

HPLC를 이용한 하동 녹차의 Catechin류, Alkaloid류 분석 및 항산화능 측정

이미희^{1†} · 이승언²

대구과학대학교 식품영양조리과^{1†}, 위덕대학교 외식산업학부²
(2013년 12월 11일 접수; 2013년 12월 30일 수정; 2013년 12월 30일 채택)

Analysis by HPLC of Catechins, Alkaloids and Antioxidant Activities in Hadong Green Tea Leaves

Mi-Hee Lee^{1†} · Sung-Un Lee²

[†]Department of Food & Nutrition & Cook, Daegu, 702-723, Korea
Department of Food Service Industry, Uiduk University, Gyeongju, 780-713, Korea
(Received December 11, 2013 ; Revised December 30, 2013 ; Accepted December 30, 2013)

요약 : 하동지역에서 생산되는 잎 녹차(우전, 세작, 중작, 대작)에 함유되어 있는 catechin류, alkaloid류 및 theanine를 HPLC를 이용하여 분석을 함과 동시에 녹차 추출물을 이용하여 총 페놀 물질과 항산화능을 측정하였다. Catechin류와 alkaloid류, theanine, 총 페놀 화합물의 함량은 물 추출물보다 80% 알코올 추출물에서 더 높았다. 총 catechin과 alkaloid의 함량은 80% 에탄올로 추출한 우전(172.33 mg/g, 30.80 mg/g)에서 가장 높았다. Theanine의 함량도 80% 에탄올 추출물에서 높았고 55.36에서 37.48 mg/g의 범위였다. 녹차의 총페놀 화합물은 우전에서 가장 높았고, DPPH법, FTC법 및 TBA법을 이용한 항산화 활성 측정에서도 우전에서 높은 결과를 나타내었다.

주제어 : 하동 녹차, 카테킨, 알카로이드, 테아닌, 총페놀화합물, 항산화 활성

Abstract : This study used HPLC to analyze the contents of catechins, alkaloids, theanine, total phenolic compounds and antioxidant activities of commercial Hadong green tea leaves(Uzen, Sezak, Jungzak, Daezak). The content of catechins, alkaloids, theanine, total phenolic compounds were lower by water extracts than by 80% ethanol-water extracts. Total catechin and alkaloid contents in Uzen(172.33 mg/g, 30.80 mg/g) by 80% ethanol extract were the highest. Theanine contents of 80% ethanol-water extracts ranged form 55.36 to 37.48 mg/g of tea leaves. Total phenolic compounds contents of green tea were higher than Uzen. Antioxidative of green tea by DPPH, FTC, TBA method were higher than that Uzen.

Keywords : Hadong green tea, catechins, alkaloids, theanine, total phenolic compounds, antioxidant activity

[†]Corresponding author (E-mail: coveymi@tsu.ac.kr)

1. 서론

차는 우리나라에서도 오래전부터 현재에 이르기 까지 꾸준히 음용되어 왔으며 발효와 제조 공정에 따라 차의 맛, 색, 향과 같은 관능적인 면에 차이에 영향을 주게된다[1-2]. 특히 녹차에는 카테킨이라는 성분이 풍부하여 차의 독특한 맛과 풍미에 영향을 줄 뿐만 아니라 관능적인면 이외에 기능적인 측면에서도 여러 가지 효과를 나타내고 있다[3]. 녹차의 주요성분인 catechin류는 (-)epigallocatechin (EGC) (-)catechin (C), (+)epicatechin (EC), (-)epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)gallocatechin-3-gallate (GCG), (-)epicatechin-3-gallate (ECG), (-)catechin-3-gallate (CG)와 caffeine (CAF), theobromine (TB), theophylline (TP)와 같은 alkaloid류 물질이 존재하는 것으로 알려져 있다 [4]. 이 물질들은 콜레스테롤 상승 억제 작용[5], 항종양 작용[6] 및 항산화 작용[7-8] 등의 여러 작용에 관한 보고가 알려져 있다. 또한 차에는 차의 색에 관여 하는 클로로필과 차의 단맛과 감칠맛에 관여하는 아미노산류인 테아닌이 함유되어 있으며 이것은 차에 독특한 풍미를 부여하여 사람을 안정하게 하고 스트레스 해소에 도움을 주며 항종양성에도 관여하는 것으로 보고되고 있다[9].

이와 같이 다양한 기능성을 가지고 있는 차의 품질을 결정하는 요소는 매우 다양하다. 차 잎의 수확시기, 크기, 색, 산지 등에 의하여 차의 품질 및 등급이 정해진다. 그러나 차의 품질에 따라 함유되어 있는 성분의 차이를 비교한 보고는 있으나 그 중에서도 catechin류, alkaloids류, theanine 함량과 품질과 그리고 항산화능에 관한 의 관계에 대한 연구는 더 필요한 실정으로 사료된다. 최근에는 catechin류, theaflavin류, methylxanthin류를 HPLC로 동시에 분석하는 방법이 확립되어 차에 함유되어있는 유효성분 분석에 효과적으로 이용되고 있다[10]. 따라서 본 연구에서는 일반 시판 잎 녹차에 함유되어 있는 catechin류, alkaloid류 및 theanine를 HPLC를 이용하여 분석을 함과 동시에 녹차 추출물을 이용하여 총 페놀 물질과 항산화능을 측정함으로써 일반 시판 잎차의 등급에 따른 유효 성분과 그 기능성 물질에 대한 기초 자료로 제공하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용한 차는 일반적으로 시중에서 판매되는 우전(Uzun), 세작(Sezack), 중작(Jungzack), 대작(Daezack)은 경상 남도 하동에서 생산된 것을 구입하여 실험 재료로 사용하였다. 구입 시기는 2013년 7월 이었다.

Folin-Ciocalteu's phenol 시약, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Fe^{2+} -ascorbate, 2-thiobarbituric acid, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epigallocatechin-3-gallate, gallocatechin-3-gallate, epicatechin-3-gallate, catechin-3-gallate, caffeine, theobromine, theophylline은 Sigma(St, Louis, MO, USA)제품을 사용하였다. HPLC grade acetonitrile과 ethanol, analytical grade potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 및 그 밖의 시약은 특급을 사용하였다.

2.2. 시료 추출 및 실험 방법

2.2.1. 시료 추출

실험에 사용한 찻잎은 에탄올 및 물 추출법[10]에 따라 에탄올 추출은 각 시료를 flask에 넣고 80% 에탄올 용액(ethylalcohol : water, 80:20, v/v) 50 mL을 첨가한 후 60°C의 water bath에서 15분간 추출하였다. 이것을 5분간 초음파 처리하고, 이액을 glass filter를 이용하여 흡입여과(Whatman filter paper No.2)하였다. 남은 잔사에 소량의 80% 에탄올로 2회 세척을 한 후 그 여액을 더하여 100 mL로 정용하였다. 물 추출도 에탄올 추출과 동일한 방법으로 하였다.

2.2.2. HPLC 분석방법

차 추출액을 0.45 μ m의 millipore nylon filter(Badford, MA)로 여과하여 HPLC에 직접 주입하여 분석하였다. 분석조건은 Table 1과 같다. 결과는 표준물질의 retention time과 비교하여 3번 반복 측정하였고 표준시료의 peak 면적에 의해 산출된 값을 기준으로 평균과 표준편차로 나타내었다.

Table 1. Apparatus and Condition of HPLC for Analysis

| | |
|--------------------|--|
| Instrument | Hitachi Liwuud Chromatograph ; model 655- II |
| | Injector ; Hitachi 655A-40 autosampler |
| | Detector ; Simadzu phodiode assay UV-VIS detector (model SPD-10vp) |
| Column | Inertsil ODS-3V (5 μ m particle diameter, GL Science) |
| Solvent | Acetonitrile / 20mM KH ₂ PO ₄ |
| Column Temperature | 30°C (Simadzu column oven CTO-10VP) |
| Flow Rate | 0.8 mL/min |
| Injection Volume | 20 μ L |
| Dector Wavelength | 280 nm |

2.2.3. Theanine 분석

Theanine 분석은 Kozukue et. al.,(1982)의 방법을 이용하였다. 차 추출물 50 μ L를 시험관에 넣고 30 °C에서 감압 건조한 후 1% NaHCO₃ (2 mL)와 FDNB (0.1 mL)를 첨가하여 섞은 후 40 °C의 어두운 곳에서 3시간 반응 시킨다. 초산에틸 2 mL를 첨가하여 여분의 FDNB를 제거한다. 0.5 N HCl (0.5 mL)을 첨가한 후 초산에틸 1 mL를 첨가하여 추출하였다. 이 과정을 5회 반복하여 모아진 DNP-아미노산액을 30 °C에서 감압 건조하였다. 건조 후 남은 잔사에 80% 에탄올 2 mL를 첨가하여 녹인 후 15,000 rpm으로 2분 동안 원심분리하여 그 상층액을 HPLC에 직접 주입하여 theanine을 분석하였다.

2.2.4. 총 페놀 화합물 측정

총 페놀 화합물의 함량은 Folin-Denis법으로 하였다. 샘플용액 100 μ L에 증류수 1 mL와 페놀 시약 100 μ L를 첨가한 후, 6분간 실온에 방치하고 10% Na₂CO₃ 2 mL, 증류수 2 mL를 첨가하여 혼합한 후 60 분간 실온에 방치한 다음 분광광도계 (UV-VIS spectro photometer, UV-MINI 1240, Shimadzu, Japan)를 이용하여 725 nm에서 총 페놀 물질 함량을 측정하였다. 표준물질의 검량선은 chlorogenic acid를 이용하였다. 총 페놀 함량을 나타내기 위하여 mg chlorogenic acid equivalents(CAE)/g dry weight를 이용하였다.

2.2.5. 항산화 활성 측정

항산화 활성 측정은 1,1-diphenyl-2-

picrylhydrazyl (DPPH법), Fe²⁺/ascorbate (FTC 법) 2-thiobarbituric acid (TBA법)을 이용하여 측정하였다. DPPH법에 의한 전자 공여능의 측정은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 에탄올에 용해시켜 1 mM 용액을 제조하였다. 이 용액을 시료 100 μ L와 혼합한 후, 실온에서 20 분 방치한 후, 자외선-가시광선 분광광도계 (UV-VIS spectro photometer, UV-MINI 1240, Shimadzu)를 이용하여 525 nm에서 측정하였다. DPPH에 의한 항산화활성(%)의 계산식은 다음과 같다.

항산화활성(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Sample 흡광도} - \text{Blank 흡광도}}{\text{Control 흡광도}}\right) \times 100$$

FTC법을 이용한 항산화 활성 측정은 시료추출액 4 mL에 2.51 % linoleic acid 4.1 mL, 50 mM 인산 완충용액(pH 7.0) 8 mL, 증류수 3.9 mL를 첨가하여 용액을 잘 혼합한 후 40°C의 어두운 곳에서 항온처리하여 과산화물을 유도시켰다. 이 혼합용액 0.1 ml, 75% ethanol 9.7 ml, 30%-ammonium thiocyanate 0.1 ml를 순서대로 첨가한 후 잘 섞는다. 여기에 2×10^{-2} M ferrous chloride(3.5% HCl에 녹인 것)를 0.1 ml 가한 후, 잘 섞이도록 한 후 정확히 3분 후에 자외선-가시광선 분광광도계 500 nm에서 일정한 간격(24시간)을 두고 흡광도를 측정하였다.

TBA (2-thiobarbituric acid)을 이용한 항산화

활성 측정은 시료 추출액 4 mL에 2.51% linoleic acid 4.1 mL, 50 mM 인산 완충용액 (pH 7.0) 8 mL, 증류수 3.9 mL를 첨가한 용액을 잘 혼합하여 40°C의 어두운 곳에서 항온처리 하면서 일정한 간격으로 측정하였다. 각 시료 용액 1 mL를 원심분리 튜브에 넣고, 20 % trichloroacetic acid (TCA) 2 mL와 1% 2-thiobarbituric(TBA) 2 mL를 가하여 혼합한 후 열탕에서 10분간 가열 처리한 다음 흐르는 물에서 냉각하였다. 그 후에 5°C, 3000 rpm에서 20분간 원심분리하고 그 상등액을 532 nm에서 측정하여 TBA값을 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 녹차 추출물의 catechin류 및 alkaloid류 함량

하동지역에서 생산된 잎차의 종류에 따른 catechin류 및 alkaloid류를 분석한 그 결과를 각각 table 2와 3에 나타내었다. 본 실험에서 catechin류 중에서는 가장 많은 양을 차지하는 것은 EGCG 였으며 다음으로는 EGC와 ECG의 함량도 높은 경향을 나타내었다. 우전을 80% 에

탄올로 추출한 시료에서 78.43 mg/g으로 가장 많았으며 이것은 총 catechin류 중 약 45%에 해당되는 양이었다. EGC는 31.24 mg/g으로 약 18%, ECG는 27.48 mg/g으로 약 16%를 차지하여 이 세가지 물질이 전체에 약 80%를 차지하였다. 이것은 catechin류에서 EGCG가 총 catechin류의 45-65% 정도를 차지한다는 보고와 비슷한 경향을 나타내었다[11-12]. 총 catechin류의 양을 보면 우전에서 가장 높았고 대작에서 그 함량이 낮았다. 추출 용매에서는 물 추출물 보다는 80% 에탄올 추출물에서 catechin류의 추출물에서 그 함량이 높은 경향을 나타내었다. 유기농 녹차의 성분을 분석한 연구 결과를 보면 채엽 시기에 따른 녹차의 성분 변화에 대하여 있었음을 보고 하였고 그중에서도 채엽 시기에 따라서 catechin류의 변화가 있다는 것을 알 수 있었다[13].

본 실험에서 선택한 우전, 세작, 중작, 대작은 녹차의 품질에 따른 분류 일수도 있으나 채엽 시기에 따라 각각을 분류 하는 경우가 일반적이므로 채엽 시기에 따른 연구 결과와 비교 하여보았을 때 유사한 결과임을 알 수 있었다. EGCG는 많은 기능적 효과를 가지고 있다는 연구 결과 [14]를 볼 때 실험 결과에서 나타나듯이 항산화 효과에도 많은 영향을 줄 수 있을 것으로 생각이

Table 2. Contents of Catechins in Hadong Green Tea Leaves Extracted with Water and 80% Ethanol

| Sample | EGC | C | EC | EGCG | GCG | ECG | CG | Total CATS |
|--------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------|
| A-E | 31.24±0.526 ^{a*} | 13.45±0.17 ^c | 9.43±0.18 ^c | 78.43±1.06 ^c | 5.86±0.33 ^{bc} | 27.48±0.27 ^b | 6.34±0.23 ^d | 172.23 |
| A-W | 17.45±0.23 ^{ab} | 7.42±0.26 ^{ab} | 5.47±0.35 ^b | 45.24±0.75 ^{ab} | 3.98±0.20 ^b | 12.24±0.99 ^d | 4.28±0.21 ^{bc} | 96.08 |
| B-E | 28.43±0.18 ^c | 12.42±0.21 ^{ab} | 8.24±0.27 ^a | 75.42±0.21 ^a | 5.47±0.39 ^a | 24.35±0.63 ^{ab} | 5.89±0.17 ^a | 160.22 |
| B-W | 16.43±0.14 ^b | 6.17±0.23 ^a | 4.27±0.16 ^b | 42.19±0.32 ^a | 3.18±0.52 ^c | 11.48±0.45 ^a | 4.07±0.67 ^b | 87.79 |
| C-E | 24.35±0.34 ^{bc} | 11.49±0.57 ^a | 7.48±0.27 ^{ab} | 72.46±0.50 ^c | 4.72±0.24 ^a | 23.47±0.80 ^a | 5.07±0.47 ^{ab} | 149.04 |
| C-W | 14.24±0.23 ^{cd} | 4.78±0.21 ^d | 3.24±0.78 ^b | 40.18±0.28 ^a | 2.51±0.23 ^{bc} | 10.48±0.25 ^b | 3.84±0.85 ^a | 79.27 |
| D-E | 21.48±0.25 ^a | 10.24±0.17 ^d | 6.97±0.74 ^{ab} | 68.42±0.67 ^b | 4.07±0.25 ^a | 20.96±0.16 ^c | 4.89±0.31 ^c | 137.03 |
| D-W | 12.45±0.49 ^d | 4.05±0.23 ^d | 2.86±0.61 ^{bc} | 34.12±0.51 ^{ab} | 2.18±0.11 ^d | 9.15±0.27 ^{ab} | 3.15±0.54 ^d | 67.96 |

*Mean±SD (n=3, mg/g dry wt), sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: W. water extracts; E, 80% ethyl alcohol extracts: EGC, epigallocatechin; C, catechin; EC, epicatechin; EGCG, epigallocatechin-3-gallate; GCG, galliccatechin-3-gallate; ECG, epicatechin-3-gallate; CG, catechin-3-gallate; Total CATS. total catechins. Different superscriptive letters in row indicate significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 3. Contents of Alkaloids in Hadong Green Tea Leaves Extracted with Water and 80% Ethanol

| Sample | CAF | TB | TP | Total ALKS |
|--------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| A-E | 28.12±0.56 ^{a*} | 2.34±0.27 ^b | 0.34±0.18 ^d | 30.80 |
| A-W | 24.76±0.72 ^{ab} | 2.15±0.18 ^{bc} | 0.24±0.95 ^{bc} | 27.15 |
| B-E | 27.49±0.08 ^b | 2.16±0.01 ^b | 0.28±0.77 ^b | 29.93 |
| B-W | 20.41±1.43 ^d | 2.04±0.10 ^a | 0.18±0.26 ^a | 22.63 |
| C-E | 26.48±0.10 ^a | 2.07±0.27 ^d | 0.21±0.57 ^b | 28.76 |
| C-W | 20.07±0.33 ^a | 1.83±0.01 ^a | 0.12±0.58 ^a | 22.02 |
| D-E | 24.75±1.23 ^{ab} | 1.85±0.07 ^a | 0.14±0.24 ^a | 26.74 |
| D-W | 19.24±0.79 ^d | 1.71±0.13 ^{ab} | 0.09±0.21 ^{bc} | 21.04 |

*Mean±SD (n=3, mg/g dry wt), sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: W. water extracts; E, 80% ethyl alcohol extracts: CAF, caffeine; TB, theobromine; TP, theophylline; Total ALKS, total alkaloids. Different superscriptive letters in row indicate significant difference at $p<0.05$ by Duncan's multipule range test.

Table 4. Contents of Theanine in Hadong Green Tea Leaves Extracted with Water and 80% Ethanol

| Sample | Extracting solvents | |
|--------|-------------------------|------------|
| | 80%(v/v) Ethanol | Water |
| A | 55.36±0.26 [*] | 42.18±0.42 |
| B | 50.12±0.46 | 38.46±0.12 |
| C | 43.28±0.43 | 30.47±0.74 |
| D | 37.48±0.92 | 27.49±0.81 |

*Mean±SD (n=3, mg/g dry wt), sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: W. water extracts; E, 80% ethyl alcohol extracts

된다.

총 alkaloid류의 함량에서는 CAF의 함량이 가장 많았고, TP의 함량은 모든 시료에서 낮았다. 또한 물 추출물보다 80% 에탄올 추출물에서 약간 높았으며 녹차의 종류에 따른 차이가 있었으나 catechin류와 같은 큰 차이는 보이지 않았다.

3.2. 녹차 추출물의 theanine 함량 측정

차류에 함유되어있는 아미노산인 종류인 theanine은 차에 감칠맛에 영향을 주는 물질이다. Theanie 분석은 각 추출물을 DNP 유도체로 만든 다음 표준품인 DNP-theanine과 차 추출물과

표준품인 DNP-theanine과 차 추출물의 DNP유도체의 용액을 일정량 혼합한 후 HPLC로 분석하는 spiked method를 이용하여 theanine을 측정하였다. 녹차 추출물에 함유 되어있는 theanine의 함량을 나타낸 것이 table 4이다. Theanine의 양은 열수로 추출한 시료보다 80% ethanol을 이용하여 추출한 시료에서 약간 높은 경향을 나타내었다.

차의 종류에 따른 theanine의 양은 80% 에탄올 추출물의 경우 우전이 55.36 mg/g, 세작이 50.12 mg/g, 중작이 43.28 mg/g, 대작이 37.48 mg/g으로 가장 많았던 우전이 가장 함량이 적었

던 대작 보다 약 1.4배 정도 함량이 많았다. 이와 같은 결과들로부터 차잎에 함유되어있는 theanine의 용출에는 차 잎의 품질과 추출 용매가 theanine의 추출에 영향을 줄 수 있는 인자라 는 것을 알 수 있었다.

3.3. 총 페놀화합물 함량 및 라디칼 소거능

총 페놀화합물의 함량은 우전이 다른 종류의 차보다 약간 높았고 세작, 중작, 대작의 순이었다 (table 5). 추출 용매에 따른 영향은 물 추출물 보다 알코올 추출물에서 많은 경향을 나타내었다. 녹차의 페놀 물질의 추출 조건에 관한 여러 연구가 이루어지고 있으며 열수와 여러 유기 용매를 이용한 추출에서도 수용성 용매 보다는 알코올성 용매에서 그 양이 많다는 결과가 보고 되고 있다 [15]. 또한 같은 조건이라도 초음파를 이용한 추출법은 총 페놀화합물의 추출 수율을 높이는데 더 도움을 준다는 연구 결과[16]와 연관 지어 볼 때 본 실험에서는 열수와 알코올성 용매로 추출한 후 추가적으로 초음파를 가하는 추출방법을 사용한 것이 총 페놀 물질의 추출에 좋은 영향을 주었을 것으로 판단된다. 총 페놀화합물은 항산화 활성과 밀접한 관계를 가지고 있으며 녹차의 페놀 화합물이 항산화물질로서 라디칼 소거능이 있음을 보고하고 있다[17].

DPPH는 짙은 보라색을 띠는 물질로서 항산화

물질인 아스코르빈산, 토코페롤, 방향족 아민류에 의해서 환원되어 짙은 보라색이 탈색되는 정도를 측정함으로써 항산화물질의 전자공여능을 측정하는 유용한 방법으로 보편적으로 이용되고 있다 [14, 18]. Table 5는 대조군을 100으로 하였을 경우 녹차 추출물의 DPPH 라디칼 소거능 [RSA(%)]을 측정한 결과이다. 용매의 종류는 물 추출물 보다는 알코올에서, 차의 종류에서는 대작 보다는 우전에서 라디칼 소거능이 강하게 나타났다. 총 페놀 화합물과의 연관성을 볼 때 그 양이 많았던 차의 시료에서 역시 라디칼 소거능이 강한 결과로 볼 때 페놀 화합물과 항산화능에는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었고 이것은 녹차의 기능성 성분이 항산화 물질로서 작용을 한다는 연구 결과[17]와 일치하는 결과였다.

3.4. Fe²⁺/ascorbate (FTC법), 2-thiobarbituric acid (TBA법)을 이용한 항산화 활성 측정

Fig. 1과 Fig. 2에서 천연의 항산화제(토코페롤, 아스코르빈산)나 시료를 첨가하지 않은 대조군은 실험을 시작한 1일부터 큰 폭으로 변화가 일어나 흡광도가 급격하게 증가하여 산화가 매우 빠르게 진행되었음을 알 수 있었다. 대조군의 흡광도는 실험 6일째에 최대로 나타났고, 7일째에는 흡광도가 감소하였기 때문에 FTC법, TBA법을 이용

Table 5. Contents of Total Phenolics Compounds in Hadong Green Tea Teaves Extracted with Water and 80% Ethanol

| Sample | Total phenolics | RSA(%) |
|--------|-----------------|--------------|
| A-E | 210.46±2.87* | 81.45±1.37** |
| A-W | 135.13±1.88 | 54.64±2.45 |
| B-E | 200.16±1.71 | 76.42±1.38 |
| B-W | 124.68±1.16 | 50.73±1.36 |
| C-E | 184.13±0.87 | 70.36±2.20 |
| C-W | 111.46±0.91 | 46.79±1.29 |
| D-E | 173.46±1.07 | 65.12±0.97 |
| D-W | 101.38±1.13 | 42.16±0.47 |

*Mean±SD (n=3, mg/g dry wt), sample: A.uzun: B.sezack: C.jungzack: D.daezack: W. water extracts; E, 80% ethyl alcohol extracts: The level of total phenolics is expressed as mg chlorogenic acid equivalents/g dry weight. **RSA= radical-scavenfing activity.

한 실험기간을 7일간으로 설정하여 항산화 활성을 측정하였다. 녹차 추출물을 첨가한 시료의 항산화활성은 우전에서 보다 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 다른 시료첨가 군도 5 mM의 ascorbic acid 보다는 약하지만 1 mM의 tocopherol보다는 강하다는 것도 알 수 있었다.

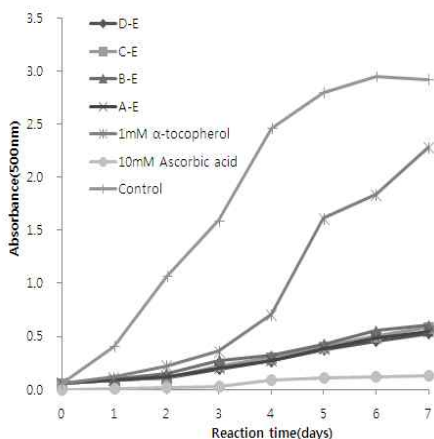


Fig. 1. Antioxidative Activities of Hadong Green Tea 80% Ethanol Extracts by FTC Method.
Sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: E, 80% ethyl alcohol extracts

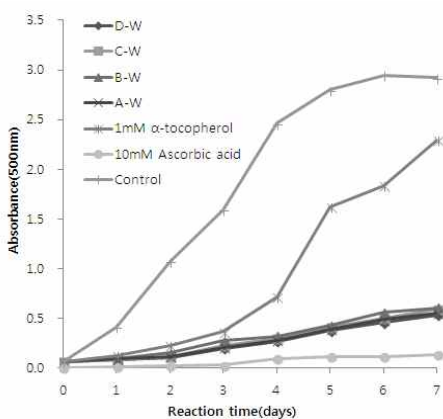


Fig. 2. Antioxidative Activities of Hadong Green Tea Water Extracts by FTC Method.
Sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: W. water extracts

Fig. 3과 Fig. 4는 TBA(2-thiobarbituric acid) 법을 이용하여 녹차의 물 추출물과 80% 에탄올 추출물을 첨가하여 항산화 활성을 측정한 결과로서 FTC법에서 대조군의 항산화 활성의 변화가 있었던 6일째의 실험 측정치를 대조군을 100으로 환산 하였을 경우 각 시료의 항산화활성(%)을 측정하였다. 이 실험 결과도 항산화 활성의 변화를 측정한 DPPH법, FTC법과 동일한 경향을 나타내었다.

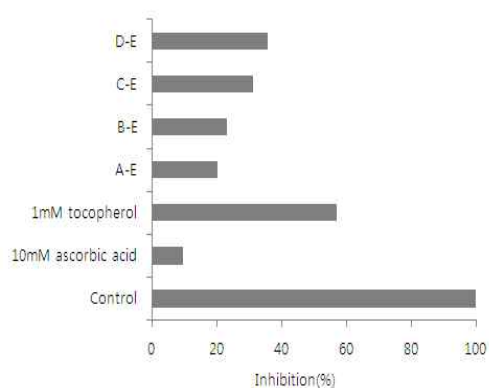


Fig. 3. Antioxidative activities of Hadong Green Tea 80% Ethanol Extracts by TBA Method.
Sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: E, 80% ethyl alcohol extracts

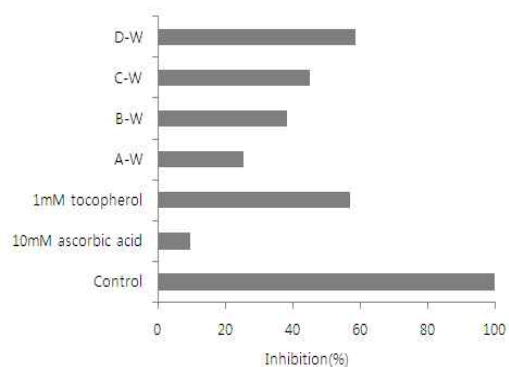


Fig. 4. Antioxidative Activities of Hadong Green Tea Water Extracts by TBA Method.
Sample: A. uzun: B. sezack: C. jungzack: D. daezack: W. water extracts

차의 종류(우전, 세작, 중작, 대작)에 따른 catechin류, alkaloid류, theanine과 총 페놀물질의 함량은 차이가 있었다. 이것은 채엽의 시기별로 분류한 연구와 비교 하였을 때 채엽 시기에 따라 차의 종류를 나누었을 때의 결과와 동일함을 알 수 있었다[19, 20]. 이것은 채엽 시기가 빠른 고품질이 우전은 기능성 물질의 함량도 높았고 감칠맛을 주는 theanine의 함량도 높아 맛과 기능면에서 좋다는 것을 의미한다고 할 수 있을 것이다.

4. 결론

하동지역에서 생산되는 잎 녹차(우전, 세작, 중작, 대작)에 함유되어 있는 catechin류, alkaloid류 및 theanine를 HPLC를 이용하여 분석을함과 동시에 녹차 추출물을 이용하여 총 페놀 물질과 항산화능을 측정하였고 결과는 다음과 같다.

1. Catechin류와 alkaloid류, theanine의 함량은 우전, 세작, 중작, 대작의 순으로 함량에 차이가 있었고 catechin류 중에서는 EGCG, alkaloid류에서는 CAF의 함량이 높았다.
2. 총 페놀화합물의 함량은 우전이 다른 종류의 차보다 약간 높았고 세작, 중작, 대작의 순이었다. DPPH법, FTC법, TBA법을 이용한 항산화 활성은 총 페놀 화합물이 많았던 우전에서 높았다.
3. 차의 종류(우전, 세작, 중작, 대작)에 따른 catechin류, alkaloid류, theanine과 총 페놀물질의 함량은 차이가 있었다. 채엽의 시기별로 분류한 연구와 비교 하였을 때 채엽 시기에 따라 차의 종류를 나누었을 때의 결과와 동일함을 알 수 있었다.
4. 채엽 시기가 빠른 고품질이 우전은 기능성 물질의 함량도 높았고 감칠맛을 주는 theanine의 함량도 높아 맛과 기능면에서 좋다는 것을 의미한다고 할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 논문은 2013년도 대구과학대학교 교육역량 강화사업단의 지원을 받아 수행된 연구입니다. 관계자 여러분께 감사드립니다.

References

1. J. Peterson, J. Dwyer J, S. Bhagwat, D. Haytowitz, J. Holden, A. L. Eldridge, G. Beecher, and J. Aladesanmi, Major Flavonoids in Dry Tea. *J Food Compos. Anal.*, **18**, 487 (2005).
2. M. Yasuda, M. Kondo, T. Sonda, K. Takedomi, S. Eguchi, and A. Eguchi, The Effects of Tea Manufacturing Methods on the Contents of Chemical Components and Antioxidative Activity in Tea Infusions. *Food Sci, Biotechnol*, **13**, 156 (2004).
3. M. J. Lee, D. J. Kown, and O. J. Park, The Comparison of Antioxidant Capacities and Catechin Contents of Korean Commercial Green, Oolong, and Black Teas. *Korean J. Food Culture*, **22**, 449 (2007).
4. J. H. Wee, J. H. Moon, and K. H. Park, Catechin Content and Composition of Domestic Tea Leaves at Different Plucking Time. *Korean J Food Sci., Technol*, **31**, 20 (1999).
5. C. A. Bursill, M. Abbey, and P. D. Roach, A Green Tea Extract Lowers Plasma Cholesterol by Inhibiting Cholesterol Synthesis and Upregulating the LDL Receptor in the Cholesterol-fed Rabbit. *Atherosclerosis*, **193**, 86 (2007).
6. M. Suganuma, S. Okabe, N. Sueoka, E. Sueoka, S. Matsuyama, K. Imai, K. Nakachi, and H. Fujiki, Green Tea and Cancer Chemoprevention. *Mutat. Res - Fund. Mol. M*, **428**, 339 (1999).

7. Y. Yoshida, M. Kiso, and T. Goto, Efficiency of the Extraction of Catechins from Green tea. *Food Chem*, **67**, 429 (1999).
8. S. Coimbra, E. Castro, P. Rocha-Pereira, I. Rebelo, S. Rocha, and A. Santos-Silva, The Effect of Green tea in Oxidative Stress. *Clin. Nutr.*, **25**, 790 (2006).
9. M. Friedman, B. E. Mackey, H. J. Kim, I. S. Lee, K. R. Lee, and, S. U. Lee, E. Kozukue, and N. Kozukue, Structure-Actibity Relationships of Tea Compounds Against Human Cancer Cells. *J. Agric. Food. Chem*, **55**, 243 (2007).
10. M. Friedman, S. Y. Kim, S. J. Lee, K. R. Lee, and N. Kozukue, HPLC Analysis of Catechins, Theaflavins, Caffeine, and Theobromin in Seventy-seven Teas: Comparison of Water and 80% Ethanol-Water Extracts. *J. Agric. Food. Chem*, **56**, 532 (2005).
11. S. G. Yeo, C. W. Ahn, I. S. Kim, and Y. B. Park, Antimicrobial Effect of Tea Extracts from Green Tea, Oolong Tea and Black tea. *J. Korean Sco. Food Nutr.*, **24**, 293 (1995).
12. J. H. Oh, E. H. Kim, J. L. Kim, Y. I. Moon, Y. H. Kang, and J. S. Kang, Study on Antioxidant Potency of Green Tea by DPPH Method. *J. Korean Sco. Food Nutr.*, **33**, 1079 (2004).
13. S. H. Kim, D. Han, and J. D. Park, Changes of Some Chemical Compounds of Korean (Posong) Green Tea According to Harvest Periods. *Korean J. Food Sci. Technol*, **36**, 542 (2004).
14. K. Kondo, M. Kurihara, N. Miyata, T. Suzuki, and M. Toyoda. Scavenging Mechanisms of (-)-Epigallocatechin gallate and (-)-Epicatechin gallate on Peroxyl Radicals and Formation of Superoxide Duringthe Inhibitory Action. *Free Radical Biol. Med.* **27**, 855 (1999).
15. N. Turkmen, F. Sari, and Y. S. Velioglu. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem*. **99**, 835 (2006).
16. H. Koiwai, and N. Masuzawa. Extraction of catechins from green tea using ultrasound. *Jpn. J. Appl. Phys.* **46**, 4936 (2007).
17. C. Chen, H. R. Tang, L. H. Sutcliffe, and P. S. Belton. Green tea polyphenols react with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radicals in the bilayer of liposomes: Direct evidence from electron spin resonance studies. *J. Agr. Food Chem*. **48**, 5710 (2000).
18. D. Villano, M. S. Fernandez-Pachon, M. L. Moya, A. M. Troncoso and M. C. Garcia-Parrilla. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. **71**, 230 (2007).
19. B. K. Kim, C. E. Park, K. J. Park, J. H. Lim, J. W. Jeong, S. W. Jeong and C. W. Cho, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Green Tea at Different Harvest Time. *J East Asian Soc Dietary Life*. **19**, 570 (2009).
20. K. Y. Park, S. G. Gil, T. G. Nam, Y. J. Kim, Y. R. Kim and D. O. Kim, Comparative Analysis of Catechins and Antioxidant Capacity in Various Grads of Organic Teas Grown in Boseoing, Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **41**, 82 (2009).