韓國營養學會誌 : 第6卷 第3號
K.J.N. Vol. 6. No. 3, 1973

韓國産 綠茶에 對한 硏究(제 Ⅱ보)

—Free Amino Acid와 無機成分에 對하여—

정 재 기 · 유 춘 희* · 정 태 영** · 나 상 무**

A Study on Korean Green Tea(Ⅱ)

——Analysis of free Amino Acid and Mineral——

Jai-Kie Jung, Choon-Hie Yu*, Tai-Young Chung, Sang-Moo La****

=**Abstract**=

Quantitative analysis was achieved by gas-liquid chromatographic method (GLC) with a single column system of OV-17 for 16 of free amino acids in Korean green tea and the contents of mineral in it was determined by atomic absorption flame emission.

The results are summarized as follows:

1) Korean green tea contained Mn 1% or over out of the total ash content and 0.05~0.20% in the water extraction, as the major mineral.
2) Ba, Cr, Ni, Pb and V were analyzed also by small quantities relatively and Co, Tin and Ywere not detected in the water extraction.
3) GLC indicated the presence of 16 components in free amino acids.
4) The quantities of free amino acids in Korean green tea were determined 2.96~6.61mg% Alanine, 1.01~1.89 mg% Glycine, 2.07~7.81mg% Valine, 1.27~8.76mg% Leucine and Isoleucine, 94.31~316.27mg% Threonine, 9.10~39.91mg% Serine, 2.18~36.76mg% Hydroxyproline, 2.72~5.90mg% Proline, 39.64~70.02mg% Aspartic Acid, 25.93~101.28 mg% Glutamic Acid and Lysine, 8.32~18.30mg% Phenylalanine and Tyrosine in trace amount.
5) The total free amino acid contents in Korean green tea ranged from 207.24mg% to 516.06 mg% and Moo-Deoung tea contained outstandingly high, 516 mg% or over.

서 론

韓國産 綠茶에 對한 硏究 제1보에서는 一般成分에 대해 이미 보고한바 있으며[1] 이 보문은 韓國産 綠茶에 대한 硏究 제2보로서 綠茶의 Free Amino Acid와 無機成分에 대한 것이다.

제1보에서 밝힌바와 같이 綠茶에는 특히 Mn과 F가 많이 함유되어 있어서 身體中의 血液製造에 극히 유효하고, 안티모니 製劑및 痲醉藥의 해독용으로 효과가 있다[2]고하며 또한 綠茶에는 1.55~9.84 mg%의 Free Amino Acid[3]가 20여종 함유되어 있는 우수한 식품으로 알려졌다. 無機成分으로는 K, Ca, Fe, Mn, Na, S, Cl_2, I_2이외에 미량成分으로서 Cu,Ni, Be, T 및 V이 함유되어있으며[4], 綠茶의 맛에 관계되는 성분은 mineral, ascorbic acid, glucose, caffein 및 amino acid등[5]으로 이중에서 특히 glutamic acid와 arginine 및 tannine은 綠茶의 맛을 내는데 중심적인 역활을 한다.

Amino acid의 정량적인 分析法으로는 Moore[6], Stein et al[7], Hamiltone[8]등에 의해서 발전된 Ion-

인하대학교 생물화학 공학과
* 이화여자대학교 식품영양학과
** 중앙대학교 화학공학과
In Ha University, College of Engineering, In Cheon, Korea.
* *Ewha Womans University, College of Home Economics, Seoul, Korea.*
** *Chung-Ang, University College of Engineering, Seoul, Korea.*

Exchange Chromatography법, paper chromatography 및 amino acid autoanalyzer등의 여러 방법이 사용되고 있으나, 1968년 Gehrke[9,10] et al은 EGA-OV-17 Dual column을 使用하여 Gas-Liquid Chromatography(GLC)에 의해 Protein amino acid 20종을 정량했다. 저자등은 Gehrke氏가 행한 방법에 의하여 OV-17 single column을 使用하여 GLC에 의해 綠茶의 free amino acid 16種을 定量했다.

실 험

1. 無機成分

1. **시료.** 보성다원, 보림사, 화엄사, 무등다원, 쌍계사등지에서 재배 되고 있는 綠茶 5種과 茶葉 1種을 수집하여 시료로 했다.

2. **침출액.** 시료 4g을 정평하여 끓는물에서 3分間 3回 침출하여 105±5°C에서 건조하였다.

3. **회분.** 시료 4g을 정평하여 완전히 灰化시켰다.

위에서 만든 침출액의 잔사와 회분에 함유된 미량금속 성분은 Atomic Absorption Flame Emission (Jarrell Ash type)에 의해 정량하였다.

2. Protein Amino Acid.

A. 시약

1. **Amino Acid.** Chromatography용 특급 Amino Acid(E. Merck製)를 그대로 使用했다.

2. **n-Butanol-Hcl.** n-Butanol (GR. E. Merck) 100ml에 Dry HCl gas를 포화시켰다.

3. **Methanol(Anhydrous).** Methanol(GR. E. Merck) 500ml에 Magnesium 5g을 넣어 Reflux시켜 증류했다.

4. **Methanol. HCl.** Anhydrous Methanol 100ml에 Dry HCl gas를 포화시켰다.

5. **Methylene Chloride(Anhydrous)** CH_2Cl_2(G-R. E. Merck) 500ml에 Anhydrous Calcium Chloride 13g을 加해서 30分間 Reflux시켜 증류했다.

6. **Trifluoro Acetic Anhydride(TFAA)** E. Merck제 특급을 그대로 사용했다.

7. **Support Material.** Acid washed 80/100 mesh Chromsorb G를 550±50°C에서 15시간 건조한후 200°C로 냉각하여 P_2O_5上에서 Desiccator에 보관하여 사용했다.

B. Standard Amino Acid Stock Solution.

Protein Amino Acid 30mg을 정평하여 0.1 N HCl로 100ml로 했다.

C. Instrument와 Chromatographic Conditions.

1. Instrument.

Gaschromatograph. Varian Aerograph Model 1800

Recorder. Varian Aerograph Model 20

2. Chromatographic Conditions.

6w/w% OV-17, 80/100 mesh Chromsorb G, 5′×1/8″

Column temperature. Initial 120°C, Final 300°C

Program Rate. 4°C/min

Detector Temperature. 300°C

Sensitivity. 32×10^{-10}

Carrier Flow, N_2. 6.7ml/min

Chart Speed. 10″/hr

D. 시료

1. **Free Amino Acid.** 70±5°C에서 건조한 綠茶 4g을 정평하여 80°C의 증류수 100ml를 加해 3分間 3回 반복침출하고, 침출액을 합해서 60°C에서 감압증류하여 수분을 완전제거 했다. Gehrke氏법에 의해 Amino Acid의 N-trifluoroacetyl(N-TFAA) n-but y ester의 Derivative를 合成했다.

2. **Standard Amino Acid.** Stock solution 10ml를 취해서 60°C에서 감압증류, 수분을 완전히 제거한후에 N-TFAA n-butyl ester의 Derivative를 合成하여 GLC에 주입했다.

E. 실험방법

N-TFAA n-butyl ester의 合成

1. Amino Acid Mixture에 CH_2Cl_2 10ml를 加하고 60°C에서 감압증류하여 수분을 완전히 제거했다.

2. Methanol. HCl 10ml를 加하여 teflon lining이 되어있는 screw cap이 달린 50ml pyrex culture tube에 넣어 실온에서 30分間 ester化시킨후 60°C에서 질소기류 하에서 감압증류하여 미반응 Methanol을 완전히 증류하여 건조시켰다.

3. n-Butanol. HCl 10ml를 加하여 oil bath上에서 150°C로 5分間 加熱한후 100°C에서 1시간 ester化시키고, 질소 기류 하에서 60°C에서 감압증류 해서 미반응 n-Butanol을 완전 증발 건조 시켰다.

4. CH_2Cl_2 7ml와 TFAA 5ml를 加해서 잘혼들어 준후 100°C에서 1시간 acetylation시킨후 미반응 TFAA와 CH_2Cl_2를 감압증류해서 Amino Acid의 N-TFAA n-butyl Ester Derivative를 합성하여 Acetone으로 0.5cc가 되게한후 2μl를 GLC에 注入했다.

5. OV-17 Single Column을 使用하여 16種의 Amino Acid를 정량했다.

결과 및 고찰

무기성분. 韓國産 綠茶의 침출액의 잔사와 회분의 무기성분은 Table Ⅰ. 및 Table Ⅱ.와 같다.

Table Ⅰ.과 Table Ⅱ.에 표시한 것과 같이 Mn은 회분에 1%이상, 침출액의 잔사에 0.05~0.20%로서 가장 많이 함유 되어 있으며, Co, Sr 및 Tin과 Y은 회분에는 미량 존재하나 침출액에는 없다.

이 외에 Ba, Cr, Ni, Pb및 V이 미량 함유되어있다.

Free Amino Acid. OV-17 single column을 使用하여 얻은 Standard Amino Acid Chromatogram은 Fig.1.과 같으며 Leucine과 Isoleucine, Glutamic Acid와 Lysine은 分離되지 않았으나, 이것은 program rate를 변화시키면 分離가 가능했으며, Arginine, Histidine, Tryptophane및 Cystine은 사용된 Column으로서는 分離되지 않았다.

Table Ⅰ. 韓國産 綠茶의 침출액의 무기성분

시 료	침출액의 잔사에 대한 함량 %											
	Tin	Mn	Ag	Ba	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Sr	V	Y
보성다원 녹차	—	0.20	0.0002	0.003	—	0.0002	0.005	0.0009	0.002	—	0.002	—
보림사 녹차	—	0.15	0.0008	0.003	—	0.0002	0.001	0.0007	—	0.007	0.005	—
화엄사 녹차	—	0.05	0.0050	0.030	—	<1	0.003	0.0007	0.07	—	0.002	—
쌍계사 녹차	—	0.06	0.0008	0.0015	—	<1	0.0007	0.0005	—	—	0.0001	—
무등다원 녹차	—	0.10	0.0020	0.005	—	<1	0.003	—	0.007	—	0.002	—
내장사 차엽	—	0.07	0.0150	0.0015	—	0.0005	0.007	0.0008	0.01	—	0.001	—

Table Ⅱ. 韓國産 綠茶의 회분의 무기성분

시 료	회분에 대한 함량%											
	Tin	Mn	Ag	Ba	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Sr	V	Y
보성다원 녹차	0.500	>1	0.08	0.015	0.001	0.002	0.07	0.03	0.007	0.007	0.005	0.002
보림사 녹차	0.07	>1	0.10	0.08	—	0.0015	0.05	0.015	0.002	0.1	0.01	0.001
화엄사 녹차	0.10	>1	0.15	0.05	—	0.001	0.05	0.015	0.002	0.07	0.005	0.001
쌍계사 녹차	0.07	>1	0.15	0.03	—	0.001	0.07	0.05	0.002	0.07	0.01	0.002
무등다원 녹차	0.08	>1	0.10	0.08	—	0.0015	0.07	0.01	0.005	0.1	0.01	0.0007
내장사 차엽	0.02	>1	0.08	0.07	—	0.002	0.03	0.005	0.005	0.1	0.003	0.001

OV-17 single column을 使用하여 分離한 韓國産 綠茶의 Free Amino Acid의 함량을 산지별로 보면 Table Ⅲ.과 같으며 각 시료의 GLC Chromatogram은 Fig.2, Fig.3, Fig.4, Fig.5및 Fig.6과 같다.

綠茶는 재배지역에 따라 Free Amino Acid의 함량의 차이가 있으며 韓國産 綠茶中엔 Threonine이 4.31~316.27mg%로 가장 많이 함유되어 있고, 呈味性 Amino Acid인 Glutamic Acid와 Lysine이 25.93~101.28mg%나 들어있어 綠茶의 맛을 더해준다.

Aspartic Acid는 39.64~70.02mg%로 비교적 많이 함유되어 있고, Methionine과 Ornithine은 어느 시료에도 들어있지 않으며, Phenylalanine은 보성및 화엄사등에서 재배되는 綠茶에만 8.32~18.30mg% 함유되어있다.

Free Amino Acid의총량을 보면 207.24~516.06

Table Ⅲ. Amino Acid Analysis of Green Tea

Amino Acid	mg %				
	보 성	쌍 계	화 엄	보 림	무 등
Alanine	5.66	2.96	3.61	3.06	0.61
Glycine	1.53	1.08	1.10	1.89	trace
Valine	7.81	3.40	4.74	2.02	trao
Leu+Isoleu	5.49	3.50	3.85	1.77	8.76
Threonine	154.17	101.49	94.31	108.49	316.27
Serine	9.10	13.56	19.34	21.39	39.91
Hydroxy proline	2.18	6.33	7.40	4.46	36.76
Proline	3.01	4.28	2.72	4.86	5.90
Methionine	—	—	—	—	—
Aspartic Acid	70.02	50.00	40.31	48.42	39.64
Phenylalanine	18.30	—	8.32	—	—
Ornithine	—	—	—	—	—
Glu+Lys	101.28	82.33	25.93	68.78	62.21
Tyrosine	1.63	2.66	1.61	2.47	trace
Total	380	271.81	207.24	267.79	516.06

mg%로서 무등 다원 綠茶가 516.06mg%이상으로 가장많고 화엄사 綠茶가 270.24mg%로서 가장적다.

綠茶는「코오피」나 홍차처럼 대중화 되어 있지 않으나 Free Amino Acid가 516mg%, Mn을 비롯해서 미량금속이 많이 들어 있어 아주 좋은 식품으로 생각된다.

결 론

1. 韓國産 綠茶에는 산지에따라 무기 성분의 함량이 다르나 Mn이 회분중에 1%이상, 침출액의 잔사에 0.05~0.20%로서 가장많이 함유되어있다. 이외의 무기 성분중에서 Co, Tin, Y는 침출액의 잔사에는 존재 하지않으며 Ba, Cr, Ni, Pb및 V이 미량 함유되어 있다.

2. OV-17 single column을 使用하여 GLC에 의해 韓國産 綠茶의 Free Amino Acid 16種을 정량했다.

3. 韓國産 綠茶에는 Alanine 2.96~6.61mg%, Glycine 1.01~1.89mg%, Valine 2.07~7.81mg%, Leucine과 Isoleucine 1.27~8.76mg%, Threonine 94.31~316.27mg%, Serine 9.10~39.91mg%, Hydroxyproine 2.18~36.76mg%, Proline 2.72~5.90mg%, Aspartic Acid 39.64~70.02mg%, Phenylalanine 8.32~18.30mg%, Glutamic Acid와 Lysine 25.93~101.28mg% 및 Tyrosine trace로 함유 되어 있다.

4. 韓國産 綠茶의 Free Amino Acid의 함량은 207.24~516.06mg% 이상으로 특히 무등다원 綠茶에 5 16mg%이상으로서 가장많이 함유 되어 있다.

「本研究는 仁荷大學校 附設 産業 科學技術 研究所의 研究 助成費에 依해 이루어 졌기에 이에 謝意를 表한다.」

REFERENCES

1) 정재기등 : 한국산 綠茶에 對한 研究, 한국영양학회지 5, 3. 1972.
2) 渡邊彰 : 朝鮮の茶業に就て, 拜文 75號 *p.* 57, 1921
3) 前田淸一 : 綠茶의化學, 日本, 調理科學, 72, 74 (1969)
4) 前田淸一 : *ibid. p.* 74.
5) 前田淸一 : *ibid. p.* 74~75.
6) Moore, S., Spackman, D.H., and Stein, W.H.,: *Anal. Chem.* 30, 1185(1958).
7) Moore, S., and Stein, W.H.: *J. Biol. Chem.* 192, 663(1951).
8) Hamilton, P.B., Bogue, D.C. and Anderson, R.A.: *Anal. Chem.* 32, 1782(1960).
9) Charles W. Gehrke, Robert W., Zumwalt and Kenneth Kuo: *J. Agr. Food Chem.* 19[4], 605 (1971).
10) Charels W. Gehrke, Don Roach, and Robert W. Zumwalt: *J. Chromatogr.*, 53, 171(1970).

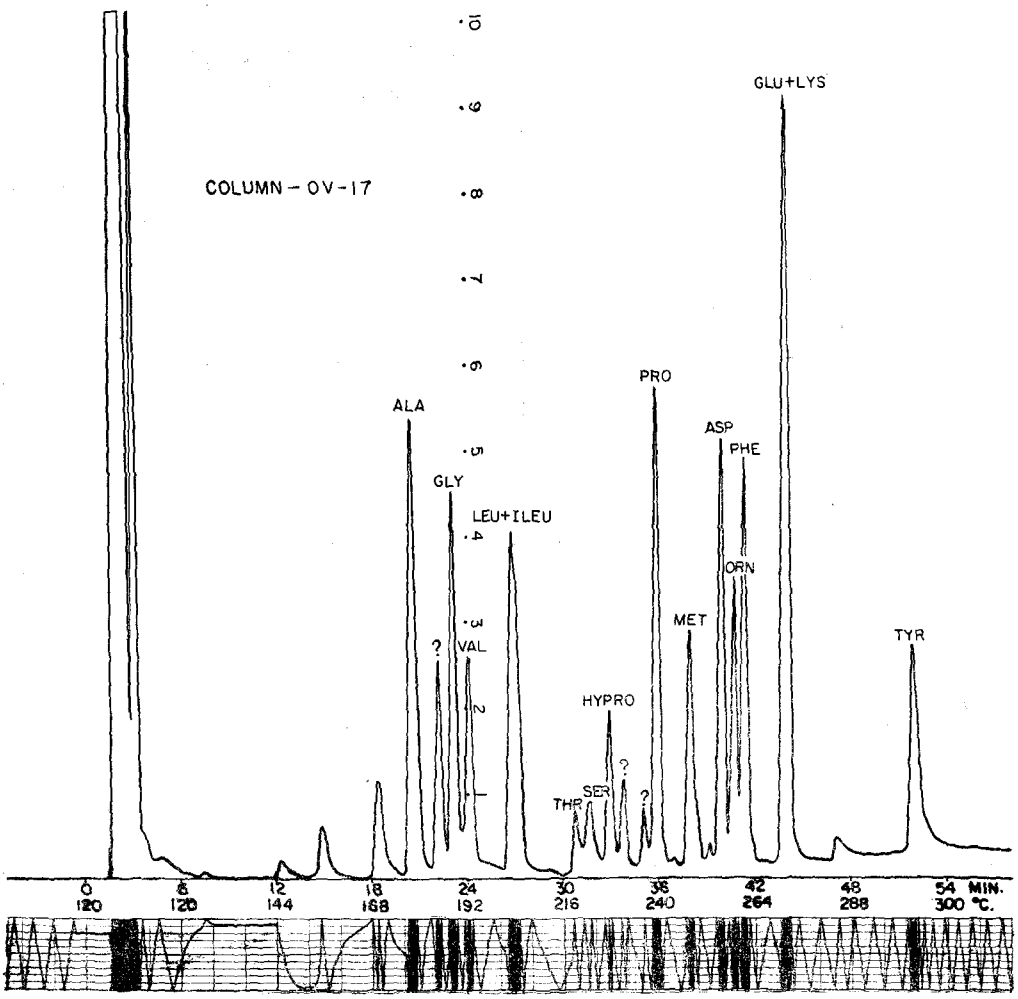

Fig. 1. GLC Chromatogram of Standard Amino Acid

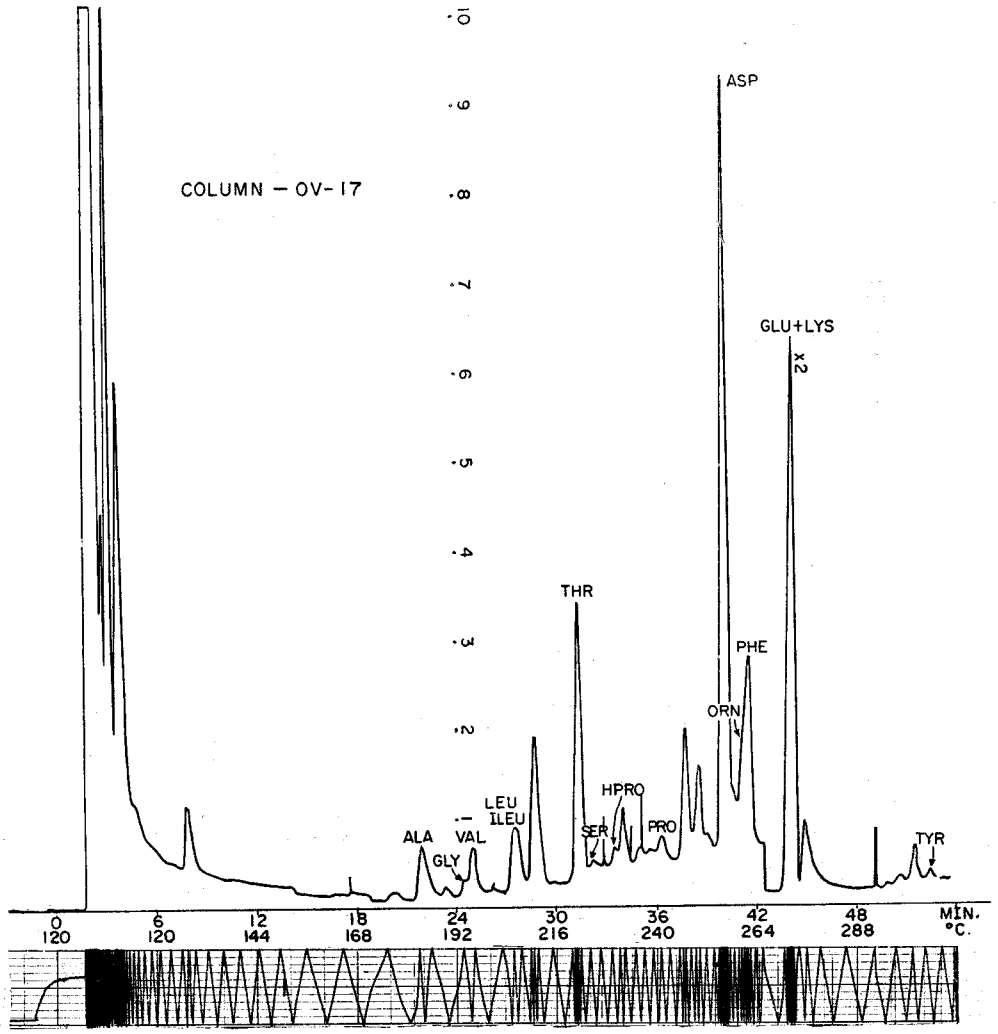

Fig. 2. GLC Chromaogram of Green Tea, (Bo Seong)

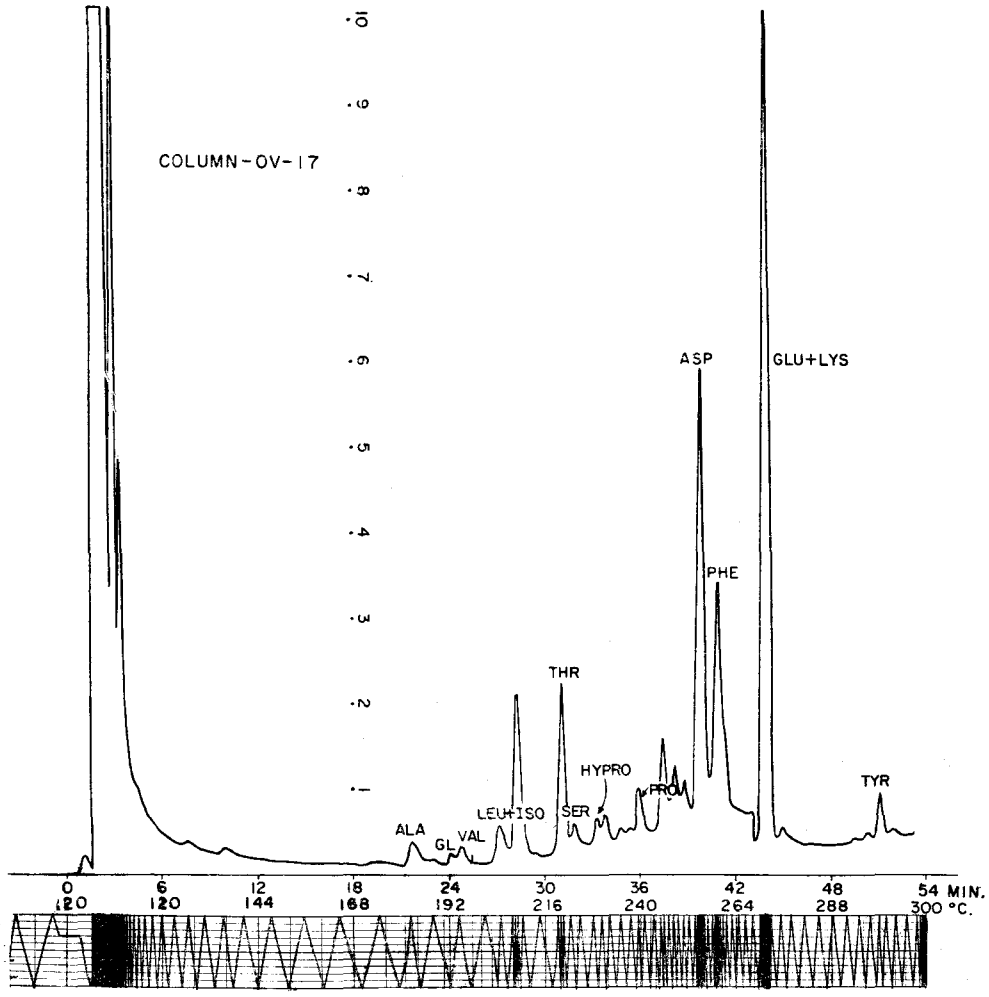

Fig. 3. GLC Chromatogrrarm of Green Tea (Ssang Gei)

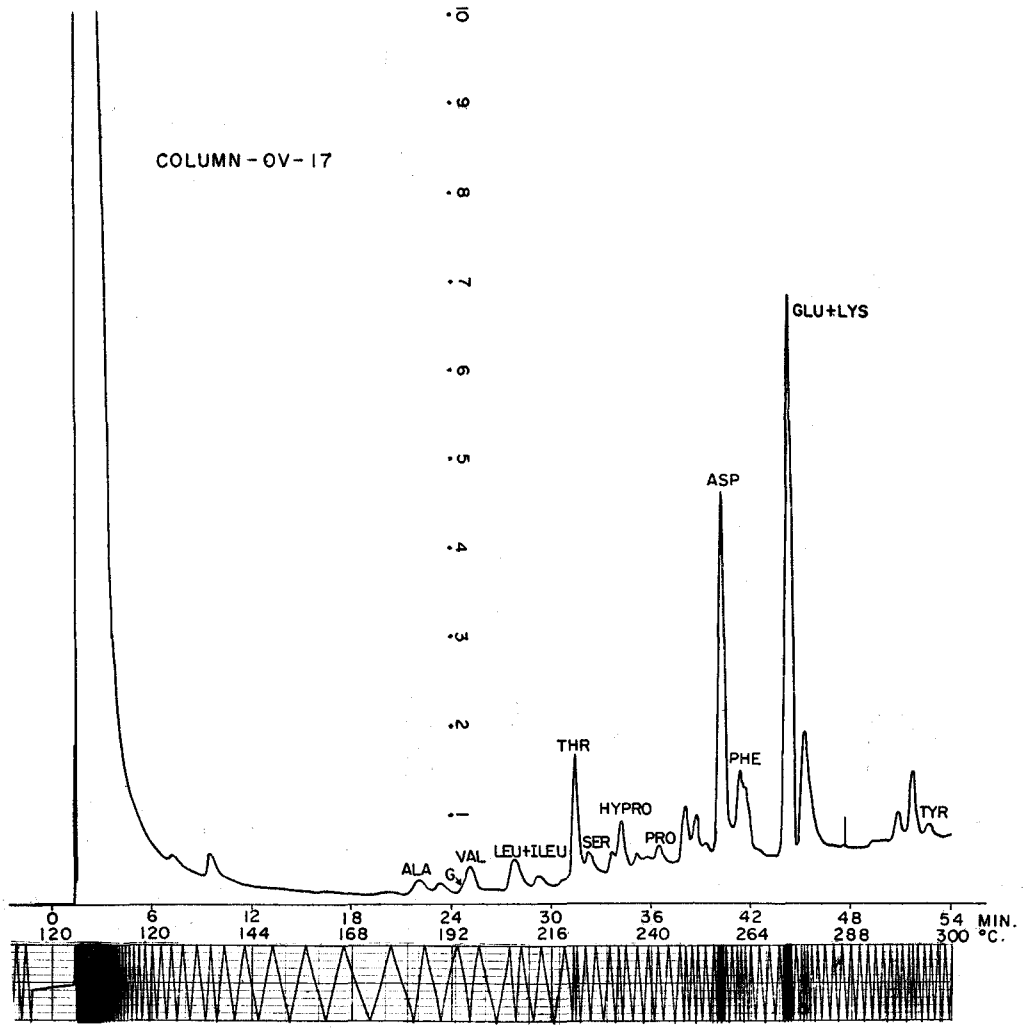

Fig. 4. GLC Chromatogram of Green Tea (Wha Eom)

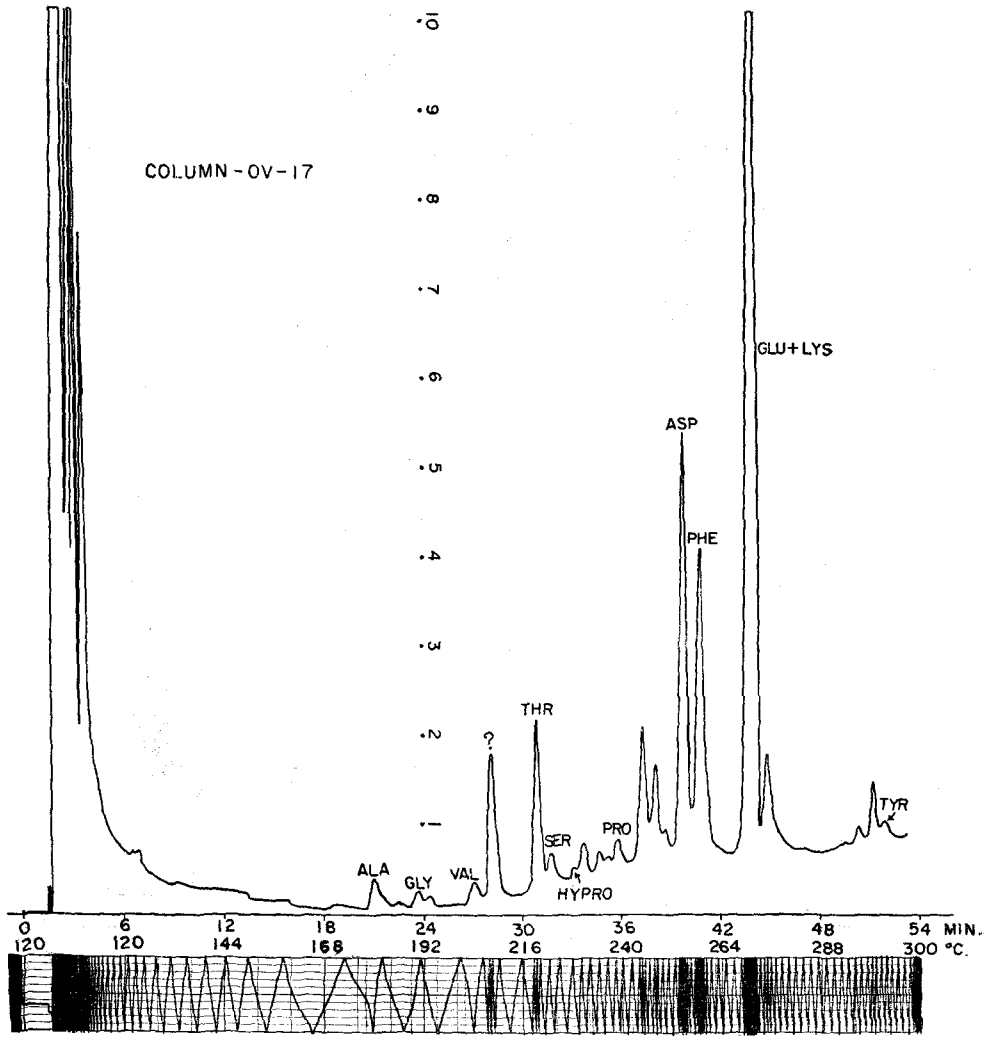

Fig. 5. GLC Chromatogram of Green Tea (Bo Rim)

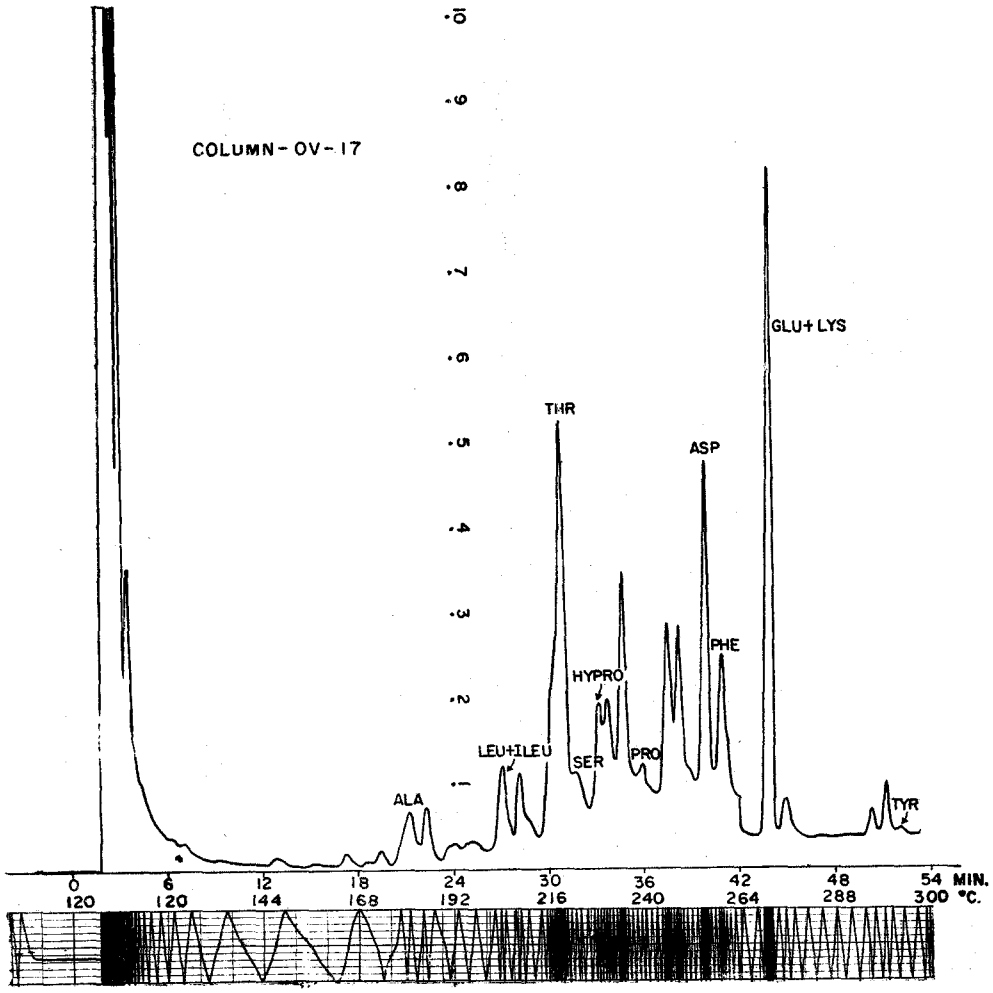

Fig. 6. GLC Chromatogram of Green Tea (Moo Deung)