

Epigallocatechin Gallate 고함유 녹차추출물의 제조공정 개선

서은혜¹ · 김은정¹ · 전성봉¹ · 윤민지^{1,2} · 최상운³ · 류건식^{1*} · 유시용^{2,3*}

¹㈜알앤오식품, ²충남대학교 신약전문대학원, ³한국화학연구원

A Convenient Manufacturing Method for Mass Production of EGCG Rich Green Tea Extract

Eun Hye Seo¹, Eun Jeong Kim¹, Seong Bong Cheon¹, Min Ji Yoon^{1,2},
Sang Un Choi³, Geon-Seek Ryu^{1*}, and Shi Yong Ryu^{2,3*}

¹AlnO Food Inc., Jeonju 54810, Korea

²Graduate School of New Drug Discovery and Development, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

³Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 34114, Korea

Abstract – A facile and convenient method was developed for the mass production of epigallocatechin gallate (EGCG) rich green tea extract (Er-GTE). The Er-GTE was successfully obtained from the crude water extract of green tea by the combination of two step purification, *i.e.*, a simple adsorption process on the cation exchange resins (Trilite SCR-B) followed by the chromatography with Diaion HP-20 resins. The green tea extract produced by water extraction under 45°C was subjected to adsorb on the strongly acidic cation exchange resin, Trilite SCR-B. The eluate passed through the resin was reabsorbed on Diaion HP-20 resin, which was subjected to elute with a mixture of water and alcohol by conventional chromatographical manner. The EGCG content in Er-GTE was estimated above 97% by HPLC analysis and the newly developed method was regarded as the most suitable and appropriate process for the mass production of epigallocatechin gallate rich green tea extract (Er-GTE).

Keywords – *Camellia sinensis*, Epigallocatechin gallate, Green tea extract, Mass production

오늘날 우리나라에서 재배되고 있는 차나무(*Camellia sinensis*)는 차나무과(Theaceae) 동백나무속(*Camellia*)에 속하는 다년생 상록관목이다. 차나무는 세계적으로 야생종에서 재배종에 이르기까지 100여 종류가 분포되어 있으며 통상적으로 나무의 크기에 따라 교목과 관목으로 크게 분류되어지고 있다. 10 미터 이상의 교목은 아열대 지방에 많이 분포하며, 2-3 미터 크기의 관목은 북쪽 지방에 주로 분포한다. 우리나라에서 재배되는 차나무의 대부분은 관목에 속하는 소엽종으로 우리나라를 비롯하여 중국 동남부, 일본, 대만 등지에 분포하며 대엽종보다 추위에 잘 견딜 수 있도록 개량된 품종이며 주로 녹차용으로 재배되고 있다. 국내에서는 보성군, 하동군을 둘러싼 지리산 일대에 대단위 차 재배지가 조성되어 있다.^{1,2)}

한편 차나무의 잎을 말려 가공한 녹차는 커피와 함께 전 세계인이 즐겨 마시는 역사가 가장 오래된 기호음료 중 하나

이다. 한편 녹차의 다양한 생체조절기능성 및 약리학적 효능이 널리 알려짐에 따라 녹차에 대한 인식도 종래의 기호음료에서 건강기능성식품으로 변화되어가고 있다. 또 우리나라 식품의약품안전처(KFDA)에서도 녹차 추출물을 항산화 효과, 체지방 감소, 체내 콜레스테롤 개선 등의 기능성이 입증된 건강기능식품의 원료로 인정하고 있으며 이러한 영향으로 국내의 녹차 소비량도 크게 증가되고 있는 추세이다.^{1,3)}

녹차의 추출물에는 약 3-4% 정도의 caffeine 이 존재하며 차카테킨이라고 알려져 있는 polyphenol계 성분들이 10-18% 정도 함유되어 있으며 caffeine과 차카테킨은 녹차의 주성분으로 잘 알려져 있다. 녹차에 함유된 차카테킨 성분은 catechin(C), epicatechin(EC), epigallocatechin gallate(EGCG), epigallocatechin(EGC), epicatechin gallate(ECG) 등으로 구성되어 있으며 이중 EGCG가 전체 차카테킨의 절반 이상을 차지하고 있다(Fig. 1). 또, 추출과정 중에 EGCG, EGC, ECG 등은 일부 galocatechin gallate(GCG), galocatechin(GC), catechin gallate(CG) 등으로 전환될 수 있다²⁾.

*교신저자(E-mail): info@alnfood.com, syryu@krcit.re.kr
(Tel): +82-63-261-3682, +82-42-860-7163

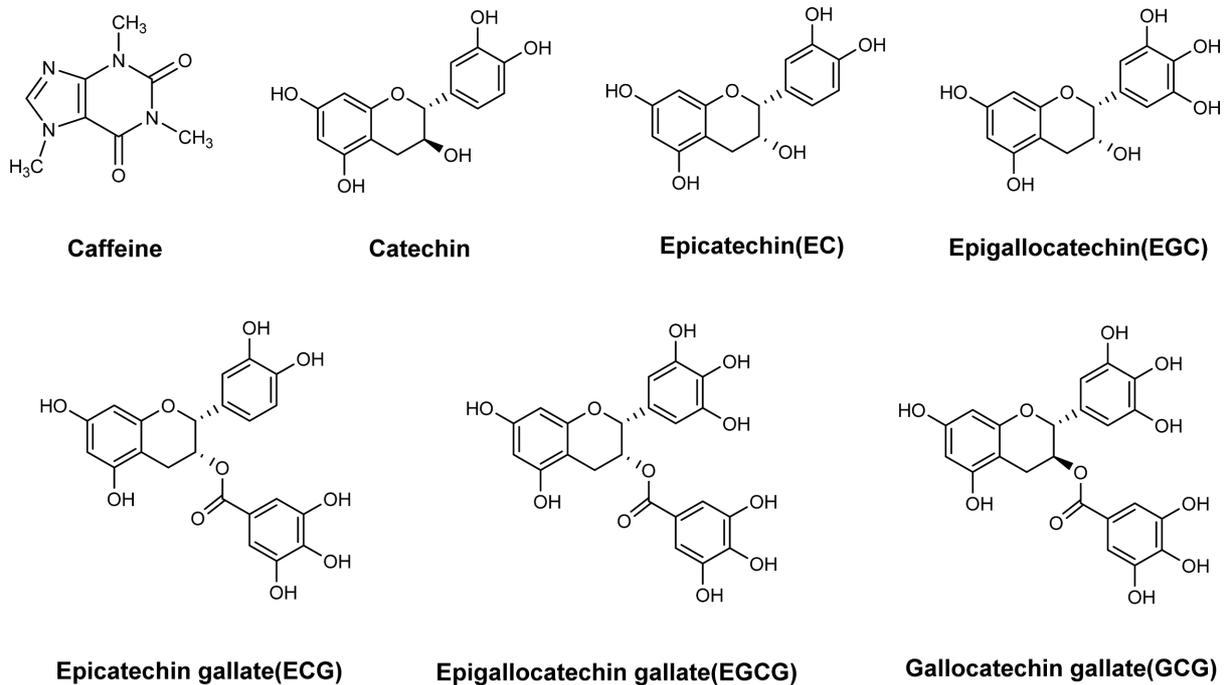


Fig. 1. Catechins in green tea and caffeine.

이들 주성분 이외에도 flavonol 성분, 다당류, theanine 등 아미노산, 엽록소, 정유 성분 및 비타민 성분(비타민 A, B₁, B₂, C, 니코틴산) 등이 보고되고 있으나 생체조절기능성 및 약리효능은 대부분 차카테킨 성분에서 기인된다고 알려져 있다. 녹차 및 녹차의 대표성분 EGCG에 대한 생체조절기능 및 약리효능에 대하여는 이미 수만 편의 연구논문이 발표되어 있으며 임상연구 논문만도 수백 편에 이르고 있다. 그동안 많은 국내의 연구진의 관심이 되어 왔던 녹차의 주요 약리효능은 항암(anticarcinogenic) 효능,³⁾ 항산화 효능,^{4,5)} 항당뇨효능,⁶⁾ 항비만효능,^{6,7)} 심혈관질환에 대한 약리효능,⁸⁾ 노화억제효능,⁹⁾ 이상지질혈증 개선효능,⁴⁾ 골다공증 개선효능(anti-osteoporosis),¹⁰⁾ 보습(humectant)^{11,12)} 주름억제(anti-wrinkle),¹³⁾ 기억력개선 및 치매예방 효능(memory-improving)¹⁴⁾ 등을 들 수 있으며 이들 효능에 대한 임상학적 연구결과들도 다수 보고되고 있다.

한편, 전 보¹⁾에 소개한 바와 같이 저자 등은 추출 및 가공과정 중 유기용매를 사용하지 않고 물과 주정(spirit, ethanol)만을 사용한 간편 chromatography 방법에 따라 녹차 열수추출물을 정제한 결과 caffeine은 전혀 함유되지 아니하고 대표적인 차카테킨 성분으로 알려진 EGCG(epigallocatechin gallate)만 97% 이상 함유된 EGCG 고함유 녹차추출물(epigallocatechin gallate-rich green tea extract)을 고수율로 확보할 수 있는 제조공법을 개발하여 보고한 바 있다.¹⁵⁾

본 제조공법에 따라 실험실 수준(lab-scale) 혹은 시험생산 수준(pilot-scale)의 생산설비를 활용하여 녹차 수십 kg을

추출하여 최종제품인 EGCG 고함유 녹차추출물을 생산해 왔다. 반면 본 제조공법의 프로토콜에 따라 제품의 대량생산을 위하여 녹차 수백 kg - ton을 대형 탱크형 추출조 내에서 추출하고 대형 chromatography 설비들을 사용하여 최종제품을 생산하고자 시도한 결과, 예기치 못한 문제점이 속속 발생하였고 이를 해결하고자 본 제조공정을 일부 개선할 필요가 대두되었다. 대량생산 system에 본 제조공정을 적용 시 발생한 문제점으로 우선 추출에 필요한 최소량의 물을 사용하여 대형 추출조 내에서 60~80°C에서 추출할 경우 EGCG의 상당량이 GCG로 전환되었으며 전환된 GCG는 Diaion HP-20 column chromatography방법으로는 EGCG와의 완전 분리가 어려워 최종제품에 혼입되게 됨으로써 결과적으로 최종제품의 순도를 떨어지게 하는 원인이 되었다. 또, 추출물을 Diaion HP-20 column chromatography방법으로 정제시 실험실 수준(lab-scale) 혹은 시험생산 수준(pilot-scale)에서와는 달리 EGCG와 함께 상당량의 caffeine이 함께 용출되었으며 따라서 제품 중에 혼입된 caffeine을 완제 제거하기 위하여 chromatography를 여러번 반복할 경우 작업시간 장기화 및 고비용 등의 문제가 발생하여 제조공정의 개선 및 수정이 불가피하게 되었다. 따라서 본 보에서는 최종제품 Er-GTE의 대량생산 system에서 발생한 최종제품 중 GCG 및 caffeine의 혼입으로 인한 제품순도 감소 문제를 원천적으로 해결하기 위하여 시도한 연구결과를 요약하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 분석기기 - HPLC는 Futecs HPLC system(NS-3000i integrated HPLC System, AT-4000 Column Oven, Korea) 및 kromasil 100-5-C18(4.6 × 250 mm, 5 μm) (Sigma-Aldrich, USA)을 사용하였다. HPLC 분석에 사용한 caffeine 및 (+)-catechin (C), (-)-epigallocatechin(EGC), (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-gallocatechin gallate(GCG), (-)-epicatechin gallate(ECG)는 Sigma-Aldrich (MI, USA)사에서 구입하였다. HPLC용 용매는 J.T Baker(water, MeOH) 및 Tedia(acetonitrile)제품을 사용하였다.

HPLC를 이용한 'EGCG 고함유 녹차추출물'의 분석법 - HPLC 분석 전 시료 액은 증류수로 희석 후 0.45 μm syringe filter(0.45 mm HV, Durapore[®])로 여과한 후 기기에 주입하였다. 이동상으로는 15% acetonitrile in 0.1% acetic acid 용액을 1.0 ml/min의 유속으로 용출시켰다. 시료 주입량은 20 μl로 하였으며, Oven(AT-4000 Column Oven, Futecs)의 온도는 35°C로 유지하였다. 자외부흡광광도검출기(Model 500, Chrom Tech[®])를 사용하였으며 검출파장은 280 nm로 정하였다.^{1,16)}

추출온도에 따른 EGCG의 GCG 전환율 - 시료 100 kg에 증류수 1,500 L를 가한 후 추출온도를 각각 30°C, 45°C, 50°C, 80°C에서 6시간 추출하고 추출액 aliquot을 취하여 증류수로 희석한 후 0.45 μm syringe filter(0.45mm HV, Durapore[®])로 여과한 후 HPLC 기기에 주입하였다.

강산성 양이온수지(Trilite SCR-B)의 Caffeine 흡착효과 - 시료 100 kg에 증류수 1,500 L를 가한 후 60°C에서 6시간 동안 추출하였다. 추출농축액 1.25 L(고형분으로서 450 g), 1.50 L(550 g), 1.75 L(640 g)을 따로따로 취하여 미리 H⁺ form으로 치환시켜둔 강산성 양이온수지(Trilite SCR-B) column(4 L, Ø16×20 cm)에 각각 분당 20 ml씩 loading하였다. 용출액 aliquot을 취하여 증류수로 희석 후 0.45 μm syringe filter(0.45 mm HV, Durapore[®])로 여과한 후 HPLC 기기에 주입하여 caffeine의 존재 유무를 확인하였다.

또, 추출액 1.50 L을 미리 H⁺ form으로 치환시켜둔 강산성 양이온수지(Trilite SCR-B) column(4 L, Ø16×20 cm)에 각각 분당 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml씩 loading하였다. 용출액을 증류수로 희석 후 0.45 μm syringe filter(0.45 mm HV, Durapore[®])로 여과한 후 HPLC 분석을 통하여 caffeine의 존재 유무를 확인하였다.

또 추출액 1.50 L을 미리 H⁺ form으로 치환시켜둔 강산성 양이온수지(Trilite SCR-B) column(4 L, Ø16×20 cm)에 분당 20 ml의 유속으로 loading하였다. 추출액의 loading이 종료된 후 증류수로 Trilite SCR-B 수지를 세척하고 이 때 용출되는 용출액을 1 L 씩 순차적으로 받은 후 각 용출액에

존재하는 EGCG 및 caffeine의 농도를 측정하였다.

기존공정에 따른 녹차 물추출물 및 'EGCG 고함유 녹차추출물'의 조제 - 실험에 사용한 건조녹차는 2016년, 전남 보성산을 구매하여 시료로 사용하였으며 표준시료는 (주)알앤오식품에 보관되어 있다. 개방형 추출조에서 시료 100 g에 증류수 1.5 L를 가한 후 60°C에서 6 시간씩 2회 반복추출하고 추출액은 여과지로 여과 후 여액 3 L을 동량의 ethylacetate(EA)로 추출하고 EA층을 농축하였다. 농축된 EA층을 증류수 2 L에 현탁시킨 후 Diaion HP-20 column(100 ml, Ø4.0×15 cm)에 서서히 주입하여 흡착시켰다. 이후 Diaion HP-20 column을 4 L의 증류수로 수회 세척한 후 10% 주정, 20% 주정, 30% 주정용액을 각각 500 mL 씩 단계적으로 용출시켰으며 이 중 20% 주정 용출분을 취하여 주정이 제거될 때까지 농축하고 농축액은 같은 방법으로 Diaion HP-20 column chromatography를 한 번 더 반복하고 잔류 주정이 제거될 때까지 농축하여 생성된 농축물을 물로 희석한 후 재결정을 반복하여 최종적으로 흰색 EGCG 고함유 녹차추출물 1.2 g을 얻었다.¹⁵⁾

개선된 공정에 따른 녹차 물추출물 및 EGCG 고함유 녹차추출물의 조제 - 개방형 추출조에서 시료 100 kg에 증류수 1,500 L를 가한 후 45°C에서 6 시간씩 2회 반복 추출하여 합친 후(2,800 L), 이 중 반은 미리 H⁺ form으로 치환시켜 둔 Trilite SCR-B column(160 L, Ø60×60 cm)에 분당 160 ml로 loading 하였다. 이후 column을 증류수 400 L로 세척하였으며 용출액과 세척액을 합친 1,800 L중 반(50%)을 즉시로 Diaion HP-20 column(160 L, Ø60×60 cm)에 서서히 주입하여 흡착시켰다. 이후 Diaion HP-20 column을 증류수 400 L로 세척한 후 10% 주정, 20% 주정, 30% 주정용액을 각각 400 L 씩 단계적으로 용출시켰으며 이 중 20% 주정 용출분을 확보하였다. 이후 나머지 추출물도 같은 방법으로 정제하여 얻은 20% 주정 용출분을 모두 합하여 주정이 모두 제거될 때까지 농축하였다. 농축액은 재결정을 반복하고 여과한 후 동결건조하여 최종적으로 흰색의 EGCG 고함유 녹차추출물(Er-GTE) 5.2 kg을 얻었다.

결과 및 고찰

신규 건강기능식품 소재 EGCG 고함유 녹차추출물(Er-GTE)의 제조공정 표준화 및 대량생산을 위한 최적의 제조조건을 도출하고자 추출조건 및 제조공법을 재검토하였다. 이를 위하여 우선 추출용매, 추출시간, 온도, 압력 등의 공정변수에 따른 최종제품의 수율을 지표로 하여 추출조건의 재설정을 시도하였다. 일반적으로 대량 추출을 목적으로 하는 500 L - 2 kL 규격의 대형 추출조는 추출효율을 높이기 위하여 적절하게 압력을 조절할 수 있도록 밀폐형 탱크형태로 제작되어 있으며 시중에서 가장 널리 사용되고 있다.

그러나 최소량(10배)의 물을 추출용매로 사용하여 건조 녹차를 대형농축기 내에서 추출할 경우 EGCG를 포함한 차카테킨 성분 이외에 다수의 부산물이 생성되는 결과가 발생되어 Er-GTE의 양산을 위하여서는 밀폐형 탱크 추출조를 사용하는 추출방법은 부적합하다는 결론에 도달하였다. 추출과정 중 얻어진 부산물들을 분리하여 HPLC 분석 및 NMR, MS 등 분광학적 자료들을 토대로 동정한 결과 이들 부산물들은 각각 EGCG, EGC, ECG 성분의 3-epimer인 gallocatechin gallate(GCG), gallocatechin(GC) 및 catechin gallate(CG) 등으로 확인되었으며 시료량의 10 배에 해당하는 물을 사용하여 80°C에서 6시간 동안 밀폐형 탱크 추출조에서 추출한 추출물의 경우 EGCG와 gallocatechin gallate(GCG)의 비율이 4.5 : 1 정도로 나타났다. 이와 같은 결과는 Ikeda²⁾ 등의 연구결과와 잘 일치되고 있으며 EGCG가 GCG로 전환되는 epimerization 현상은 고열 및 고압에 노출되는 시간에 비례하여 가속화됨을 알 수 있었다. 또, 추출과정 중에 생성된 GCG는 기존의 제조공법에서 활용한 Diaion HP-20 column chromatography방법 뿐만 아니라 타 chromatography 방법으로도 EGCG와의 완전분리가 어려워 최종제품 중에 혼입되게 됨으로서 결과적으로 최종제품의 순도를 떨어뜨리게 된다. 따라서 이와 같이 추출과정 중에 일어나는 유효성분 EGCG의 epimerization 현상이 최소화될 수 있는 조건을 설정하고자 추출온도에 따라 EGCG가 GCG로 전환되는 비율을 검토하여 보았다. 그 결과 Fig. 2와 같이 추출온도를 각각 35°C, 45°C, 50°C, 80°C에서 6시간 추출하여 얻은 추출물의 HPLC 분석결과를 살펴보면 추출온도가 45°C 이하에서는 EGCG의 일부가 GCG로 전환되는 현상이 관찰되지 않았으나 추출온도가 50°C 이상에서는 GCG가 생성되기 시작하였으며 추출온도를 80°C로 한 경우에는 EGCG의 15~20%가 GCG로 전환됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 따라서 Er-GTE의 양산을 위하여서는 비록 추출효율이 떨어질 수는 있지만 추출압력이 발생할 수 있는 밀폐형 추출조의 사용을 피하고 추출온도도 50°C 이하에서 진행하여야 GCG 등 불필요한 부산물의 생성을 원천적으로 배제할 수 있으리라 사료된다.

다음으로 Diaion HP-20 column chromatography방법으로 추출물을 정제시 실험실 수준(lab-scale) 혹은 시험생산 수준(pilot-scale)에서와는 달리 대량생산 system에서는 EGCG와 함께 상당량의 caffeine이 함께 용출되기 때문에 혼입된 caffeine을 완벽 제거하기 위하여 chromatography를 여러번 반복해야 하는 문제가 제기된다. 이를 해결하고자 추출물을 Diaion HP-20 column chromatography으로 정제하기 이전에 추출물에 함유된 caffeine을 미리 모두 제거하는 방법을 모색하였으며 그 일환으로 이온교환수지 사용법을 검토하였다. 이를 위하여 식품 제조공정에서 사용 가능한 여러가지 이온교환수지를 사용하여 추출물에 함유된 caffeine에 대

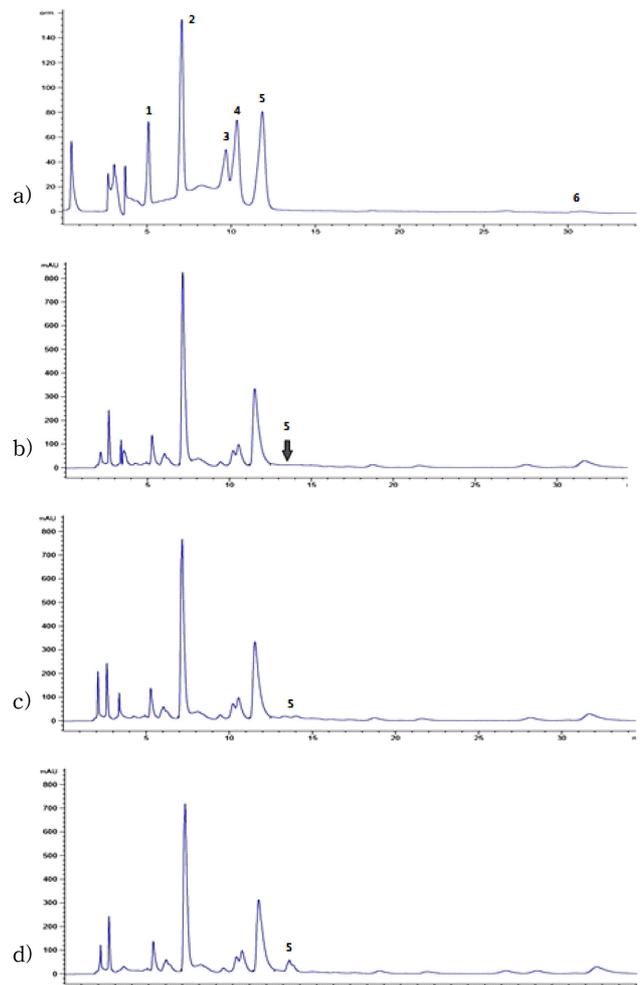


Fig. 2. HPLC chromatogram of a) standard 5 catechins and caffeine, b) whole extract of green tea extracted at 45°C, c) whole extract of green tea extracted at 50°C, d) whole extract of green tea extracted at 80°C. HPLC: column; kromasil 100-5-C18 (4.6 X 250) mobile phase; 15% acetonitrile in 0.1% acetic acid, detection; UV 280nm. Peaks: 1. EGC, 2. caffeine, 3. EC, 4. EGCG, 5. GCG, and 6. ECG.

한 흡착능력을 검토하여 본 결과 강산성 양이온 교환수지를 제외한 기타 수지(약산성 양이온 교환수지, 강염기성 음이온 교환수지 등)들은 흡착능이 미미하여 적용할 수가 없었다. 따라서 EGCG 정제과정 이전에 caffeine을 미리 제거하는 방안으로 식품 제조공정에서 널리 사용되고 있는 강산성 양이온수지 Trilite SCR-B column을 통과시켜 caffeine을 수지에 모두 흡착시킨 후 이어서 Trilite SCR-B 수지를 통과한 용출액(eluate)을 기존의 제조공정에 따라 정제하는 방식으로 EGCG고함유 녹차추출물(Er-GTE)의 제조를 고려하였다. 이를 위하여 사용한 강산성 양이온수지 Trilite SCR-B에 caffeine 성분이 흡착되는 능력 및 교환용량(capacity)을 검토하였다. 그 결과 Trilite SCR-B(4 L, \varnothing 16×20 cm)는 최

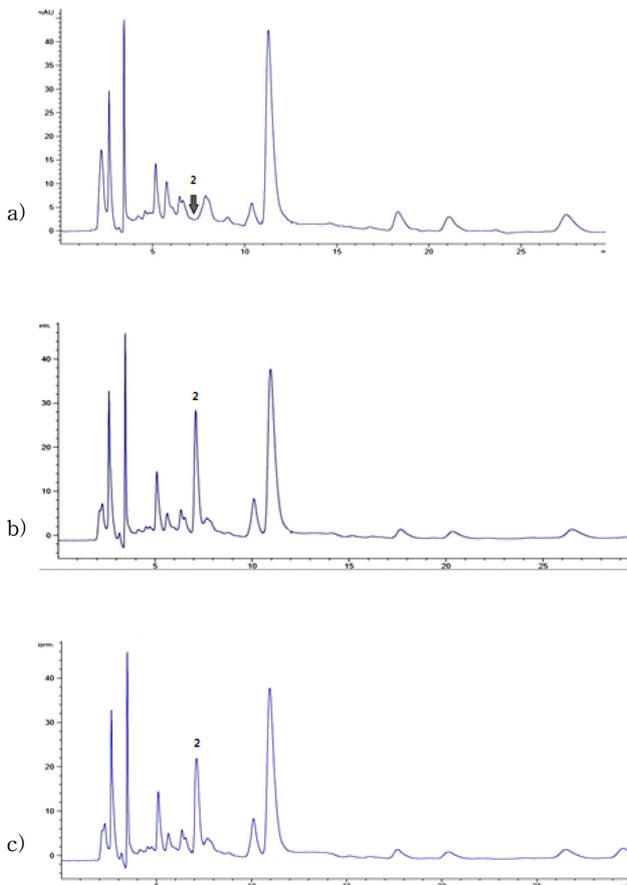


Fig. 3. HPLC chromatogram of a) eluate passed through cation exchange resin loaded with 1.5 L of green tea extract with a flow rate of 30 ml/min, b) eluate passed through cation exchange resin loaded with 1.75 L of green tea extract with a flow rate of 30 ml/min, c) eluate passed through cation exchange resin loaded with 1.5 L of green tea extract with a flow rate of 50 ml/min. detection; UV 280nm. Peak 2 (caffeine).

소한 녹차추출물 1.5 L(건조중량 약 550 g)에 존재하는 caffeine을 모두 효과적으로 흡착시킬 수 있다고 판단되며 결론적으로 녹차추출물에 대한 Trilite SCR-B 수지의 교환 용량(capacity)은 360 g/L 이상이라고 판단할 수 있었다(Fig 3). 또, 녹차추출물을 Trilite SCR-B column을 통과시켜 caffeine을 흡착시킬 시 추출물의 loading 속도에 따라 caffeine이 수지에 어느 정도 흡착될 수 있는지를 알아보기 위하여 loading 속도를 분당 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml씩 조절하여 본 결과 loading 속도가 50 ml를 초과한 경우에는 상당량의 caffeine이 수지에 흡착되지 못하고 용출되었다(Fig 3). 또, 녹차추출물을 Trilite SCR-B column을 통과시켜 caffeine을 완전히 흡착시킨 Trilite SCR-B 수지를 세척시 세척액은 어느 정도의 양이 필요한지를 알아보고자 증류수로

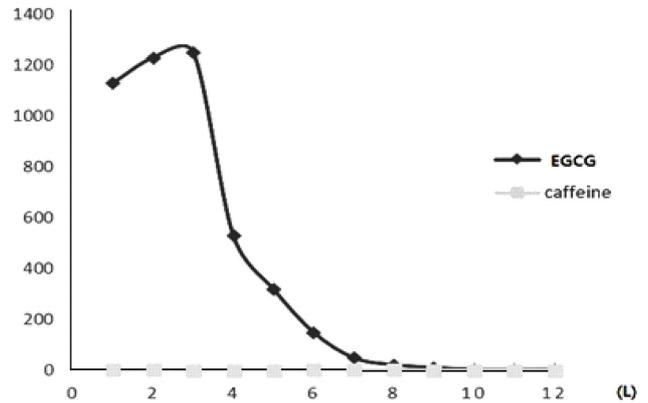


Fig. 4. EGCG and caffeine content in each 100 ml eluate passed through cation exchange resin.

Trilite SCR-B 수지를 세척하고 이 때 용출되는 세척액을 순차적으로 1 L 씩 받은 후 각 세척액에 존재하는 EGCG 및 caffeine의 농도를 측정하였다(Fig. 4). 그 결과 세척액 중의 EGCG 농도는 처음 5 L 세척액 이후부터는 급격히 감소하여 10 L 세척액 이후에는 거의 검출이 되지 아니하였다. 반면 caffeine은 모든 세척액에서 검출이 되지 않아 녹차추출물에 존재하는 caffeine은 모두 Trilite SCR-B 수지에 성공적으로 흡착이 됨을 알 수 있었다. 또 녹차추출물에 존재하는 caffeine을 제외한 기타 성분들은 Trilite SCR-B 수지 용량 대비 2.5 배 정도에 해당하는 양의 증류수로 수지를 세척하면 모두 용출됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4). Trilite SCR-B 수지를 통과한 용출액을 Diaion HP-20 column chromatography 방법으로 정제하는 제조공정은 기존의 제조공정과 같이 용출용매 중 주정의 함량을 높여주는 step-by-step 방식으로 진행하였으며 Trilite SCR-B 수지 처리를 통하여 caffeine 성분이 모두 제거된 관계로 단회의 chromatography 공정으로 EGCG 고함유 녹차추출물(Er-GTE)를 효과적으로 제조할 수 있었다. 개선된 제조공정에 따라 생산된 Er-GTE는 HPLC 분석결과 caffeine은 전혀 함유되지 않았으며 EGCG의 순도는 $96\pm 2\%$ 로 확인되었다(Fig. 5). 아울러 기존의 제조공정에서는 Diaion HP-20 column chromatography 과정이 보다 원활하게 진행될 수 있도록 편의상 녹차 추출물을 ethylacetate(EA)로 추출한 후 EA로 이행된 분획만을 취하여 chromatography를 실시하여 최종제품을 생산해 왔으나 개선된 제조공정에서는 녹차 추출물을 ethylacetate(EA)로 추출하는 공정을 생략하고 녹차 추출물을 Trilite SCR-B 수지 처리 후 얻어진 용출액을 곧바로 Diaion HP-20 column에 흡착시킨 후 chromatography를 실시하므로써 제조공정이 기존의 제조공정에 비하여 훨씬 단순화되었으며 부가적으로 녹차 열수추출물을 ethylacetate(EA)로 재추출하는 공정도 생략할 수 있었다.

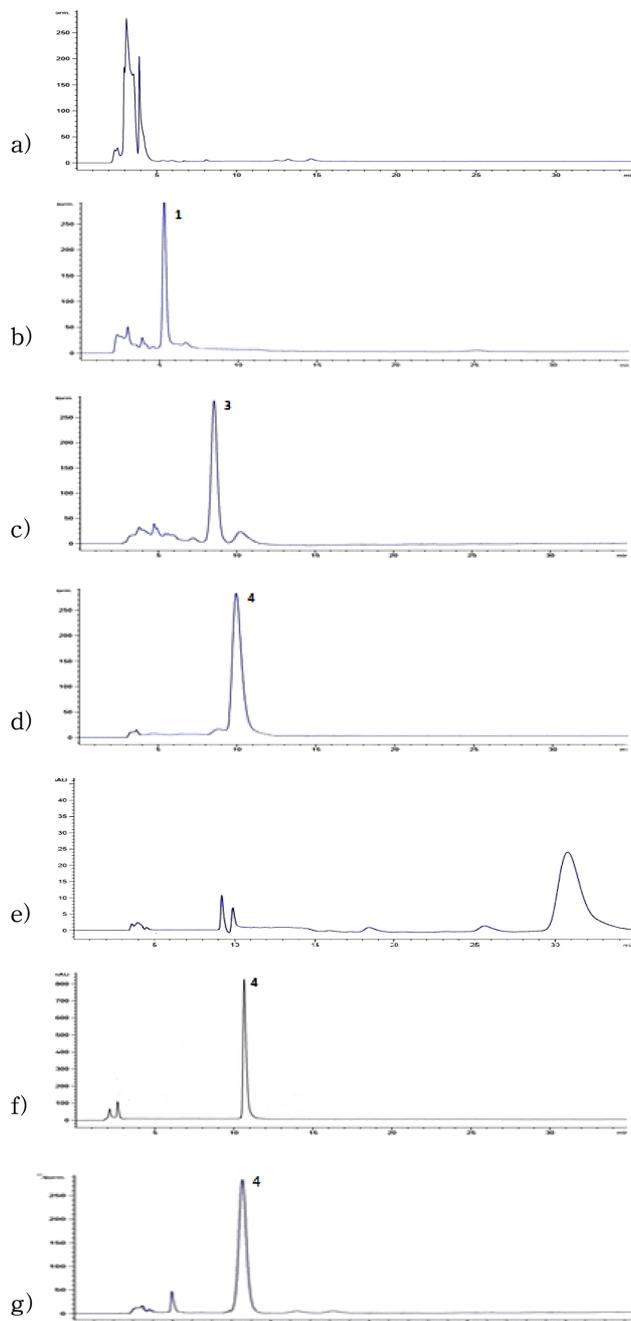


Fig. 5. HPLC chromatogram of a) eluate eluted with H₂O, b) eluate eluted with 10% EtOH, c) eluate eluted with 15 % EtOH, d) eluate eluted with 20% EtOH, e) eluate eluted with 25% EtOH, f) Er-GTE obtained from eluate eluted with 20% EtOH by modified method, and g) Er-GTE obtained by previous method. detection; UV 280nm. Peaks: 1. EGC, 3. EC, 4. EGCG.

결 론

물과 주정(spirit, ethanol)만을 사용한 간편 chromatography 방법에 따라 녹차 열수추출물로부터 EGCG(epigallocatechin

gallate) 97% 이상 함유된 EGCG 고함유 녹차추출물(Er-GTE : epigallocatechin gallate-rich green tea extract)을 고수율로 확보할 수 있는 대량생산 제조공법을 적절하게 개선하였다. 기존의 제조공법은 시험생산 수준(pilot-scale)에 적합하도록 최적화된 방법으로서 본 제조공법을 그대로 대량생산 공정에 적용시 최종제품 중에 상당량의 GCG 및 caffeine이 혼입되어 제품순도가 감소되는 현상이 야기되었다. 추출기를 개방형으로 바꾸고 추출온도를 45°C 이하로 조절한 결과 추출효능은 약간 감소되었으나 EGCG의 epimerization 현상으로 생성된 GCG는 최종제품 중에 더 이상 발견되지 아니하였다. 또, 최종제품에 caffeine이 혼입되는 현상은 원천적으로 차단하고자 추출물을 Diaion HP-20 column chromatography으로 정제하기 이전에 미리 강산성 양이온수지 Trilite SCR-B 수지를 통과시켜 추출물에 존재하는 caffeine을 모두 수지에 흡착시키는 방법을 채택하였으며 수지에 흡착되지 않고 용출된 용출액(eluate)을 기존의 제조공정에 따라 Diaion HP-20 column chromatography 방법으로 정제하여 단시간 내에 고수율의 EGCG고함유 녹차추출물(Er-GTE)를 간편하게 제조할 수 있었다.

사 사

본 연구는 농림축산식품부 수출전략기술개발사업(116133-03) 및 고부가가치식품기술개발사업(317074-3)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Cheon, S. I., Eun Ji Heo, E. J., Yoon, M. J., Choi, S. U., Ryu, G-S. and Ryu, S. Y. (2018) Evaluation for long-term stability of EGCG rich green tea extract EGTE). *Kor. J. Pharmacogn.* **49**: 328-335.
- Ikeda, I., Kobayashi, M., Hamada, T., Tsuda, K., Goto, H., Imaizumi, K., Nozawa, A., Sugimoto, A. and Kakuda, T. (2003) Heat-epimerized tea catechins rich in gallic acid gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J. Agri. Food Chem.* **51**: 7303-7307.
- Sur, S. and Panda, C. K. (2017) Molecular aspects of cancer chemopreventive and therapeutic efficacies of tea and tea polyphenols. *Nutrition* **43-44**: 8-15.
- Kang, K. W., Oh, S. J., Ryu, S. Y., Song, G. Y., Kim, B. H., Kang, J. S. and Kim, S. K. (2010) Evaluation of the total oxyradical scavenging capacity of catechins isolated from green tea. *Food Chem.* **121**: 1089-1094.
- Peter, B., Bosze, S. and Horvath, R. (2017) Biophysical characteristics of proteins and living cells exposed to the green tea

- polyphenol epigallocatechin-3-gallate(EGCG): review of recent advances from molecular mechanisms to nanomedicine and clinical trials. *Eur. Biophys. J.* **46**: 1-24.
6. Chakrawarti, L., Agrawal, R., Dang S., Gupta, S. and Gabrani, R. (2016) Therapeutic effects of EGCG: a patent review. *Expert. Opin. Ther. Pat.* **26**: 907-916.
 7. Chen, I. J., Liu, C. Y., Chiu, J. P. and Hsu, C. H. (2016) Therapeutic effect of high-dose green tea extract on weight reduction: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Clin. Nutr.* **35**: 592-529.
 8. Chiaverini, C., Roger, C., Fontas, E., Bourrat, E., Bourdon-Lanoy, E., Labrèze, C., Mazereeuw, J., Vabres, P., Bodemer, C. and Lacour, J. P. (2016) Oral epigallocatechin-3-gallate for treatment of dystrophic epidermolysis bullosa: a multicentre, randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Orphanet J. Rare Dis.* **25**: 11-31.
 9. Chen, J., Li, Y., Zhu, Q1, Li T., Lu, H., Wei, N., Huang, Y., Shi, R., Ma, X., Wang, X. and Sheng, J. (2017) Anti-skin-aging effect of epigallocatechin gallate by regulating epidermal growth factor receptor pathway on aging mouse model induced by d-Galactose. *Mech. Ageing Dev.* **164**: 1-7.
 10. Lin, S. Y., Kang, L., Wang, C. Z., Huang, H. H., Cheng, T. L., Huang, H. T., Lee, M. J., Lin, Y. S., Ho, M. L., Wang, G. J. and Chen, C. H. (2018) (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) enhances osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Molecules* **23**: E3221.
 11. Kim, E., Hwang, K., Lee, J., Han, S. Y., Kim, E. M., Park, J. and Cho, J. Y. (2018) Skin protective effect of epigallocatechin gallate. *Int. J. Mol. Sci.* **19**: E173.
 12. Alison, F., Stallings, and Mary, P. L. (2009) Practical uses of botanicals in skin care. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* **2**: 36-40.
 13. Hajiaghaalipour, F., Kanthimathi, M. S., Abdulla, M. A. and Sanusi, J. (2013) The effect of *Camellia sinensis* on wound healing potential in an animal model. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* **2013**: 386734.
 14. Guo, Y. L., Zhao, Y., Nan, Y., Wang, X., Chen, Y. and Wang, S. (2017) (-)-Epigallocatechin-3-gallate ameliorates memory impairment and rescues the abnormal synaptic protein levels in the frontal cortex and hippocampus in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroreport.* **28**: 590-597.
 15. Ryu, S. Y. and Choi, S. U. (2016) ass-production of highly pure epicatechin gallate KR 대한민국특허 10-1659423.
 16. Zhu, H., Kim, J. S., Park, K. L., Cho, C. W., Kim, Y. S., Kim, J. W., Ryu, S. Y. and Kang, J. S. (2009) Estimation of harvest period and cultivated region of commercial green tea by pattern recognition. *Yakhak Hoeji* **53**: 51-59.
- (2019. 8. 14 접수; 2019. 8. 27 심사; 2019. 9. 3 게재확정)