

시판 녹차, 홍차, 오롱차의 항산화 및 상승효과

이 호 선 · 손 종 연[†]

국립 한경대학교 식품공학과 식품생물산업연구소

Antioxidant and Synergist Effect of Extract Isolated from Commercial Green, Oolong and Black Tea

Ho-Sun Lee and Jong-Youn Son[†]

Department of Food Science and Technology, Institute of Food Industry and Biotechnology, Hankyong National University*

Abstract

The antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea was investigated. The extraction yields of crude catechin were green tea 5.4%, oolong tea 3.5%, and black tea 2.5%. Green tea, oolong tea and black tea of crude catechin showed antioxidant activity at concentrations of 200ppm, and the oolong tea showed highest antioxidant effect. The browning intensities(at 420 nm) of green, oolong and black tea were 0.140, 0.582 and 0.915, respectively and green tea showed highest hydrogen donating ability(HDA) and than followed by oolong or black tea.

Also, when the crude catechin(100 ppm) was used in combination with α -tocopherol(50 ppm) and ascorbyl palmitate(50 ppm), the crude catechin showed very strong synergistic effect, comparable to that of crude catechin(200 ppm).

Key words : green tea, oolong tea, black tea, antioxidant, synergist.

서 론

차잎 중에는 폴리페놀 성분이 10~25%로 비교적 많이 함유되어 있으며, 식용유지에 대한 항산화 작용 이외에 고혈압과 동맥경화의 억제작용, 과산화지질의 생성 억제에 의한 노화예방, 중성지질의 생성억제에 따른 비만 방지, 수은이나 카드뮴과 같은 유독성의 중금속과 결합과 쉽게 결합하거나 담배의 니코틴과 같은 알칼로이드 성분과 쉽게 결합하여 해독작용을 나타내는 등 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다¹⁻⁶⁾.

차 중에 함유되어 있는 대표적인 생리활성 물질인 카테킨류는 차잎 중에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물의 75% 이상을 차지하며, 주요 카테킨류로는 EC((-)

-Epicatechin), ECg((-)-Epicatechin gallate), EGC((-)-Epigallocatechin), EGCg((-)-Epigallocatechin gallate), GC(gallocatechin)가 있다⁷⁻⁹⁾. 이러한 차들의 알코올 및 물 추출물의 카테킨 성분은 항산화 작용이 강한 것으로 밝혀지고 있으며, 녹차로부터 분리한 4종의 카테킨류 중에서 약리적 효능이 가장 강한 EGC가 가장 강한 항산화력이 있는 것으로 보고되고 있다¹⁰⁾.

그러나 녹차 추출물은 합성 항산화제에 비해 그 효과가 약하고 가격이 높기 때문에 차 추출물을 효과적으로 분리, 정제 방법이나 항산화력을 높이는 상승제에 관한 연구가 이루어지고 있다¹¹⁻¹³⁾.

차 카테킨 등과 같은 폴리페놀 화합물은 유기산, tocopherol, ascorbic acid 및 ascorbyl palmitate 등의 첨가에 의해서 항산화효과가 상승작용을 나타내는 사실

[†] Corresponding author : Jong-Youn Son

이 오래전부터 알려져 왔다. 한¹⁴⁾은 어유의 산화 안정성을 높이기 위해 ascorbic acid, tocopherol, lecithin 등 세가지 성분을 함께 첨가한 경우, 2가지 성분을 함께 첨가한 경우보다 더 좋은 상승 효과를 나타냈다고 보고하였다.

지금까지의 상승제에 관한 연구는 1종류의 항산화제에 1종류의 상승제를 병용한 2성분 항산화제 시스템에서 행한 것이 대부분이다. 차카테킨과 같은 폴리페놀 화합물들은 단독 또는 2성분 항산화시스템(binary antioxidant system)보다는 1종류의 항산화제에 2종류의 상승제를 병용한 3성분 항산화 시스템(ternary antioxidant system)에서 항산화 효과를 보다 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 실험은 시판 녹차, 오롱차 및 홍차에서 추출된 조카테킨 조성 및 이들 카테킨의 2성분 항산화 시스템, 3성분 항산화 시스템의 항산화 효과를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 녹차, 오롱차, 홍차시료는 국내에서 시판되고 있는 tea bag 제품을 구입하여 사용하였다. 추출에 사용한 chloroform, ethyl acetate는 일급시약, 이외의 분석용 시약들은 모두 특급시약을 사용하였다.

2. 조카테킨의 조제

녹차, 오롱차 및 홍차에 5배의 증류수를 가하고 5분간 환류 냉각하에서 각각 열수 추출한 후 여과(Whatman No. 2)하여 물 추출물을 얻었다. 이 물 추출물에 caffeine을 제거하기 위하여 동량의 클로로포름을 가한 후 그 수용액 층만을 분리하여 ethyl acetate로 3회 추출하고, 다시 이 ethyl acetate층에 소량의 물을 가하여 40°C에서 감압농축하여 얻어진 수용액을 동결 건조하여 조카테킨을 조제하였다.

3. HPLC에 의한 카테킨류의 조성

녹차, 오롱차 및 홍차 중의 카테킨 조성은 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 측정하였다. 동결건조하여 얻어진 조카테킨은 ethyl acetate에 녹여 0.45 μ l millipore filter로 여과하여 사용하였다. 사용한 HPLC의 분석조건은 Table 1과 같았다.

4. 항산화 효과 측정

각각의 차엽에서 추출한 조카테킨을 1ml 에탄올에

Table 1. The specification and operation conditions of the HPLC apparatus used for the analysis of catechin contents

Instrument	Waters 501
Detector	UV detector(280nm)
Column	μ -Bondapak C18 Column
Mobile phase	Acetonitrile : Ethylacetate : 0.05% phosphoric acid (12 : 2 : 86)
Oven temp.	40°C
Flow rate	1ml/min

용해하여 linoleic acid(Sigma Co. Ltd., U.S.A.)에 200 ppm의 농도로 각각 첨가하였다. 각각의 농도별로 제조된 linoleic acid는 감압농축기(40 \pm 1°C)를 사용하여 용매를 제거하였다. 또한 기존 항산화제 중 α -tocopherol (Sigma Co. Ltd., U.S.A.)과 ascorbyl palmitate (Aldrich Chemical Co., U.S.A), BHT(Sigma Co. Ltd., U.S.A.)도 위와 동일한 방법을 사용하여 비교, 조사하였다.

이와 같이 농도별로 첨가된 linoleic acid는 100ml 비이커에 40g씩 분취하여 40°C로 유지되는 항온기에 저장하면서 일정 저장기간별로 과산화물가(AOCS Cd 8-35)를 측정¹⁵⁾하였다.

5. 상승효과 측정

녹차, 오롱차 및 홍차에 대한 α -tocopherol과의 상승 효과를 비교하기 위해 각각의 차추출물(100ppm)에 α -tocopherol(50ppm)을 각각 첨가하여 α -tocopherol과의 2성분 항산화 시스템에서 이들의 상승효과를 비교하였다. 또한 차 추출물(100ppm)에 α -tocopherol(50 ppm)과 ascorbyl palmitate(50ppm)를 함께 첨가하여 3성분 항산화 시스템에서 이들의 상승효과도 비교, 조사하였다.

6. 수소공여능(Hydrogen Donating Ability, HDA)의 측정¹⁶⁾

열수 및 메탄올 추출물의 수소공여능은 DPPH(1,1-diphenyl-picrylhydrazyl)의 환원성을 이용하여 516nm에서 UV/Vis spectrophotometer(Beckman DU-65, U.S.A.)로 측정하였다. 즉, 분획물 8ml와 0.035% DPPH용액(6.25 $\times 10^{-5}$ M) 2ml를 시험관에서 5초동안 vortex mixer로 혼합한 후 30분 후의 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 녹차, 오롱차 및 홍차의 조카테킨의 수율

녹차, 오롱차 홍차의 조카테킨의 수율은 각각 5.4%, 3.5% 및 2.5%으로 녹차의 수율이 가장 높았다. 또한 녹차, 오롱차 및 홍차의 조카테킨 조성 및 함량을 조사한 결과(Fig. 1 및 Table 2), EGC, EC, EGCg 및 ECg 등 4개의 카테킨류가 확인되었으며, 그 중에서 EGCg 성분이 가장 많은 함량을, EC는 가장 적은 함량을 보였다. 녹차의 경우, EGC, EC, EGCg 및 ECg의 성분비율은 24.6%, 4.8%, 47.8% 및 15.4%로 EGCg의 함량비율이 절반을 차지하였다. 녹차, 오롱차 및 홍차의 총 카테킨의 함량은 각각 926.3ug/g, 713.8ug/g 및 318.0 ug/g으로 녹차에 비해 각각 32.9% 및 65.7% 정도 적은 것으로 나타났다.

홍차나 오롱차는 제조과정 중에 차카테킨류가 polyphenol oxidase의 작용에 의해 산화, 축합으로 특유한 적홍색이나 빨간색의 폴리페놀을 갖는다. 홍차의 등적색의 색소인 테아플라빈은 유리형의 EC와 EGC로부터 형성되거나 에스터형이 EC와 EGC로부터 효소적으로 산화 축합하여 생성하기도 한다. 홍차나 오롱차의 카테킨 함량이 녹차보다 적은 것은 이러한 원인에 기인되는 것으로 사료되었다.

Table 2. Catechin contents of crude fraction obtained from green, oolong and black tea

Composition of catechins	(mg/g crude catechin)		
	Green tea	Oolong tea	Black tea
EGC	245.6	186.3	88.0
EC	48.0	53.2	67.6
EGCg	478.4	359.0	90.3
ECG	154.3	115.3	72.1
Total	926.3	713.8	318.0

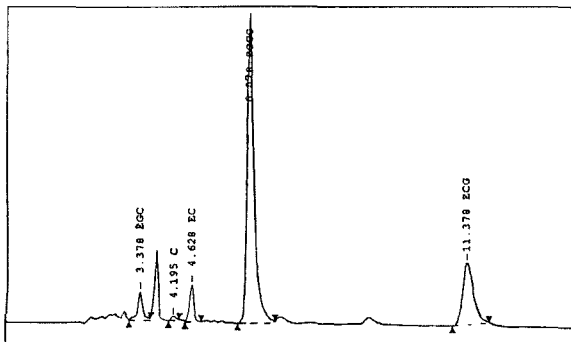


Fig. 1. HPLC chromatograms of crude catechin extract from green tea.

2. 녹차, 오롱차 및 홍차의 항산화 효과

녹차, 오롱차 및 홍차로부터 추출한 조카테킨을 200ppm의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정된 결과(Fig. 2), 저장 6일째의 과산화물가는 각각 43.6 meq/kg oil, 35.6 meq/kg oil 및 47.0 meq/kg oil로 오롱차의 항산화 효과가 가장 강하였다.

일반적으로 카테킨류는 3위의 갈레이트기(gallate group) 및 B환의 5위의 수산기가 항산화력 발현에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 특히 B환의 5위에 수산기가 붙어 있는 EGC, EGCg는 B환의 5위의 수산기가 없는 EC, ECg에 비하여 3배 정도 강한 것에서 B환의 수산기의 수가 항산화 활성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 여 등¹⁷⁾은 오롱차 중의 EGCg의 함량이 녹차, 홍차보다 많기 때문에 오롱차의 효과가 가장 큰 것으로 설명하고 있다. 그러나 본 실험에서는 녹차의 경우, EGCg의 함량이 가장 많음에도 불구하고 오롱차보다 유지 산패억제 효과가 낮은 것으로 나타났다.

녹차, 오롱차 및 홍차 카테킨류의 갈색도, 수소공여능을 측정된 결과는 Table 3과 같았다.

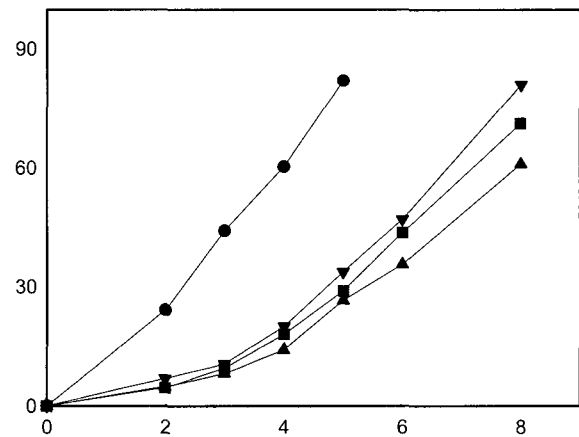


Fig. 2. The peroxide values of linoleic acid substrate containing crude catechin of tea (• : control, ■ : green tea, ▲ : oolong tea, ▼ : black tea).

Table 3. Browning intensities (at 420nm) and HDA(hydrogen donating ability) of green tea, oolong tea and black tea

Kind of tea	Browning Intensities	HDA (hydrogen donating ability)
Green tea	0.140	0.438
Oolong tea	0.582	0.369
Black tea	0.915	0.347

갈변도는 홍차의 경우 0.915로 오롱차의 4.2배, 녹차의 6.5배 정도로 상당히 높은 것을 나타냈다. 또한 수소공여능은 녹차의 경우 가장 높았으며 홍차의 경우가 가장 낮은 것으로 나타나 녹차, 오롱차 및 홍차의 항산화 효과는 갈색도나 수소공여능과 밀접한 관련성을 보이지 않았다.

차카테킨류는 토코페롤, 아스코르브산 및 각종 유기산과의 상승작용 및 갈색화 반응생성물도 항산화 작용을 나타낸다고 보고되고 있다¹⁸⁻²⁰. 이와 김²¹)은 갈색화 반응 최종생성물인 갈색물질보다는 반응 초기에 생성되는 reductones들이 항산화 효과에 크게 기여함을 보고하였다. 또한 ECg와 EGCg 등의 가수분해에 의해 생성되는 gallic acids도 강한 항산화작용을 갖는다.

본 연구에서의 갈변도, 카테킨의 함량을 종합적으로 고려해 볼 때, 오롱차의 항산화 효과는 반발효과정에서의 생성된 갈색화 반응 초기 생성물나 카테킨류의 가수분해에 의해 생성되는 gallic acids와의 상승작용에 기인하는 것으로 사료되었다.

한편 기존의 항산화제인 α -tocopherol, ascorbyl palmitate 및 BHT를 200ppm의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정 한 결과(Fig. 3), 저장 6일째의 과산화물가는 각각 72.5 meq/kg oil, 89.1 meq/kg oil 및 13.0 meq/kg oil로 BHT가 가장 강한 효과를 보였다. 전체적으로 차카테킨은 천연항산화제인 α -tocopherol, ascorbyl palmitate보다는 항산화 효과가 강한 반면, 합성 항산화제인 BHT보다는 약한 것으로 나타났다.

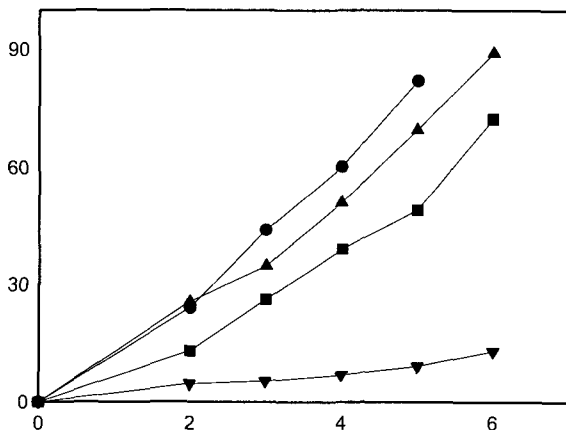


Fig. 3. The peroxide values of linoleic acid substrate containing α -tocopherol, ascorbyl palmitate and BHT, respectively(●: control, ■: α -tocopherol, ▲: ascorbyl palmitate, ▼: BHT).

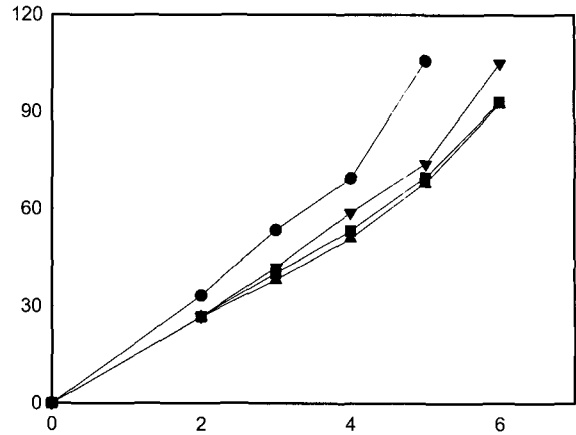


Fig. 4. The peroxide values of linoleic acid substrate containing crude catechin of tea in presence of $FeCl_3$ (●: control, ■: green tea, ▲: oolong tea, ▼: black tea).

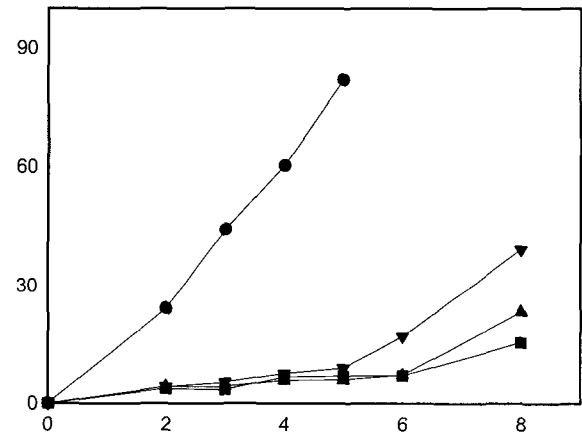


Fig. 5. The peroxide values of linoleic acid substrate containing crude catechin of tea, α -tocopherol and ascorbyl palmitate(●: control, ■: green tea, ▲: oolong tea, ▼: black tea).

3. 2성분 및 3성분 항산화 시스템에서의 항산화 효과

녹차, 오롱차 및 홍차 추출물(100ppm)에 α -tocopherol(50ppm)을 병용하여 첨가한 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정 한 결과(Fig. 4), 저장 6일째의 과산화물가는 각각 16.0 meq/kg oil, 18.6 meq/kg oil 및 23.0 meq/kg oil로 녹차의 항산화 효과가 가장 강한 것으로 나타났다. 상승제 첨가의 결과는 대조구보다 산패억제 효과가 있었으며 조카테킨을 단독으로 200ppm 첨가시보다 효과가 우수하였다.

각각의 차 추출물(100ppm)에 α -tocopherol과 ascorbyl palmitate 50ppm을 함께 첨가된 linoleic acid의 과산

화물가의 변화를 측정된 결과(Fig. 5), 저장 6일째의 과산화물가는 각각 7.0 meq/kg oil, 7.2 meq/kg oil 및 17.0 meq/kg oil로 녹차에서의 상승효과가 가장 강한 것으로 나타났다. 이들의 항산화 효과는 녹차 카테킨 200 ppm 단독 첨가의 경우(43.6 meq/kg oil)보다 상당히 강한 항산화 효과를 나타냈으며, 합성항산화제인 BHT (17.0 meq/kg oil)보다도 우수하였다.

요 약

시판 녹차, 오롱차 및 홍차에서 추출된 조카테킨 조성 및 이들 카테킨의 2성분 항산화시스템, 3성분 항산화시스템의 항산화 효과를 조사하고자 하였다. 녹차, 오롱차 및 홍차의 조카테킨의 수율은 각각 5.4%, 3.5% 및 2.5%이었다. EGC, EC, EGCg 및 ECg의 4개의 카테킨류가 확인되었으며, EGCg 성분이 가장 많은 함량을 보였다. 녹차, 오롱차 및 홍차의 총 카테킨의 함량은 각각 926.3ug/g, 713.8ug/g 및 318.0ug/g이었다. 녹차, 오롱차 및 홍차 조카테킨 첨가구의 항산화 효과는 오롱차 > 녹차 > 홍차의 순이었다. 녹차, 오롱차 및 홍차 조카테킨(100ppm)에 α -tocopherol(50ppm)을 첨가했을 때의 항산화효과는 녹차 > 오롱차 > 홍차 조카테킨 순으로 녹차에서 가장 강한 상승작용을 나타냈다. 녹차, 오롱차 및 홍차 카테킨(100ppm)에 α -tocopherol(50ppm) 및 ascorbyl palmitate(50ppm)를 함께 첨가한 경우, 조카테킨(200 ppm)을 단독으로 첨가한 경우보다 항산화 효과가 강하였다.

참고문헌

- 이주원, 신효선: 녹차 물추출물의 항산화 효과, *한국식품과학회지*, **25**(6), 759~763 (1993).
- 최성인, 이정희, 이서래: 막투과법에 의한 녹차음료의 카드뮴 및 납제거 효과, *한국식품과학회지*, **26**(6), 740~744 (1994).
- 최성인, 이정희, 이서래: 동물시험에 의한 녹차음료의 카드뮴 및 납제거 효과, *한국식품과학회지*, **26**(6), 745~749 (1994).
- 조영제, 안봉진, 최정: 한국산 녹차로부터 분리한 Flavan-3-ol 화합물의 Angiotensin converting enzyme 저해 효과, *한국식품과학회지*, **25**(3), 238~242 (1993).
- Amarowicz, R., Shahidi, F.: Antioxidant activity of green tea catechins in a beta-carotene-linoleate model system. *J. Food Lipids*, **2**, 47~56 (1995).
- Ito, N., Hirose, M. and Shirai, T.: Carcinogenicity and modification of carcinogenic response by plant phenols. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effect on Health II*; Huang, M-T., C-T., Lee, C. Y., Eds., ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington, D. C., pp.269~281 (1992).
- Henry, J. P.: Stephens-Larson, P. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*, **6**, 437~444.
- Chen, Z. Y., Zhu, Q. Y., Wong, F. Y., Zhang, Z. and Chung, H. Y.: Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2512~2516 (1998).
- Chen, Z. Y., Wang, L. Y., Chan, P. T., Zhang, Z. and Chung, H. Y.: Antioxidative activity of green tea catechin extract compared with that of rosemary extract. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **75**(9), 1141 (1998).
- 白城 聰, 原 征彦: 茶カテキン 類의 抗酸化作用とその利用, *食品工業*, **35**(8), 34~39 (1992).
- Chang, S. S. and Bao, Y.: Process for manufacture for natural antioxidant products from tea and spent tea. *U.S. Patent* 5,043,100 (1991).
- Lunder, T. L.: Process for obtaining catechin complexes, *U.S. Patent* 5,107,000 (1992).
- So, R. S.: Water-soluble antioxidant used in food industry-obtained from tea leaves by water extraction followed by liquid chromatography fractionation. *European Patent* 547,370 (1993).
- 한대석: W/O microemulsion을 이용하여 용해된 아스코르브산이 어유의 산화 안정성에 미치는 영향. *식품기술*, **3**, 3 (1990).
- AOCS : Method Cd 8-53. In: "AOCS Official and Tentative Methods". 4th edition, American Oil Chemists' Society, Chicago (1990).
- Blios, M. S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
- 여생규, 안철우, 이용우, 이태기, 박영호, 김선봉: 녹차 오롱차 및 홍차추출물의 항산화효과, *한국식품영양학회지*, **24**(2), 299 (1995).
- 松崎妙子, 原 征彦: 緑茶 カテキン類의 抗酸化作用について, *日本農藝化學會誌*, **59**, 129 (1985).
- 최홍식, 이창용: Melanoidin의 항산화성 및 항돌연변이성, *한국영양식품과학회지*, **22**, 246 (1993).
- Son, J. Y. and Kim, D. H. : Effects of caffeic acid on the antioxidant activity of Maillard reaction products, *Food and Biotechnology*, **3**, 144 (1994).
- Rhee, C. and Kim D. H.: Antioxidant activity of acetone extracts obtained from a caramelization-type browning reaction, *Journal of Food science*, **40**, 373~375 (1975).