column	Compound	Peak Rt.	Peak Width	N	HEPT	As	Rs.
Shiseido Capcell pak (15 cm)	GA	2.96	0.1071	12,213	0.0205	0.781	2.7
	GC	3.28	0.1317	9,912	0.0252	0.859	
	EGC	6.27	0.2024	15,330	0.0163	0.897	2.4
	C	6.78	0.2164	15,683	0.0159	0.937	
	EGCG	12.36	0.3681	18,034	0.0139	0.942	
Zorbax Eclipse XDB C18 (15 cm)	GA	2.65	0.09	13,893	0.0180	0.712	2.6
	GC	2.89	0.0994	13,563	0.0184	0.771	
	EGC	5.79	0.1476	24,587	0.0102	0.862	2.8
	C	6.22	0.1552	25,666	0.0097	0.886	
	EGCG	11.24	0.2702	27,682	0.0090	0.920	
Shiseido Capcell pak (25 cm)	GA	4.72	0.1291	21,351	0.0117	0.823	3.8
	GC	5.25	0.1561	18,126	0.0138	0.898	
	EGC	10.13	0.2494	26,391	0.0095	0.923	3.1
	C	10.92	0.2640	27,370	0.0091	0.935	
	EGCG	20.07	0.5074	25,043	0.0100	0.893	
Tosoh ODS 120T (25 cm)	GA	5.17	0.1351	23,431	0.0107	0.731	3.5
	GC	5.68	0.1583	20,607	0.0121	0.806	
	EGC	11.10	0.2573	29,777	0.0084	0.873	3.3
	C	11.99	0.2784	29,677	0.0084	0.871	
	EGCG	24.15	0.5712	28,594	0.0087	0.372	
YMC ODS AM 303 (25 cm)	GA	5.47	0.1105	39,193	0.0064	0.829	6.1
	GC	6.21	0.1316	35,639	0.0070	0.873	
	EGC	13.60	0.2565	44,954	0.0056	0.973	2.8
	C	14.32	0.2594	48,740	0.0051	0.982	
	EGCG	27.96	0.5054	48,955	0.0051	0.968	

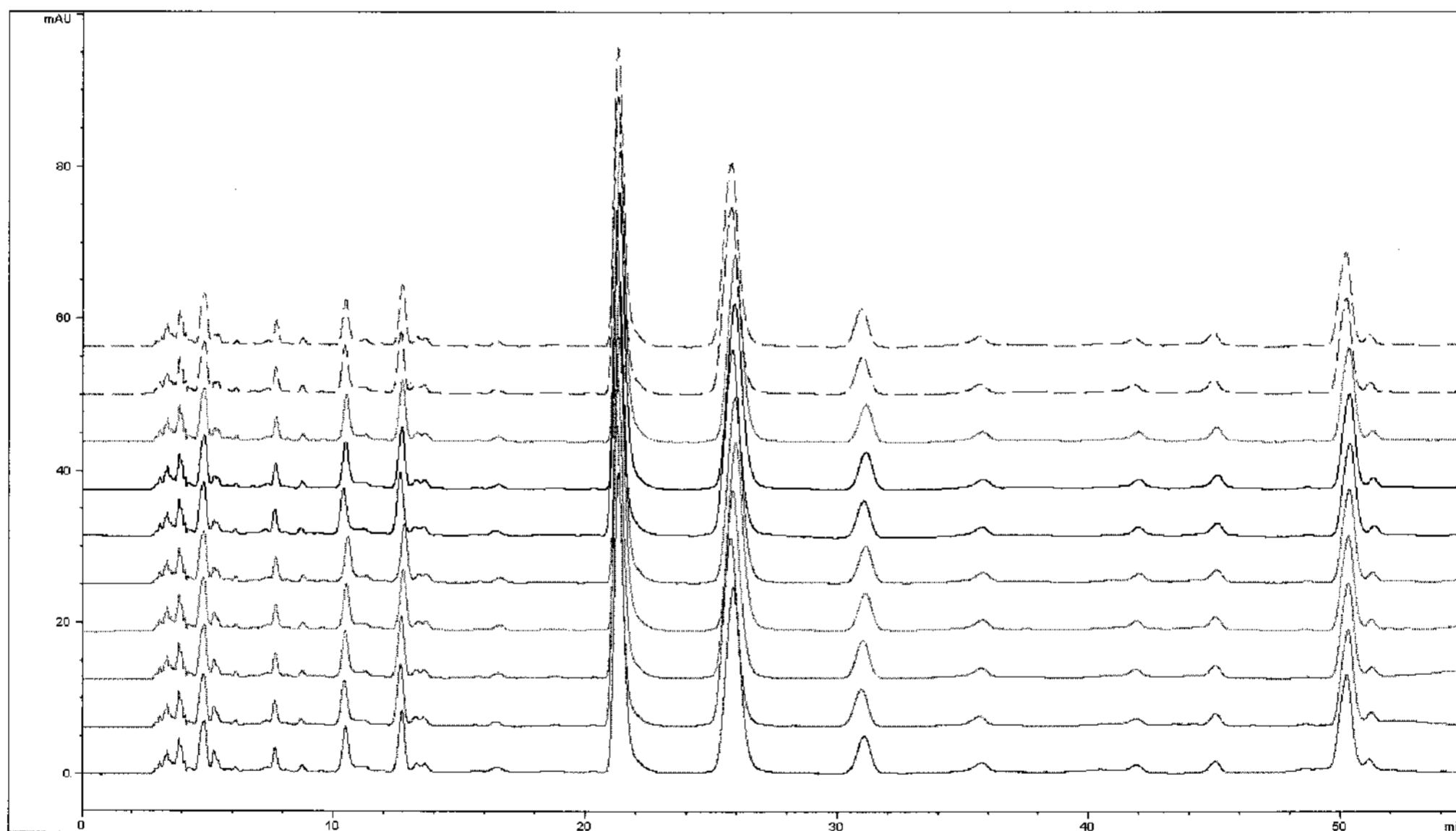
Rt.: Retention time, N: No. of theoretical plate, HEPT: Height equivalent to a theoretical plate, As: Peak asymmetric, Rs: Resolution

Table 5. Reproduction test of retention time at optimum HPLC condition(n = 10)

No.	Retention time(min)									
	GA	GC	EGC	C	Caff	EGCG	EC	GCG	EGCG-3	ECG
1	5.19	6.06	12.65	13.24	21.25	25.81	31.02	41.84	44.95	50.17
2	5.18	6.04	12.60	13.19	21.19	25.70	30.90	41.82	44.98	50.23
3	5.19	6.06	12.63	13.23	21.24	25.80	30.96	41.79	44.99	50.24
4	5.19	6.06	12.70	13.29	21.28	25.91	31.06	41.84	45.00	50.24
5	5.19	6.06	12.75	13.34	21.29	25.88	31.07	41.94	45.05	50.28
6	5.19	6.03	12.59	13.18	21.19	25.77	30.99	41.89	45.03	50.29
7	5.20	6.07	12.64	13.23	21.28	25.86	31.07	41.92	45.05	50.28
8	5.20	6.07	12.66	13.25	21.30	25.88	31.07	41.92	45.03	50.26
9	5.34	6.07	12.60	13.19	21.22	25.71	30.93	41.68	44.91	50.14
10	5.34	6.08	12.66	13.25	21.23	25.71	30.89	41.76	44.88	50.12
Min.	5.18	6.03	12.59	13.18	21.19	25.70	30.89	41.68	44.88	50.12
Max.	5.34	6.08	12.75	13.34	21.30	25.91	31.07	41.94	45.05	50.29
Mean	5.22	6.06	12.65	13.24	21.24	25.80	31.00	41.84	44.99	50.22
SD	0.06	0.02	0.05	0.05	0.04	0.08	0.07	0.08	0.06	0.06
CV	1.23	0.26	0.39	0.37	0.19	0.30	0.23	0.20	0.13	0.12

Table 6. Reproduction test of peak area at optimum HPLC condition(n = 10)

No.	Peak area									
	GA	GC	EGC	C	Caff	EGCG	EC	GCG	EGCG-3	ECG
1	17.0	4.2	135.0	7.1	1027.0	1006.3	196.9	23.3	40.7	405.9
2	16.8	4.1	134.7	6.9	1020.2	1010.3	188.0	24.2	39.7	399.4
3	17.3	4.3	135.9	6.8	1032.5	1022.7	176.4	24.7	39.9	404.2
4	18.2	4.1	133.2	6.4	1025.3	1027.8	177.4	24.6	42.7	404.5
5	17.5	3.8	133.8	6.4	1028.8	1029.4	183.9	24.6	41.0	406.3
6	17.9	4.3	136.2	6.4	1031.8	1017.4	184.6	24.8	40.8	409.7
7	16.7	4.3	135.5	7.1	1033.5	1034.1	183.8	26.7	42.0	405.5
8	16.1	4.2	132.3	6.4	1040.0	1016.0	183.1	25.3	40.7	396.4
9	16.3	4.3	135.0	6.1	1024.8	1010.6	184.9	26.5	42.2	412.1
10	17.4	3.9	132.0	6.6	1029.3	1014.6	178.9	24.6	41.2	402.3
Min.	16.10	3.80	132.00	6.10	1020.20	1006.30	176.40	23.30	39.70	396.40
Max.	18.20	4.30	136.20	7.10	1040.00	1034.10	196.90	26.70	42.70	412.10
Mean	17.12	4.15	134.36	6.62	1029.32	1018.92	183.79	24.93	41.09	404.63
SD	0.67	0.18	1.47	0.34	5.51	9.22	5.88	1.02	0.97	4.56
CV	3.91	4.29	1.09	5.13	0.54	0.91	3.20	4.08	2.35	1.13

**Fig. 4.** Comparison on HPLC chromatograms for reproduction test (n = 10).

feine의 HPLC 정량 분석법은 재현성이 높은 정량적 분석방법으로 판단된다.

최적 HPLC 분석 조건에서 녹차 함유 10종의 catechin 화합물 및 caffeine 성분을 동시에 분석하였을 때 분석 가능한 최소 검출한계(LOD, Limit of Detection)를 평가하기 위해 각 성분별 표준품을 농도별(0.5 ng/mL ~ 1,000 ng/mL)로

가공하고, 검출기의 signal/noise ratio = 3인 조건에서 최소 검출한계를 조사한 결과 모든 성분이 최소 50 ppb(0.050 ppm, 50 ng/mL)이하에서도 완벽하게 검출되는 양상을 나타내므로(Fig. 5) 상기 실험에서 확립된 HPLC 분석법은 녹차의 작물학적 특성 평가용으로 활용하기에 전혀 무리가 없는 분석법으로 판단된다.

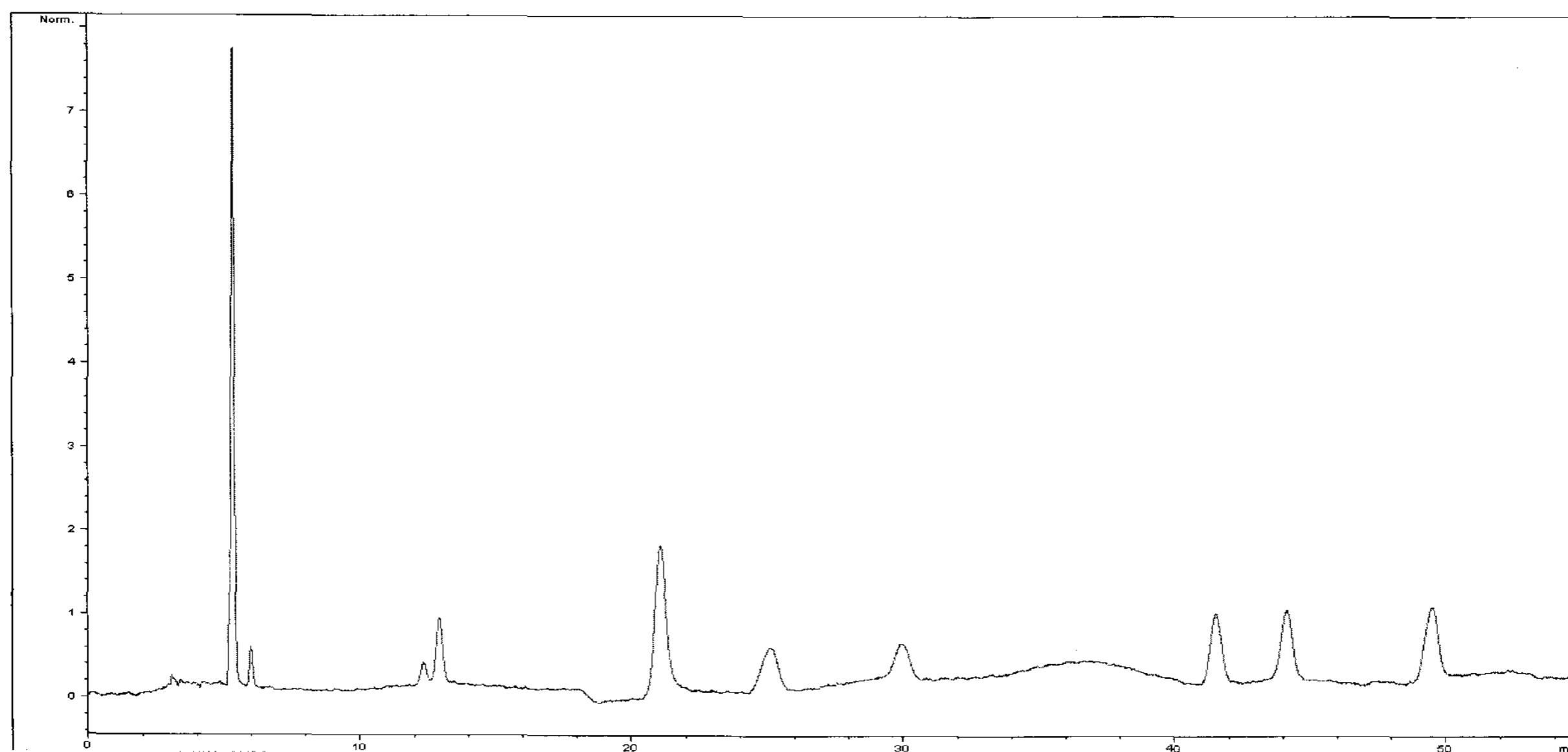


Fig. 5. HPLC chromatogram of catechin compounds and caffeine at 50 ppb.

적 요

고 기능성 유용 차나무 품종육성 및 녹차의 이용성 증진 연구의 기초 자료를 제공하기 위해 녹차 함유 catechin 화합물 및 caffeine 성분을 동시에 분석할 수 있고, 재현성 및 검출 감도가 증진된 최적의 HPLC 분석 조건을 검토한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 녹차에 함유된 catechin 화합물 및 caffeine의 동시분석을 위한 최적 HPLC 분석 조건을 검토한 결과 컬럼은 YMC-pak ODS-AM 303(25 cm) 컬럼을 이용하고, 검출파장은 280 nm, 컬럼온도를 30°C, 분당유속은 1 mL, 이동상 용매로는 A용매로 0.1% 인산 - 증류수, B용매로 100% MeOH를 사용하여 농도구배 조건으로 분석하는 것이 가장 효율적 분석 방법으로 조사되었다.

2. 녹차에 함유된 catechin 화합물 및 caffeine을 동시에 분석할 수 있는 최적 HPLC 분석조건의 재현성 검정을 실시한 결과 머무름 시간(Rt.)의 변이계수는 최대 1.23% 미만, peak area의 변이계수는 최대 5.13% 미만을 나타내어 확립된 녹차 함유 catechin 9종 화합물 및 caffeine의 HPLC 정량 분석법은 재현성이 높은 분석법으로 확인되었고, 각 catechin 화합물 및 caffeine 성분의 최소 검출한계는 최소 50 ppb(0.050 ppm, 50 ng/mL)이하로 조사되어, 확립된 HPLC 분석법은 녹차의 작물학적 특성 평가용으로 활용하기에 전혀 무리가 없는 분석법으로 판단되었다.

사 사

이 연구는 농촌진흥청 현장협력기술개발사업(20070401080021호)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Asai, H., K. Ogawa, Y. Hara, and K. Nakamura. 1987. Effect of alumina-tea catechin complex on the blood sugar in spontaneous diabetic mice. *Clin. Report* 21 : 163-166.
- Cao, J. 1995. External test and clinical observation and evaluation of the caries preventive effect of tea. The 3rd international symposium on green tea, Seoul, Korea.
- Cho, Y. J., B. J. An, and C. Choi. 1993. Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25 : 238-242.
- Choi, S. H., B. H. Lee, and H. D. Choi. 1992. Analysis of catechin contents in commercial green tea by HPLC. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21 : 386-389.
- Choi, S. I., J. H. Lee, and S. R. Lee. 1994. Effect of green tea beverage for the removal of cadmium and lead by animal experiment. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26 : 745-749.
- Fukai, K., T. Ishigami, Y. Hara. 1991. Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacterial. *Agric. Biol. Chem.* 55 : 1985-1997.
- Graham, H. N. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev. Med.* 21 : 334-350.
- Hara, Y., S. Maysuzaki, and K. Nakamura. 1989. Antitumor activity of tea catechins. *Nippon Eiyu Shokuryo Gakkaishi* 42 : 39-45.

- Hunter, O. J., J. E. Manson, M. J. Stampfer, G. A. Colditz, B. Rosner, C. H. Hennekens, F. E. Speizer, and W. C. Willett. 1992. A prospective study of caffeine, coffee, tea, and breast cancer. *Am. J. Epidemiol.* 136 : 1000-1001.
- Kim, J. K., W. S. Cha, J. K. Park, S. Y. Oh, Y. J. Cho, S. S. Chun, and C. Choi. 1997. Inhibition effect against tyrosinase of condensed tannins from Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29 : 173-174.
- Kim, S. H., J. D. Park, L. S. Lee, and D. S. Han. 1999. Effect of pH on the green tea extraction. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31(4) : 1024-1028.
- Lee, M. J., S. Prabhu, X. Meng, C. Li, and C. S. Yang. 2000. An improved method for the determination of green and black tea polyphenols in biomatrices by high-performance liquid chromatography with coulometric array detection. *Analytical Biochemistry* 279 : 164-169.
- Matsuzaki, T., and Y. Hara. 1985. Antioxidant activity of tea leaf catechins. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 59 : 129-134.
- Mizukami, Y., K. Kohata, Y. Yamaguchi, N. Hayashi, Y. Sawai, Y. Chuda, H. Ono, H. Yada, and M. Yoshida. 2006. Analysis of acrylamide in green tea by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 7370-7377.
- Park, Y. H., E. K. Won, and D. J. Son. 2002. Effect of pH on the stability of green tea catechins. *J. Food Hygiene and Safety* 17(3) : 117-123.
- Pelillo, M., B. Biguzzi, A. Bendini, T. Gallina Toschi, M. Vanzini, and G. Lercker. 2002. Preliminary investigation into development of HPLC with UV and MS-electrospray detection for the analysis of tea catechins. *Food Chemistry* 78 : 369-374.
- Rah, H. H., S. O. Baik, S. B. Han, and J. Y. Bock. 1992. Improvement of analytical method for catechins in green tea. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* 35(4) : 276-280.
- Ryu, B. H., and C. O. Park. 1990. Antioxidant effect of green tea extracts on enzyme activities of hairless mice skin induced in ultraviolet B light. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22 : 355-361.
- Seeram, N. P., S. M. Henning, Y. Niu, R. Lee, H. S. Scheuller, and D. Heber. 2006. Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* 54 : 1599-1603.
- Sung, K. C. 2006. A study on the pharmaceutical characteristics and analysis of green tea Extract. *J. Korean Oil Chemists's Soc.* 23(2) : 115-124.
- Weisburger, J. H. 1999. Tea and health: The underlying mechanism. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 220(4) : 271-275.
- Yeo, S. G., C. W. Ahn, Y. W. Lee, T. G. Lee, Y. H. Park, and S. B. Kim. 1995. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, Oolong tea, and black tea. *J. Korean Food Nutr. Soc.* 24 : 299-304.
- Yoshida, Y., M. Kiso, and T. Goto. 1999. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. *Food Chemistry* 67 : 429-433.