J. Fd Hyg. Safety 17(3), 117–123 (2002)

녹차 카테킨류의 pH에 대한 안정성 연구

박영현† · 원은경* · 손동주
*순천향대학교 식품영양학전공, *연세대학교 스포츠과학연구소*

Effect of pH on the Stability of Green tea Catechins

Young-Hyun Park†, Eun-Kung Won*, and Dong-Ju Son
Department of Food Science and Nutrition, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea
**Department of physiology School of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-752, Korea*

ABSTRACT – The five main green tea catechin components such as (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, and (-)-epigallocatechin gallate were analyzed quantitatively from commercial green tea by HPLC. Amounts of catechins decreased in the following order : (+)-catechin > (-)-epigallocatechin gallate > (-)-epigallocatechin > (-)-epicatechin > (-)-epicatechin gallate. In this study, the stability of the following green tea catechins to pH in the range from 3 to 11 was studied using of ultraviolet spectroscopy : (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate, and (-)-epigallocatechin gallate. This study demonstrated that green tea catechins were not stable at high pH and that the pH-, and time-dependent spectral alternatives were not reversible. In conclusion, low pH is important to maintain the efficient utilization of green tea catechins.

Key words: green tea, catechin, pH, stability

차(茶)는 세계의 음료 중에서 가장 오랜 역사를 가지고 있으며 커피, 코코아와 함께 카페인을 함유한 비알콜성 기호음료로 아시아를 비롯하여 160여 개 국가에서 널리 음용되고 있다. 차가 중요한 기호 음료로서 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 신체 조절기능을 갖는 기능성 식품으로서 중요성이 새삼 강조되고 있기 때문이며 최근 녹차를 음용하는 인구가 늘어남에 따라 녹차의 성분과 효능에 대한 연구가 다양하게 진행되고 있다.[1-4)]

녹차는 다른 기호음료에 비하여 질소, 폴리페놀, 당, 유기산, 비타민 및 무기질 등을 많이 함유하고 있는 것이 특징이며 특히 polyphenol류를 많이 함유하고 있어 강한 항산화력을 나타낸다. 녹차의 polyphenol류는 catechin으로서 알려진 flavonol류가 대부분이며 주요한 녹차의 catechin류는 (+)-catechin(C), (-)-epicatechin(EC), (-)-epicatechin gallate(ECg), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epigallocatechin gallate(EGCg), (-)-gallocatechin gallate(GCg), (+)-gallocatechin(GC) 등이며 alkaloid인 caffeine, theobromine, theophylline 등을 함유하고 있다.[5)] 녹차에 들어 있는 catechin류는 혈청지질농도 저하, 고혈압, 동맥경화 및 비만 예방, 항혈소판작용, 동맥평활근세포 증식억제작용 및 과산화지질의 생성을 저하시켜 노화를 예방하고 항균작용, 항암, 항염증작용, 충치예방 등 다양한 생리활성 효과와 약리학적 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다.[3,4,6-11)] 녹차는 차로서 음용될 뿐 아니라, catechin류의 항산화성에 의해 지질 과산화에 의한 생체의 순환기 장애와 발암 및 노화억제 등과 같은 생체조절 물질로서 이용될 가능성이 있으며 식용유지 및 식품의 보존에도 일부 사용되고 있다.[12)] 또 녹차에 관련된 상품으로 건강식품, 음료, 구취제거제, 비누, 화장품 등이 있으며 녹차의 추출성분은 식품의 소재로 이용될 전망이다.[3)]

이상과 같이 녹차 catechin류는 다양한 생리활성효과와 약리학적 효과를 통하여 여러 가지 형태의 기능성소재 및 식품소재로서의 이용가능성에 대한 연구는 활발하게 이루어지고 있으나 물리화학적 영향에 의한 녹차 catechin류의 안정성에 대한 연구로는 변온조건하에서 녹차를 저장하였을 때 수분활성이 높고 저장온도가 높을수록 비효소적 갈변이 빠르게 진행함[13)]과 녹차 생엽의 가공처리 시 가열시간이 증가함에 따라 유효성분의 함량이 감소하는 것으로 보고[14)]된 바와 같이 온도와 수분의 영향에 대한 연구가 대부분이며 pH 조건의 영향에 관한 연구로는 미국에서 식물의 페놀성 물질의 안정성에 미치는 pH의 영향에 대한 연구[15)]가 이루어져

†Author to whom correspondence should be addressed.

있으나 국내에서는 침출수의 pH가 침출액 성분에 미치는 영향에 관한 보고[16]를 제외하면 이에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 시중에 유통되고 있는 녹차 중의 catechin류에 대하여 HPLC 분석을 통해 함량을 조사하고 이를 효율적으로 이용하기 위하여 저장 중의 pH조건이 녹차 catechin류의 안정성에 미치는 영향에 대하여 분석하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

녹차의 catechin류 함량 분석에 사용한 녹차는 1999년 봄 전남 보성군에서 생산된 건조 녹차 잎을 (주)대한다원에서 분양 받아 사용하였다. HPLC 분석과 pH에 대한 안정성 실험에 사용한 catechin류의 표준품인 (+)-catechin(C), (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin gallate(ECg), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epigallocatechin gallate(EGCg) 는 Sigma사의 특급시약을 사용하였고 그 외 시약은 HPLC용 및 특급시약을 사용하였다.

녹차의 Catechin류의 함량분석

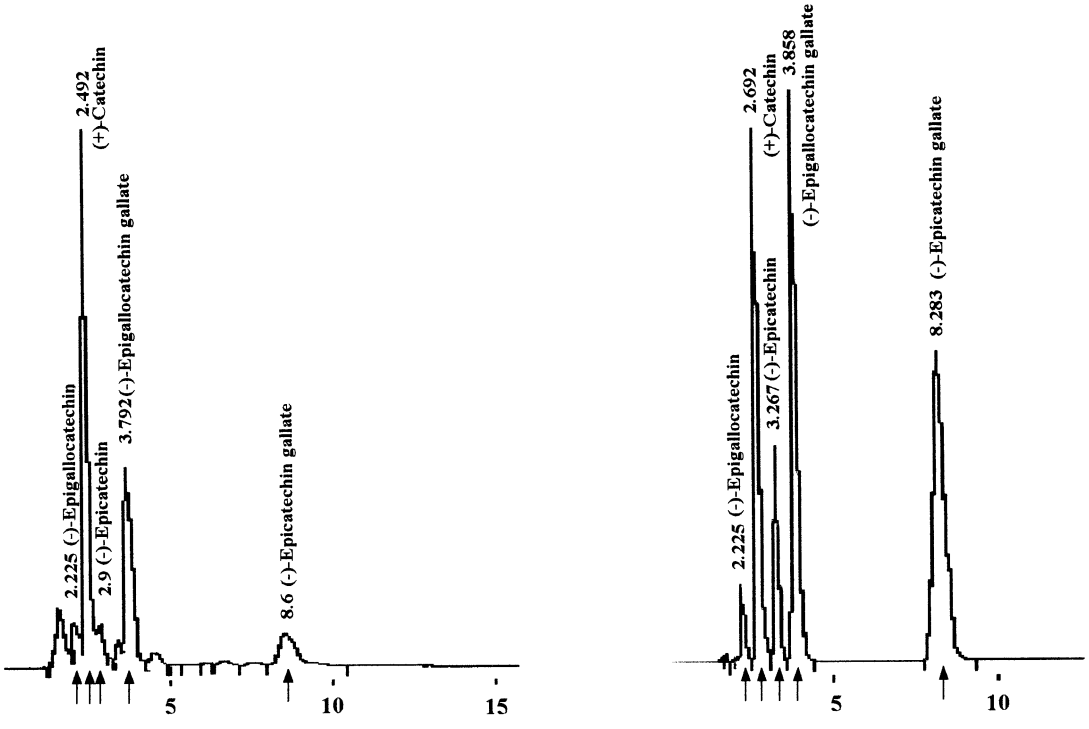
시료용액의 조제는 건조 녹차 5 g을 200 ml의 용량 플라스크에 취하여 증류수 100 ml를 가한 후 80°C의 열탕 속에서 10분간 가온 추출한다. 실온으로 냉각한 후 증류수를 가하여 100 ml로 정용하고 여과지로 여과한 여과액 50 ml에 50 ml의 chloroform을 가해 카페인을 제거하였다. 카페인을 제거한 추출액을 ethylacetate 50 ml를 가하여 catechin류를 추출하여 감압 농축한 후 다시 ethylacetate 5 ml로 정용하여 0.45 μm의 membrane filter를 통과시켜 정제한 후 HPLC를 이용하여 catechin류의 함량을 분석하였다. HPLC의 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. The operating conditions of HPLC for analysis of green tea catechins

Instrument	Shimadzu Co. Japan LC-10AD
Column	Waters Delta pak 5 C18-300Å (3.9 mm × 150 mm)
Mobile phase	Acetonitrile : Ethyl acetate : 0.05 % H_3PO_4 = 12 : 2 : 86
Flow rate	1 ml/min
Wave length	UV 280 nm

녹차 Catechin류의 pH에 대한 안정성

표준용액은 (+)-catechin, 0.1 mg/ml(2.9×10^{-4} M); (-)-EC, 0.1 mg/ml(2.9×10^{-4} M); (-)-ECg, 0.1 mg/ml(4.4×10^{-4} M), (-)-EGCg, 0.1 mg/ml(4.6×10^{-4} M)를 사용하여 증류수에 넣고



(A) HPLC patterns of greentea catechins. (B) HPLC patterns of standards.

Fig. 1. HPLC patterns of catechins isolated from green tea

완전히 용해시켜 제조하여 사용하였다. Friedman 등[15]의 방법에 따라 pH 3, 5에 사용되는 완충액 조제는 Sodium acetate와 glacial acetic acid를 사용하였고 pH 7, 9, 11 완충액은 Sodium borate, boric acid를 사용하여 적정 pH를 맞추었다. 표준용액과 완충용액(pH 3, 5, 7, 9, 11)을 1:9로 희석하여 실험에 사용할 시료를 조제하였다. 시료의 최종농도는 (+)-catechin, 2.9×10^{-5} M; (-)-EC, 2.9×10^{-5} M; (-)-ECg, 4.4×10^{-5} M; (-)-EGCg, 4.6×10^{-5} M로 하였다.

준비되어진 시료는 실온에서 보관하면서 0, 1, 3, 6 시간 및 1, 2, 3, 7일의 시간경과에 따른 흡광도의 변화를 자외선 흡광도측정장치를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

녹차 catechin류의 함량

시판 중인 보성 녹차에서 열수추출 시 녹차 catechin류의 함량을 알아보고 녹차 polyphenol 성분으로 알려진 catechin류의 pH 및 저장기간에 따른 안정성을 흡수스펙트럼을 통하여 알아보고자 하였다. 보성산 건조 녹차잎에서 catechin류의 HPLC pattern을 Fig. 1에 나타냈으며 Table 2와 같이 열수추출물의 경우 (+)-catechin은 35.34 mg/g, (-)-EC은 10.8 mg/g, (-)-ECg는 3.41 mg/g, (-)-EGC은 20.41 mg/g, (-)-EGCg는 33.76 mg/g으로 Total catechin 103.72 mg/g의 함량을 나타내었다.

Table 2. Contents of catechin of isolated from Bosung green tea

Catechins	Content	
	mg/g	%
(+)-C	35.34	34.1
(-)-EC	10.80	10.4
(-)-ECg	3.41	3.3
(-)-EGC	20.41	19.7
(-)-EGCg	33.76	32.5
Total Catechin	103.72	100

녹차 catechin류의 pH에 대한 안정성

녹차 catechin류의 pH에 따른 영향을 알아보기 위하여 (+)-catechin, (-)-EC, (-)-ECg, (-)-EGCg를 가지고 pH 3~11, 0 time에서 최대흡수파장과 최대 흡광도의 변화를 알아보았다. 최대 흡수파장과 최대 흡광도는 Fig. 2와 같이 (+)-catechin은 pH 3에서 278 nm, 0.235이며 pH 5에서 279 nm, 0.252, pH 7에서 280 nm, 0.295, pH 9에서 284 nm, 0.369, pH 11에서 287 nm, 0.457로 나타났고 (-)-EC는 pH 3에서 278 nm, 0.145이며 pH 5는 279 nm, 0.153, pH 7에서 280 nm, 0.171, pH 9에서 284 nm, 0.211, pH 11에서 286 nm, 0.265로 나타났다. (-)-ECg는 pH 3에서 277 nm, 0.389이며, pH 5는 277 nm, 0.410, pH 7에서

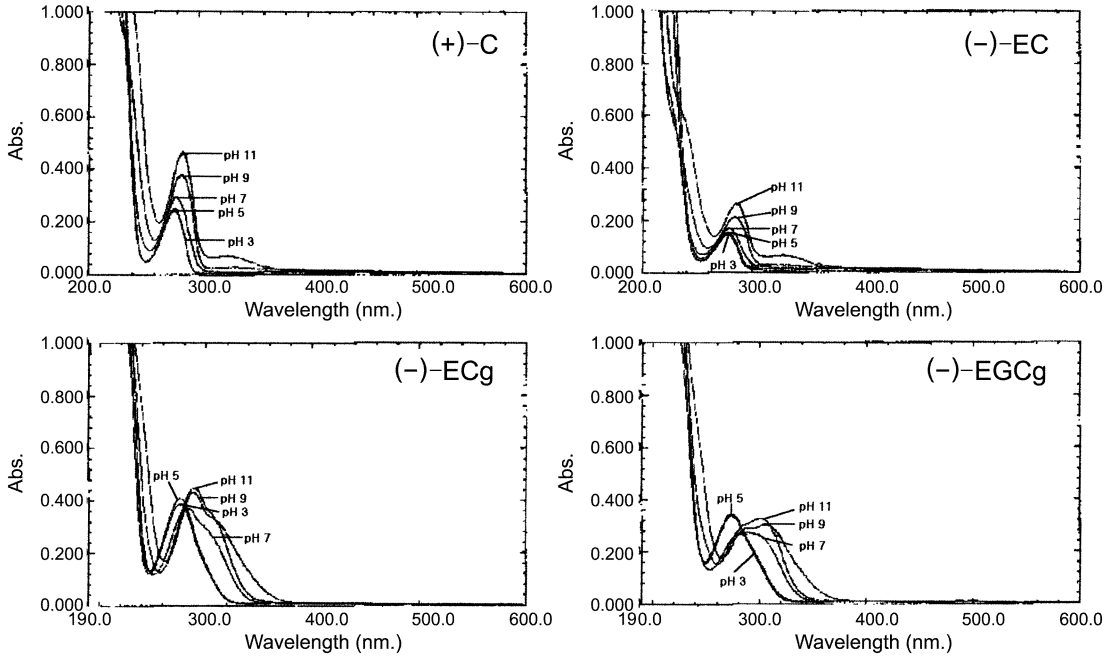


Fig. 2. Effect of pH(3~11) on the absorption spectra of (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate and (-)-epigallocatechin gallate

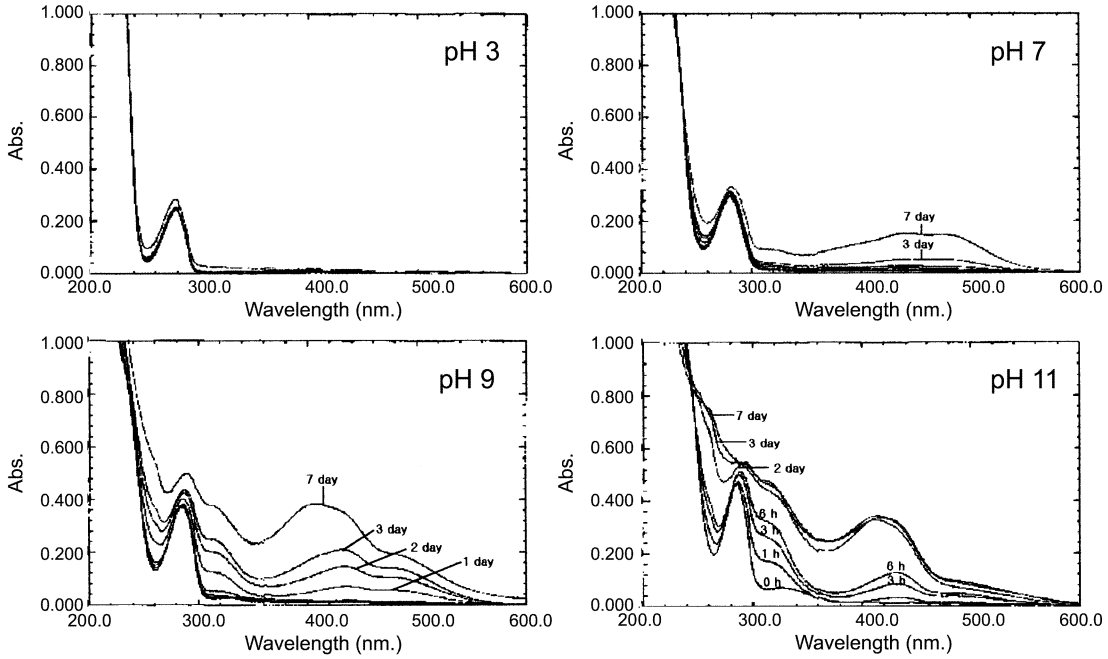


Fig. 3. Effect of pH(3~11) and time on the absorption spectra of (+)-catechin at 0 time and after 1, 3, 6 hour and 1, 2, 3, 7 day

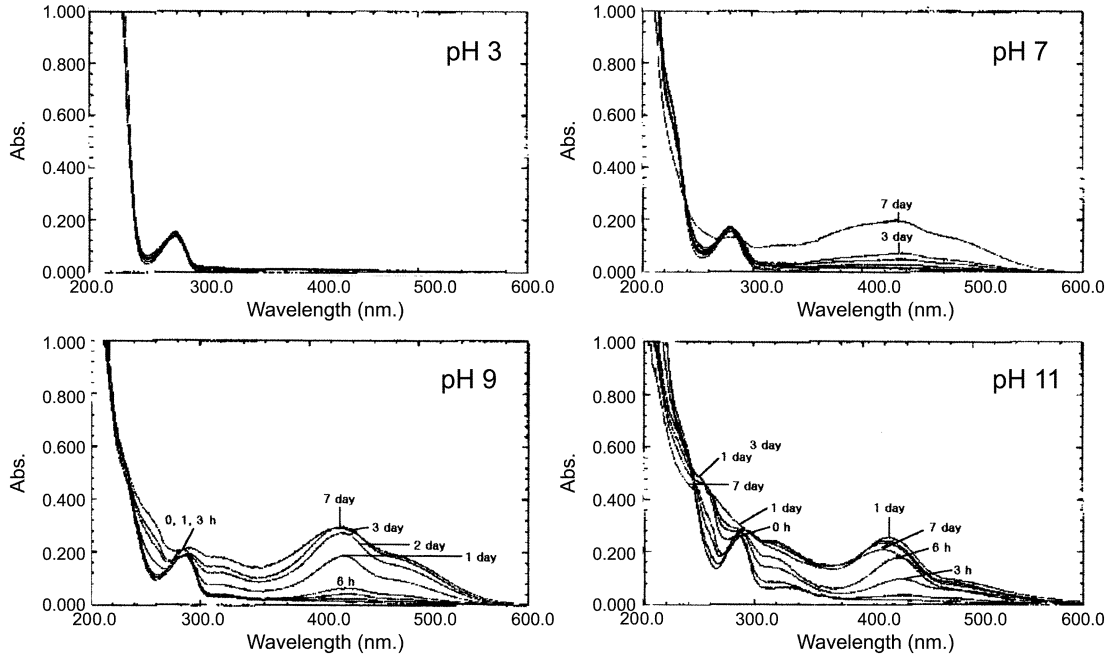


Fig. 4. Effect of pH(3~11) and time on the absorption spectra of (-)-epicatechin at 0 time and after 1, 3, 6 hour and 1, 2, 3, 7 day

281 nm, 0.373, pH 9에서 288 nm, 0.449, pH 11에서 289 nm, 0.432로 나타났고 (-)-EGCg는 pH 3에서 273 nm, 0.340이며, pH 5는 273 nm, 0.345, pH 7에서 295 nm, 0.268, pH 9에서 299 nm, 0.328, pH 11에서 305 nm, 0.304로 나타났다.

흡수스펙트럼의 변화는 pH 7에서부터 급격히 일어났고 (+)-C, (-)-EC는 pH가 높을수록 흡광도가 증가되었으며 (-)-ECg와 (-)-EGCg는 최대흡수파장이 급격히 증가되었다. 이러한 차이는 catechin류의 구조상에서 (-)-ECg와 (-)-EGCg는 (-)-EC구조에 gallic acid가 ester결합을 한 구조이기 때문인

것으로 생각되어진다.

녹차 catechin 류의 저장 중의 pH에 대한 안정성

녹차 Catechin류를 pH 3~11에서 7일간 저장하면서 흡수파장인 200~600 nm의 흡광도 변화를 보았다. (+)-catechin과 (-)-EC은 Fig. 3와 4에서 나타내는 바와 같이 pH 3(pH 5)과 pH 7에서는 최대 흡수파장에서 흡광도의 변화가 거의 없지만 pH 9와 pH 11에서는 저장기간이 증가할 수록 흡광

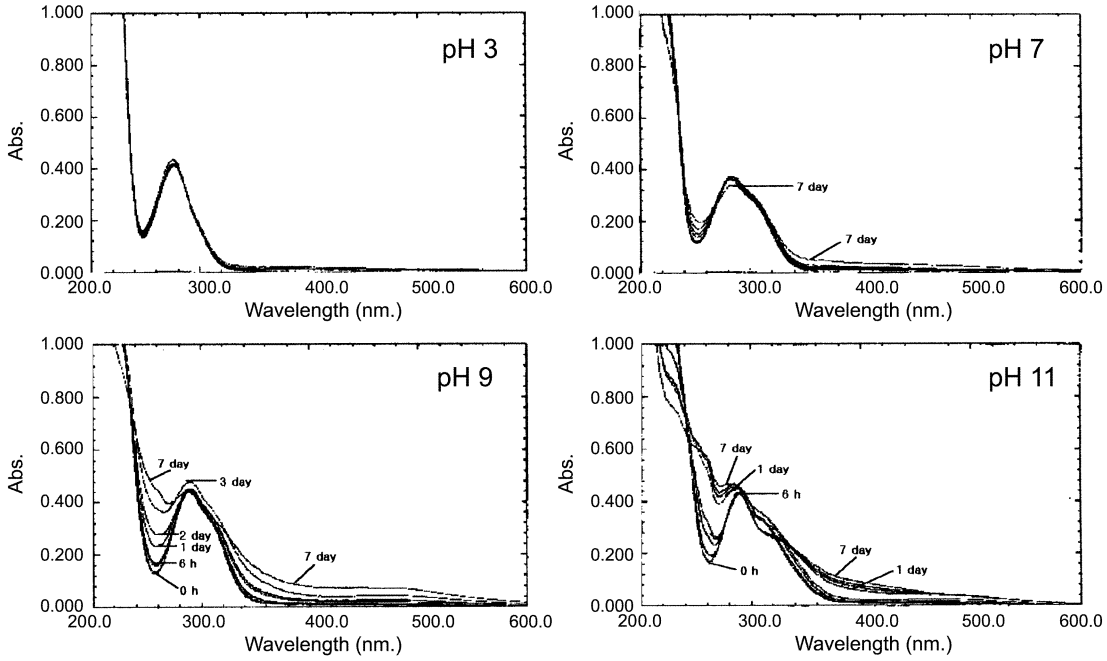


Fig. 5. Effect of pH(3~11) and time on the absorption spectra of (-)-epicatechin gallate at 0 time and after 1, 3, 6 hour and 1, 2, 3, 7 day

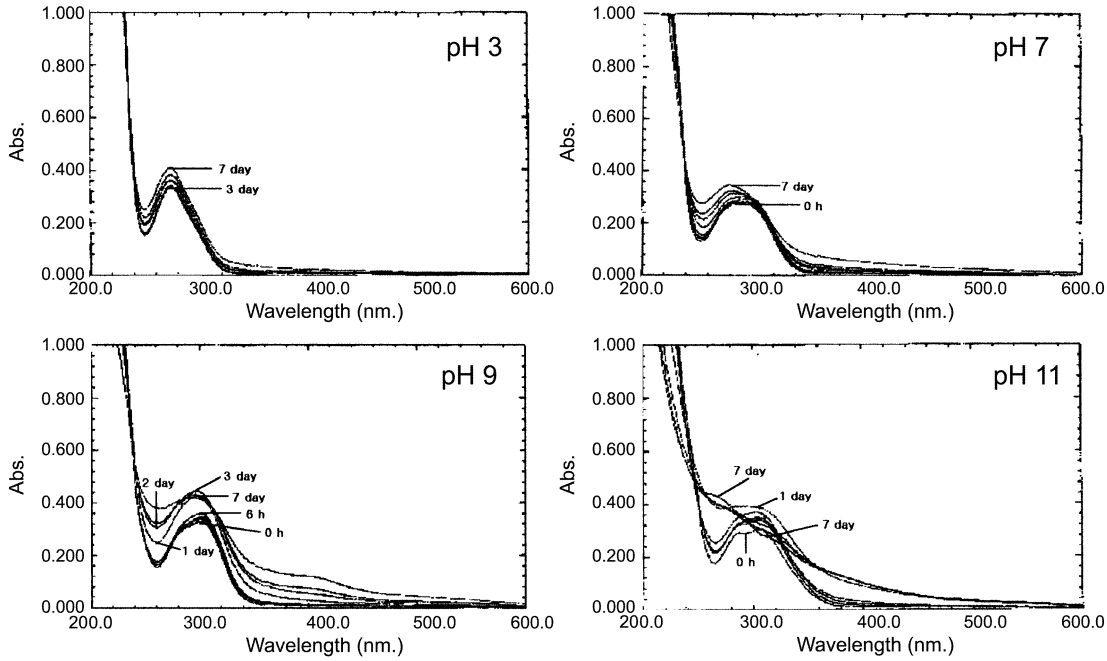


Fig. 6. Effect of pH(3~11) and time on the absorption spectra of (-)-epigallocatechin gallate at 0 time and after 1, 3, 6 hour and 1, 2, 3, 7 day

도가 증가되어지는 것을 알 수 있었다. 또한 pH 7, pH 9 및 pH 11에서는 400~430 nm에서 흡광도가 증가되는 것을 알 수 있었으며 pH가 높을수록 400~430 nm의 흡광도가 pH 7에서 2일째, pH 9에서 1일째, pH 11에서 6시간 후에 흡광도가 증가되기 시작하는 것을 알 수 있었다.

(-)-ECg의 흡광도 변화는 Fig. 5에서와 같이 pH 3(pH 5)과 pH 7에서는 최대흡수파장에서 변화가 거의 없지만 pH 9와 pH 11에서는 흡광도가 증가하였다. 그러나 (+)-C과 (-)-EC에 보여진 400~430 nm흡수파장에서 흡광도의 변화는 없었다.

(-)-EGCg의 흡광도 변화는 Fig. 6에서와 같이 pH 3, pH 7, pH 9, pH 11에서 흡광도가 증가되었고 pH 9와 pH 11에서 변화는 급격히 증가되었다. pH 7에서는 저장기간에 따라 최대흡수파장이 295 nm에서 279 nm로 이동되어졌고 pH 11은 1일째 이후로 최대흡수파장이 나타나지 않았다. 흡수파장 400~430 nm에서 흡광도의 변화는 없었다.

흡수파장 400~430 nm의 변화는 녹차의 갈변현상과 관계가 있을 것으로 생각되어진다. (+)-C과 (-)-EC의 흡광도 변화의 요인인 중합반응에 의한 것으로 생각되어지며 (-)-ECg와 (-)-EGCg는 gallic acid의 eater 결합으로 인해 400~430 nm흡광도의 변화가 나타나지 않는 것으로 생각되어진다.

이와 같이 pH가 낮은 산성에서는 안정하며 저장기간도 길고 pH가 높은 알칼리성에서는 불안정하며 저장기간이 짧은 것을 알 수 있었다. 따라서 녹차 catechin류를 효율적 · 안정적으로 이용하기 위해서는 저장 pH를 낮게 유지하여야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 순천향대학교의 2001년 학술연구지원(과제번호 : 20010031)으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

국문요약

시중에 유통되고 있는 녹차중의 catechin류에 대하여 열수추출 및 HPLC 분석을 통하여 함량을 조사하고 이를 효율적으로 이용하기 위하여 pH조건이 녹차 catechin류의 안정성에 미치는 영향에 대하여 분석하였다. 시판 중인 전남 보성산 녹차의 catechin류 함량은 (+)-catechin > (-)-EGCg > (-)-EGC > (-)-EC > (-)-ECg 순으로 추출되었고 Total catechin류의 함량은 103.72 mg/g이었다. 녹차에서 분리 · 정제되어진 catechin류인 (+)-catechin, (-)-EC, (-)-ECg, (-)-EGCg를 pH 3~11에 대한 안정성을 흡광도측정장치를 이용하여 측정하였다. 그 결과 catechin류의 pH에 대한 영향을 최대흡수파장 및 흡광도 변화로 보면 pH가 높을수록 (+)-catechin과 (-)-EC은 흡광도가 증가되었고 (-)-ECg와 (-)-EGCg는 최대흡수파장이 증가되었다. 또한 7일간 실온에서 저장하면서 기간에 따른 변화를 살펴본 결과에서 산성조건에서는 큰 변화가 없지만 알칼리조건에서는 흡광도가 증가되었다. (+)-catechin과 (-)-EC은 알칼리조건에서 흡수파장 400~430 nm에서 저장기간이 길수록 흡광도가 증가되었다. 이는 녹차의 갈변과 관계가 있을 것으로 생각되었다. 이상의 결과로, 녹차 Catechin 유도체의 pH 및 저장기간에 대한 영향은 ECg, EGCg에 gallic acid의 결합에 의한 것으로 생각되고, C, EC의 불안정은 중합반응으로 생각된다. 녹차 catechin 류는 대부분 산성에서 저장기간이 길고 안정한 것으로 나타났으나 생리활성이 강한 (-)-EGCg는 산성에서도 불안정한 것으로 나타났다. 결론적으로 녹차의 기능성 성분을 효율적으로 이용하기 위해서는 pH를 낮게 유지하여야 할 것으로 사료되어진다.

참고문헌

1. 김상희, 박종대, 이란숙, 한대석 : 침출수의 pH가 녹차 침출액 성분에 미치는 영향, 한국식품과학회지, **31**, 1024-128 (1999).
2. 여생규, 안철우, 이용우, 이태기, 박영호, 김선봉 : 녹차, 오룡차 및 홍차 추출물의 항산화효과, 한국식품영양과학회지, **24**, 299-304(1995).
3. 최성희, 이병호, 최홍대 : 시판 녹차중 카테킨의 함량 분석, 한국영양식량학회지, **21**, 386-389(1992).
4. 박춘옥, 진성현, 류병호 : 사람의 Low Density Lipoprotein에 대한 녹차의 항산화활성, 한국식품과학회지, **28**, 850-858 (1996)
5. Graham, H.N. : Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, *Prev. Med.*, **21**, 334-350(1992).
6. 원은경 : 고콜레스테롤 섭취토끼의 혈소판 활성화에 관한 녹차의 영향, 순천향대학교. 박사학위논문(2000).
7. 이주원, 신효선 : 녹차 물추출물의 항산화효과. 한국식품과학회지, **25**, 759-763(1993).
8. 김영숙, 정연화, 전순실, 김무남 : 온도와 수분활성을 달리한 녹차 저장중의 비효소적 갈변, 한국식품영양과학회지, **17**, 226-232(1988).

9. 김성수, 이미경, 한 억, 오상룡, 이성우 : 녹차생엽의 자숙 및 튀김에 의한 화학성분 변화, 한국식문화학회지, **5**, 229-233(1990).
10. Mendel Friedman and Hella S. Jurgens : Effect of pH on the Stability of Plant Phenoolic Compounds. *J. Agric. Food Chem*., **48**, 2101-2110(2000).
11. 김상희, 박종대, 이란숙, 한대석 : 침출수의 pH가 녹차 침출액 성분에 미치는 영향, 한국식품과학회지, **31**, 1024-1028 (1999).