



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0098470
(43) 공개일자 2014년08월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 36/82 (2006.01) A61K 31/351 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-0011155

(22) 출원일자 2013년01월31일

심사청구일자 2013년01월31일

(71) 출원인

경상대학교산학협력단

경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)

재단법인 하동녹차연구소

경상남도 하동군 화개면 섬진강대로 3748-14

(72) 발명자

최명석

경남 진주시 향교로 3, A동 1401호 (평안동, 진주 롯데인벤스)

송현진

경남 김해시 삼안로 244, 7동 1006호 (삼방동, 한 일아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김순용

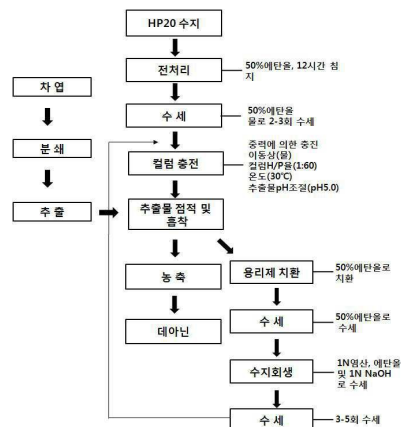
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 차나무 추출물로부터 테아닌의 정제방법

(57) 요약

본 발명은 차나무 추출물로부터 테아닌의 정제방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 테아닌의 정제방법은 기존의 이온수지 흡착제로 정제하는 경우에 비해, 추출효율과 정제효율이 높아 테아닌을 고효율적으로 정제분리할 수 있을 뿐만 아니라, 사용한 합성 수지를 재사용할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도9



(72) 발명자

정미진

경남 김해시 김해대로 1784-27, 105동 406호 (삼계동, 김해북부두산위브)

김학곤

경남 창원시 성산구 비읍로 31-1, (사파동)

서영룡

경북 상주시 공성면 평천2길 36-8,

김종철

경남 하동군 화개면 섬진강대로 3748-14,

조경환

경남 하동군 하동읍 중앙로 103, 101동 201호 (송보파인빌)

김용덕

경남 진주시 내동로348번길 10, 108동 901호 (가좌동, 주공그린빌아파트)

이종국

경남 하동군 하동읍 소재1길 9, 나동 206호 (무지개맨션)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012-0656

부처명 지식경제부

연구사업명 RIS 제품개발 사업

연구과제명 스트레스 클리어 데아닌

기 여 율 1/1

주관기관 경상대학교

연구기간 2012.05.01 ~ 2013.01.31

특허청구의 범위

청구항 1

- (a) 차엽을 추출 용매로 추출하여 차엽 추출물을 얻는 단계; 및
- (b) 상기 (a)단계의 추출물을 Amberite XAD-4; Amberite XAD-2; 폴리-N-비닐-2-피롤리디논(Poly-N-vinyl-2-pyrrolidinone); DIAION HP20으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 합성수지가 충전된 오픈칼럼에 통과시켜 테아닌을 분리 및 정제하는 단계; 를 포함하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (a)단계의 추출 용매는 증류수, 헥산(hexane) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (b)단계의 칼럼의 길이/직경비는 1:50~70인 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 (b)단계의 오픈 칼럼은 pH 4.0 ~ pH 6.0인 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 (b)단계의 테아닌의 분리정제는 25~35℃에서 수행하는 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 (b)단계 이 후에

- (c) 상기 (b)단계에서 사용된 합성수지를 물이나 유기용매로 수세하는 단계; 를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 (c)단계의 유기용매는 염산, 에탄올 및 수산화나트륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 테아닌의 정제방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 차나무 추출물로부터 테아닌의 정제방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 차잎은 카페인, 탄닌, 질소, 단백질, 비타민 A 및 C, 무기염류 등을 함유하고 있어 각성작용과 이뇨, 강심, 해독, 피로회복 등 인체에 이로운 약리작용을 한다. 이 중 테아닌(Theanine)은 차의 맛을 좌우하는 아미노산의 하나로 테아닌 함량이 많을수록 차의 맛이 좋아진다. 테아닌은 진정제, 스트레스 완화 성분 중의 하나로서, 뇌파 중 알파파 생성을 촉진한다. 또한 혈압을 낮게 해주며, 도파민(dopamine), GABA(γ -butyric acid) 등 다른 아미노산의 생성을 도와주기도 한다. 따라서, 테아닌 성분을 고함유하는 차나무의 육성은 산업적으로 매우 큰 가치를 가진다.

[0003] 차나무 잎으로부터 테아닌의 추출은 미국, 일본, 중국 등지에서 많은 연구를 수행하여 일부 기업에서 산업적으로 생산을 하고 있다. 테아닌의 생산은 초임계 추출법, 초임계수 추출, 고압법 등의 방법으로 이루어지고 있으나 아직 효율적이고 안정적인 생산 방법은 존재하지 않는 실정이다.

[0004] 근래 미국에서는 양이온수지를 이용한 데아닌 추출법이 이용되고는 있으나, 이는 수지의 종류에 따라 추출 효율의 차이를 보여 보다 경제성이 높은 수지를 이용하여 안정적이고 효율적인 데아닌의 정제방법이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이에 본 발명자들은, 효율적이고 안정적인 데아닌의 정제를 위한 최적의 조건을 알아내기 위한 연구를 계속하던 중, 특정 수지를 이용할 경우 데아닌의 정제 효율이 우수한 것을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0006] 따라서, 본 발명은 차나무 추출물로부터 데아닌의 정제방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 차엽 추출물을 Amberite XAD-4; Amberite XAD-2; 폴리-N-비닐-2-피롤리디논(Poly-N-vinyl-2-pyrrolidinone); DIAION HP20으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 합성수지가 충전된 오픈칼럼에 통과시켜 데아닌을 분리 및 정제하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명에 따른 데아닌의 정제방법은 기존의 이온수지 흡착제로 정제하는 경우에 비해, 추출효율과 정제효율이 높아 데아닌을 고효율적으로 정제분리할 수 있을 뿐만 아니라, 사용한 합성 수지를 재사용할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 차엽 추출물의 아미노산 표준물질들을 크로마토그램으로 나타낸 도이다[(A)데아닌 표준물질을 제외한 40종 아미노산 표준물질, (B)데아닌 표준물질].

도 2는 합성수지의 종류에 따른 추출물의 정제 후 아미노산 및 데아닌의 함량을 나타낸 도이다.

도 3은 오픈칼럼의 길이/직경비(H/D)에 따른 차엽 추출물의 정제 후 아미노산 및 데아닌의 함량을 나타낸 도이다.

도 4는 흡착방법에 따른 차엽 추출물의 정제 후 아미노산 및 데아닌의 함량을 나타낸 도이다.

도 5는 오픈칼럼의 pH에 따른 차엽 추출물의 정제 후 데아닌의 함량을 나타낸 도이다.

도 6은 추출물의 온도에 따른 차엽 추출물의 정제 후 데아닌 함량을 나타낸 도이다.

도 7은 HP20 수지의 사용 횟수에 따른 차엽 추출물의 정제 후 아미노산 및 데아닌 함량을 나타낸 도이다.

도 8은 각 용매별로 수세한 HP20 수지를 이용하여 차엽 추출물의 정제 후 아미노산 및 데아닌 함량을 나타낸 도이다.

도 9는 HP20 합성수지를 사용하여 데아닌을 정제하는 전체 공정의 개략도를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명은

[0011] (a) 차엽을 추출 용매로 추출하여 차엽 추출물을 얻는 단계; 및

[0012] (b) 상기 (a)단계의 추출물을 Amberite XAD-4; Amberite XAD-2; 폴리-N-비닐-2-피롤리디논(Poly-N-vinyl-2-pyrrolidinone); DIAION HP20으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 합성수지가 충전된 오픈칼럼에 통과시켜 데아닌을 분리 및 정제하는 단계;를 포함하는, 데아닌의 정제방법을 제공한다.

[0013] 이하, 본 발명에 대해 단계별로 상세히 설명한다.

[0014] 상기 (a)단계는 차엽 추출물을 얻는 단계로서, 차나무와 수종을 분쇄하여 추출용매에 넣고 열탕 추출하고, 추출액을 여과지로 여과하여 차엽 추출물을 얻는다.

- [0015] 상기 추출 용매는 증류수, 헥산(hexane) 및 에틸아세테이트(ethyl acetate)로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0016] 상기 (b)단계는 상기 (a)단계에서 얻어진 추출물로부터 테아닌을 분리 및 정제하는 단계로서, Amberite XAD-4; Amberite XAD-2; 폴리-N-비닐-2-피롤리디논(Poly-N-vinyl-2-pyrrolidinone); DIAION HP20으로 이루어진 군으로 부터 선택된 1종 이상의 합성수지가 충전된 오픈칼럼에 상기 (a)단계에서 얻어진 차엽 추출물을 통과시켜 테아닌을 분리 및 정제한다. 상기 합성수지는 HP20을 이용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0017] 상기 (b)단계의 오픈칼럼의 길이/직경비는 1:50~70인 것이 바람직하다. 이는 칼럼의 길이/직경비가 높아질수록 총 아미노산 대비 테아닌의 정제에 효과적이기 때문이다.
- [0018] 상기 (b)단계의 오픈칼럼은 pH 4.0 ~ pH 6.0인 것이 바람직하다. 이 때, 오픈 칼럼의 농도는 염산(HCl)과 수산화나트륨(NaOH)을 이용하여 조절하는데, 이는 테아닌의 정제효율이 약산성일 때 가장 높게 나타나며, 염기성에서는 정제효율이 떨어지기 때문이다.
- [0019] 상기 (b)단계의 테아닌의 분리정제는 25~35℃에서 수행하는 것이 바람직하다. 테아닌의 추출에는 낮은 온도보다는 다소 높은 온도가 유리하기 때문이다.
- [0020] 또한 본 발명은, 상기 (b)단계 이 후에
- [0021] (c) 상기 (b)단계에서 사용된 합성수지를 물이나 유기용매로 수세하는 단계;를 더 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 (c)단계는 사용된 합성수지를 수세하여 재생하는 단계로서, 테아닌의 정제에 이미 사용된 합성 수지를 물이나 유기용매로서 수세하여 재사용이 가능하다. 상기 유기용매는 염산, 에탄올, 수산화나트륨으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것이 바람직하다.
- [0023] 상기와 같이 합성수지의 수세과정을 거칠 경우, 수세된 합성수지가 지속적으로 테아닌 이외의 아미노산을 흡착함으로써, 테아닌을 정제할 수 있다.
- [0024] 상기한 본 발명의 테아닌의 정제방법은 기존의 이온수지 흡착제로 정제하는 경우에 비해, 추출효율과 정제효율이 높아 테아닌을 고효율적으로 정제분리할 수 있을 뿐만 아니라, 사용한 합성 수지를 재사용할 수 있는 효과가 있다.
- [0025] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0026] <실시예 1> 차엽에서 추출물의 제조
- [0027] 1. 차엽에서 추출물의 제조
- [0028] 본 실험에서 사용한 차엽은 하동군 차 시배지에서 재래종 야생차 잎(Camellia sinensis var.sinensis)을 신초상위 제1엽에서 제3엽까지 시료 100g을 채취하여 음건한 후 분쇄하여 100mesh에 통과시킨 다음 폴리에틸렌(polyethylene) 주머니로 진공 포장하여 -20℃에서 저장하여 실험에 사용하였다. 실험 시에는 준비되어 있는 찻잎 시료를 추출온도 80℃, 추출시간 30분, 찻잎과 물의 비율을 1:10, 찻잎의 크기를 0.5~0.85mm로 조제하여 테아닌을 추출하였다.
- [0029] 2. 차엽 추출물 내의 테아닌 및 아미노산 분석
- [0030] 상기 1.에서 추출된 추출물의 테아닌 및 아미노산 분석은 하기와 같은 방법으로 수행하였다.
- [0031] 아미노산의 정량은 Heresztyn의 방법에 의해 HPLC로 분석하였다. 찻잎 가루 1g에 10mL의 3% 트리클로로아세트산(trichloroacetic acid; Sigma Co.USA)을 가하여 30℃에서 2시간 동안 초음파 추출(XD350H, 성동초음파, Korea)한 후, 4,500rpm에서 15분간 원심 분리하였고, 상등액을 0.45μm CA 막여과기(membrane filter; MFS-25,

Advantec, MFS, Inc., CA,USA)로 여과하였다. HPLC용 소용량 유리병(vial, 300 μ l)에 여과된 녹차 추출 용액 40 μ l를 넣고 보레이트 완충용액(borate buffer) 50 μ l와 유도체화 시약(AccQ-Flour™) 10 μ l를 가하여 유도체화하였으며, 균일한 유도체화를 위하여 55℃에서 10분간 열처리하여 형광 검출하였다. 유도체 시약으로 6-아미노퀴놀리-N-히드록시-석신이미딜 카바메이트 (6-aminoquinoly-N-hydroxy-succinimidyl carbamate, AccQ-Flour)를 사용하였다. 사용되는 hycolumn은 AccQ.Tag™C18 Column (3.9mm x 150mm, 30℃, Waters Co.USA)로 분석하였으며, 분석 조건으로 이동상 A와 B는 0.1M 아세트산나트륨 용액(pH 6.8)에 각각 4%와 30% 아세토니트릴(acetonitrile)을 섞은 용매를 사용하였으며, 변화 조건은 A:B=94:6(20분), 84:16(20.2분), 84:16(35분), 15:85(38분), 94:6(38.5분), 94:6(44.5분)으로 하였으며, 유속은 1mL/min이었으며, 형광검출기의 조건은 250nm와 395nm에서 글루탐산(glutamic acid), γ -아미노부티르산(γ -aminobutyric acid), 아르기닌(arginine), 데아닌을 분석하였다. 분석된 아미노산의 농도는 Millenium32 프로그램을 이용하여 정량화하였다. 분석에 사용된 표준품 (Sigma-Aldrich Chemical Co.MO,USA)용액을 농도 별로 분석한 표준 곡선을 만들어 각 아미노산의 함량을 구하였다. 사용한 표준품은 데아닌, 타우린 등 35종을 사용하였다.

[0032] 상기 분석 결과 데아닌과 아미노산 함량을 분석할 수 있었으며, 분석된 총 41종의 표준아미노산의 크로마토그램은 도 1에 나타내었다.

[0033] 도 1에 나타난 바와 같이, 데아닌은 11번째 물질로 40.83분에 나타났다.

[0034] <실시예 2> 데아닌 추출에 최적 추출 용매 선정 실험

[0035] 상기 실시예1에서 실시한 데아닌 추출 방법과 동일한 방법으로 추출용매를 달리하여 데아닌을 추출하여 추출물을 획득하였다. 추출용매는 헥산(hexane), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 물(water)을 순차적으로 사용하여 추출한 후 카테킨, 아미노산 및 데아닌의 함량을 측정하였다.

[0036] 측정 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0037] 용매 순차 추출에 의한 추출효율과 데아닌 정제효율

용매	추출물(%)	카테킨함량(%)	아미노산함량(%)	데아닌함량(%)
헥산	0.25	0	0	0
에틸아세테이트	1.25	1.5	0	0
물	13.5	0.2	2.1	0.7

[0038] 표 1에 나타난 바와 같이, 헥산, 에틸아세테이트, 물의 극성별 순차 이행으로 데아닌 외의 기타 불순물을 제거하는 효과가 있었고, 특히 에틸아세테이트 층으로 분리의 장애가 되는 카테킨을 이행시키는 결과를 얻었다.

[0039] <실시예 3> 데아닌 추출에 최적 수지 선정 실험

[0040] 최적 수지 선발을 위해 사용한 수지는 총 6가지(TRILITE SCR-B; Amberite XAD-4; TRILITE CMP28; Amberite XAD-2; Poly N-vinyl-2- pyrrolidinone; DIAION HP20)를 사용하였다. 각각의 수지는 불순물을 제거하고 소수성을 띠는 표면에 부착되어 있는 기포를 제거하기 위해 전처리를 해주었다. 합성흡착제를 순수에 12 시간 정도 방치하여 충분히 수분을 공급한 후 일정량을 칼럼(Column)에 충전하여 수세하였다. 95% 에탄올을 사용하여 천천히 통액시켜 수지 공극(Void) 및 세공 내에 존재하는 수분을 치환시켰다. 이 후 12 시간 정도 실온에서 두었다가 NaOH 4% 용액으로 처리하여 중성이 될 때까지 수세해주었다.

[0041] 차나무 분엽 100g을 2L 삼각플라스크에 넣고 증류수 1L를 채운 다음 80℃ 항온수조에서 1시간 동안 추출하였다. 추출물의 데아닌 정제효율을 판단하기 위해 수지를 내경 2cm, 길이 45cm인 오픈 컬럼에 30cm를 채운 다음 5ml씩 흘려 넣고 5회마다 통과액을 수집하여 구연산리튬 완충용액(Lithium citrate buffer; pH 2.2)과 1:1로 혼합하고 0.45 μ m 필터로 여과하여 아미노산 분석기 (Biochrom30, Biochrom)로 아미노산 표준(standard)을 이용하여 수지를 통과한 추출물의 아미노산 함량을 측정하였다. 수지를 통과한 추출물을 50회까지 수집하여 평균적인 데아닌 함량을 구하였다.

- [0042] 이에 대한 결과는 도 2에 나타내었다.
- [0043] 도 2에 나타난 바와 같이, 실험에 사용된 총 6가지 수지 중 4가지 수지에서 아미노산 및 테아닌의 정제 효율이 좋은 것으로 나타났다. 4개의 수지에서 아미노산의 정제 효율은 HP20이 424 mg/L, XAD-2이 415 mg/L, PVPP이 433 mg/L, XAD-4이 321.31 mg/L 아미노산이 분리되는 결과를 보였으며, 테아닌의 함량 경우 HP20이 40 mg/L, XAD-2이 35 mg/L, PVPP이 37 mg/L, 그리고 XAD-4이 15 mg/L 로 테아닌의 수율이 나타났다. SCR-B와 CMP-28의 경우 추출물의 아미노산을 거의 흡착하는 것으로 나타났다. 아미노산 및 테아닌의 함량은 각기 다른 수지를 통과함에 따라 큰 차이를 나타냄을 알 수 있었다.
- [0044] 또한, 전체 아미노산중 테아닌 비율을 가장 높은 수지는 XAD-2로 무처리에 비해 약 2.7배 증가시키는 것으로 나타났다으며, HP20 수지를 통과 후에는 전체 아미노산 중 테아닌 비율이 무처리 3.15%에 비해 7.26%로 약 두배 높아진 것으로 나타났다. 따라서 상기 방법을 통한 테아닌의 고흡수 적합 수지로는 HP20 모델이 가장 적합한 것으로 확인되었다.
- [0045] <실시예 4> 컬럼의 길이/직경비(H/D)에 따른 아미노산 및 테아닌의 분리 효율 분석
- [0046] 상기 실시예 3에서 선발된 테아닌 고흡수 흡착수지 HP20을 이용하여 추출물로부터 테아닌의 분리 효율 구명을 위해 컬럼의 길이/직경비(H/D) (1:10, 1:30, 1:60, 1:90)별로 테아닌의 정제효율을 분석하였다. 내경 0.5 cm, 오픈 컬럼을 제작하여 수지를 충전하여 차나무 추출물 50 ml을 중력으로 통과시켜 추출물로부터 아미노산 및 테아닌의 분리 효율을 확인하였다.
- [0047] 그 결과는 도 3에 나타내었다.
- [0048] 도 3에 나타난 바와 같이, 컬럼의 길이/직경비(H/D)는 테아닌의 분리효율에 큰 영향을 주지 못하였으며, 컬럼의 길이/직경비(H/D)가 높아질수록 총 아미노산 대비 테아닌의 정제에 효과적인 것으로 나타났다.
- [0049] <실시예 5> 흡착방법에 따른 아미노산 및 테아닌의 정제 효율 분석
- [0050] 상기 실시예 3에서 아미노산 및 테아닌 분리에 적합하다고 판명된 HP20 흡착수지를 이용하여 흡착방법에 따른 아미노산 및 테아닌 정제효율을 분석하였다. 흡착방법은 컬럼통과법과 수지침지법(Batch method)을 실시하여 테아닌 정제 효율을 확인하였다. 컬럼통과법은 HP20 수지를 오픈 컬럼 (길이/직경비, H/D을 1:60)에 30cm 충전한 다음 이동상을 50ml씩 5회를 오픈컬럼에 흘려보낸 다음 용출액을 수집하여 아미노산 및 테아닌 함량을 분석하였다.
- [0051] 수지침지법은 삼각플라스크에 250ml의 차나무 추출물이 들어있는 500ml 삼각플라스크에 91.2mL 수지를 투입한 다음 30분간 정치한 후 여과한다. 하층 추출액은 각각 아미노산과 테아닌 함량을 분석하였다.
- [0052] 분석 결과는 도 4에 나타내었다.
- [0053] 도 4에 나타난 바와 같이, 흡착법을 통한 컬럼통과법이 수지정지법에 비해 다소 정제효과가 있었으나, 두 방법 간의 큰 차이는 나타나지 않음을 알 수 있었다.
- [0054] <실시예 6> pH 농도에 따른 테아닌의 정제 효율 분석
- [0055] 1N HCl과 1N NaOH를 이용하여 pH3.0, pH5.0, pH7 그리고 pH9.0으로 조정된 차나무 추출물 250ml를 HP20으로 충전하여 상기 실시예 5에서 실시한 컬럼통과법으로 그 추출물을 수집하여 테아닌 함량을 분석하였다.
- [0056] 분석 결과는 도 5에 나타내었다.
- [0057] 도 5에 나타난 바와 같이, 테아닌은 약산성 조건에서 정제효율이 높게 나타났다. 정제효율이 가장 높았던 처리구는 pH5.0으로 나타났으며, 염기성의 조건에서는 테아닌의 정제 효율이 떨어지는 것으로 나타났다.
- [0058] <실시예 7> 온도에 따른 테아닌 정제 효율 분석
- [0059] 온도에 따른 테아닌의 정제효율을 분석하기 위해 차나무 추출물을 온도를 달리하여(20℃, 30℃, 50℃ 및 70℃)

상기 실시예 6과 동일한 방법으로 테아닌 함량을 분석하였다.

[0060] 분석 결과는 도 6에 나타내었다.

[0061] 도 6에 나타난 바와 같이, 테아닌의 추출에는 낮은 온도보다는 다소 높은 온도가 좋은 것으로 나타났으며, 테아닌의 추출에 가장 양호한 온도는 30℃로 나타났다.

[0062] <실험예 1> 사용된 수지의 사용횟수에 따른 아미노산 및 테아닌 분리효율 분석

[0063] 수지 중 HP20의 사용횟수에 따른 아미노산 및 테아닌 분리효율을 분석하였다. 차나무 분엽 300g을 2L 삼각플라스크에 각각 100g씩 넣고, 각각 1L씩 채운다음 80℃ 항온수조에서 1시간 동안 추출하고, 그 추출물을 내경 2cm, 길이 45cm, HP20 수지 30cm를 채운 오픈컬럼에 10 ml씩 50회 흘려보낸 후 수지를 회수하였다. 그 후 수지는 100ml의 각 용매에 24시간 침지하고, pH 7의 증류수에 1시간 방치하여 세정용매를 제거한 다음 다시 내경 2cm, 길이 45cm 오픈컬럼에 충전하여 10ml의 차나무 추출물을 5회 흘려보내 각 세정용매별 5회 때의 차나무 추출물 칼럼을 통과한 액을 수집하여 구연산리튬 완충용액(pH 2.2)과 1:1로 혼합하고, 0.45um 필터로 여과한 다음, 아미노산 분석기(Biochrom30, Biochrom)로 아미노산과 테아닌을 분석하였다. 이 과정을 50회 반복하였다. 사용한 수지의 수세에 사용한 용매는 물(3차 증류수), 95% EtOH, 80% 아세톤, 1N NaOH, 1N 염산을 사용하였다.

[0064] 분석 결과는 도 7 및 도 8에 나타내었다.

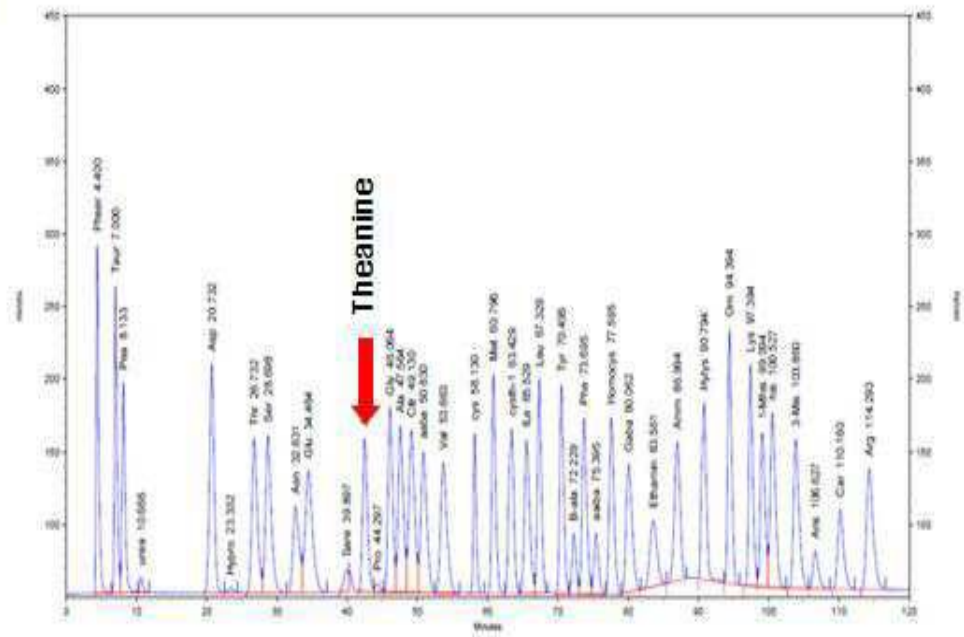
[0065] 도 7에 나타난 바와 같이, HP20 수지는 50번의 사용에도 분리효율이 감소하지 않는 것으로 나타났다. 아미노산의 함량은 사용횟수가 많을수록 약간 증가하는 경향을 보였으며, 테아닌의 함량은 차이를 보이지 않았다. 이 수지는 카테킨의 방해를 받지 않으면서 분리효율이 좋아 활용 가능성이 높은 것으로 나타났다.

[0066] 또한 도 8에 나타난 바와 같이, HP20 수지는 물이나 유기 용매로 수세하면 재생이 가능한 것으로 나타났다. 세정용매에 따른 세정 효과는 1N 염산과 에탄올, 1N NaOH가 큰 것으로 나타났으며, 50회 이상 차나무 추출물을 통과시킨 후에도 지속적으로 테아닌을 제외한 아미노산을 흡착할 수 있는 것으로 나타났다.

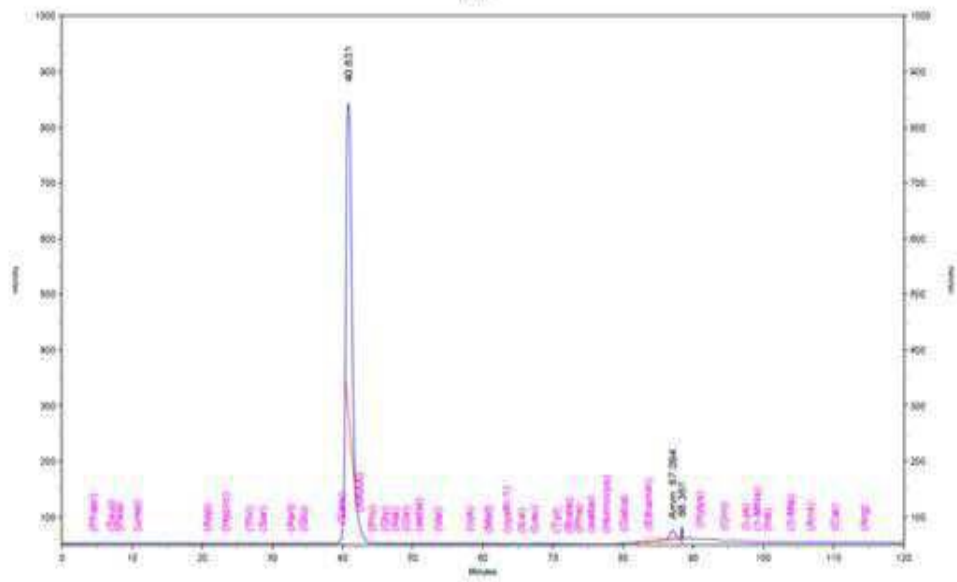
도면

도면1

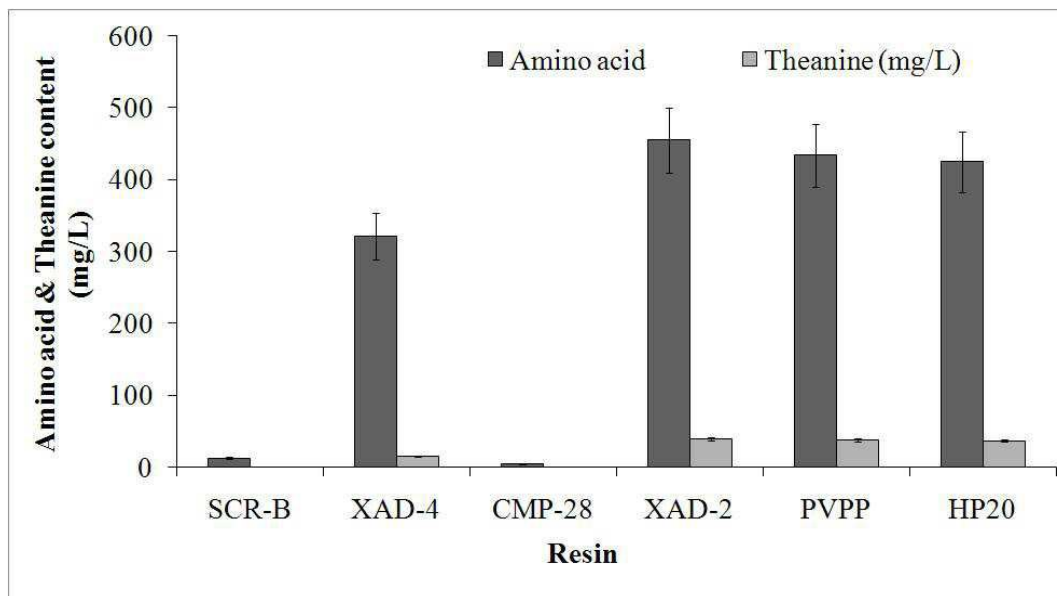
(A)



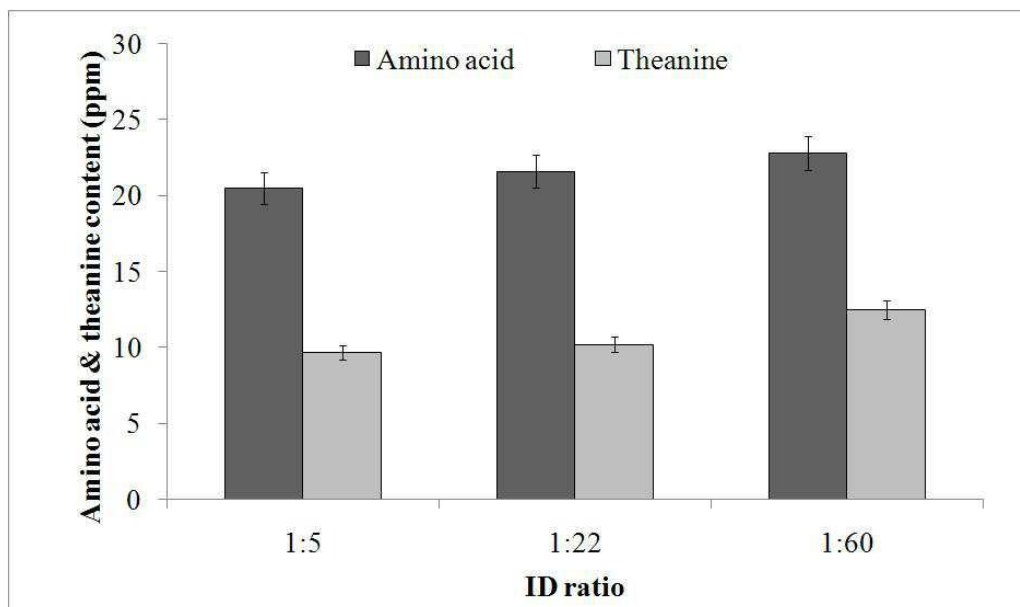
(B)



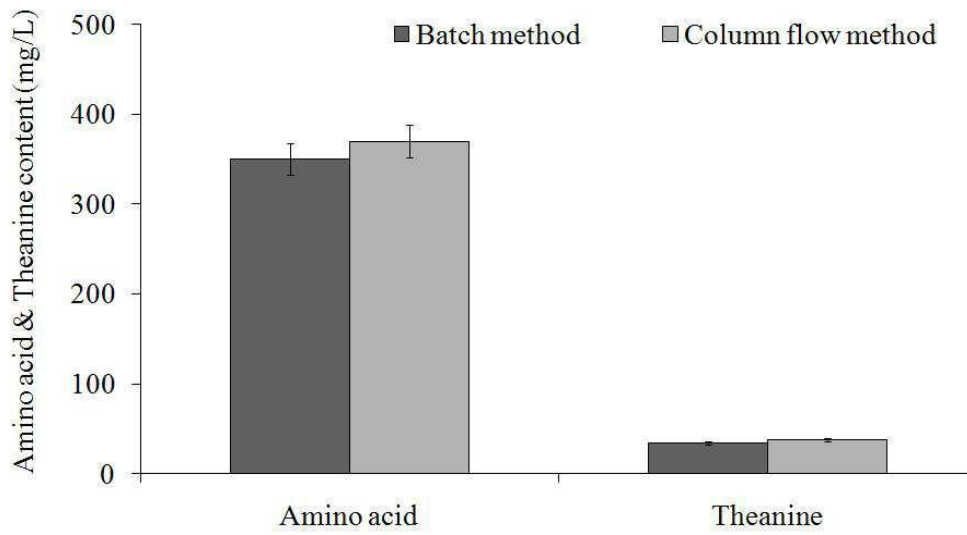
도면2



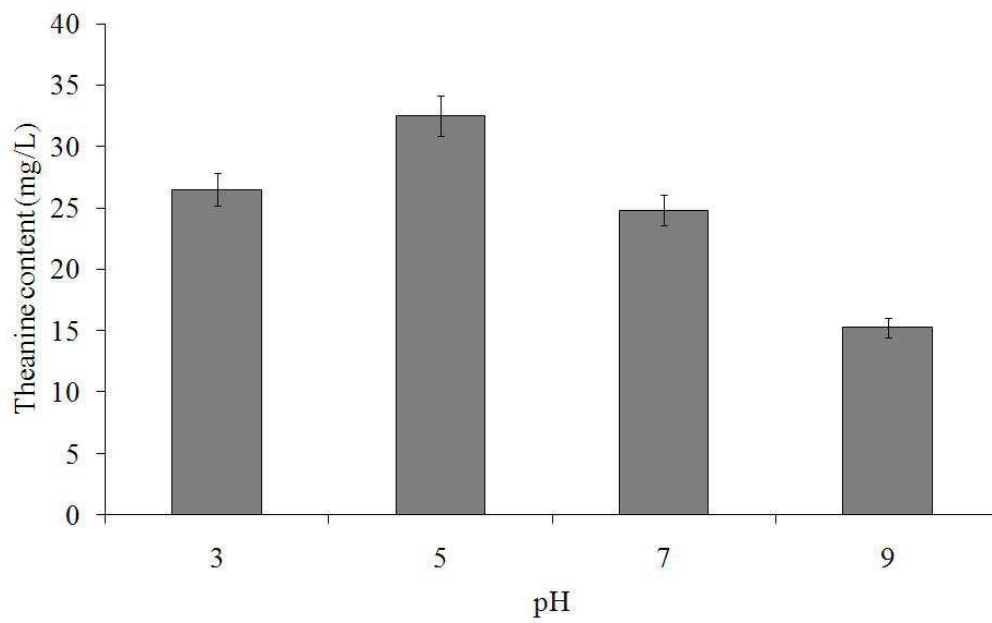
도면3



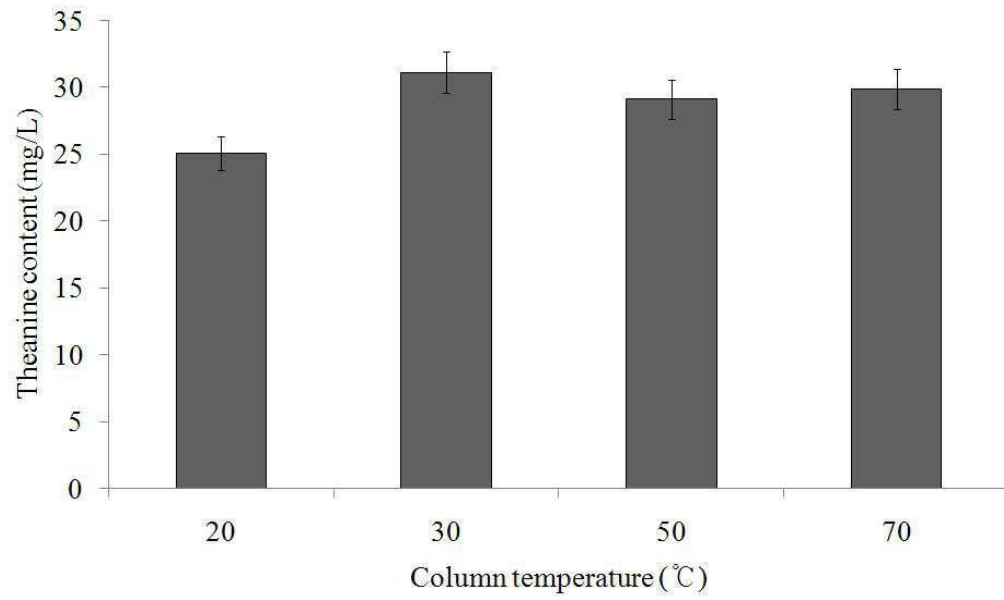
도면4



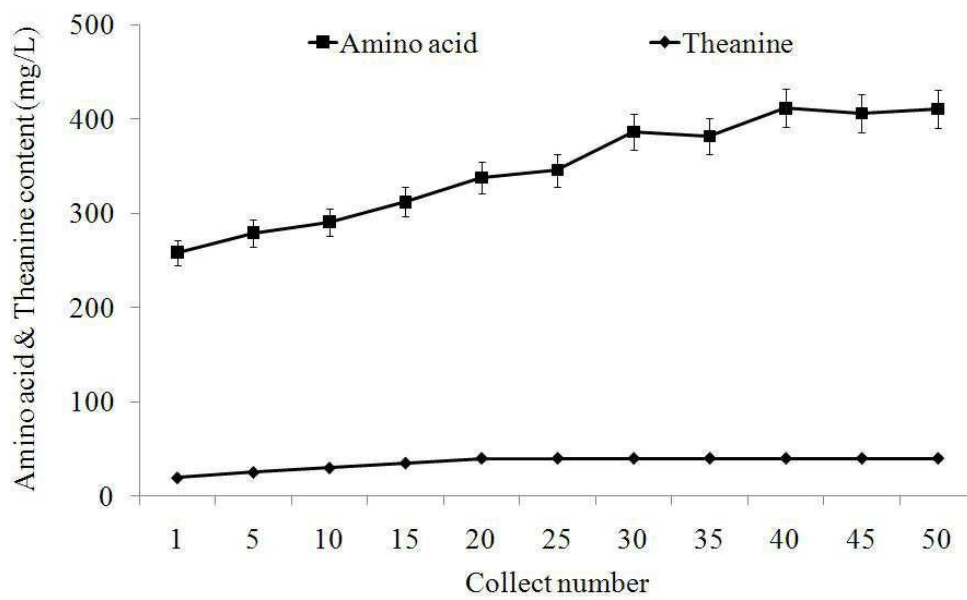
도면5



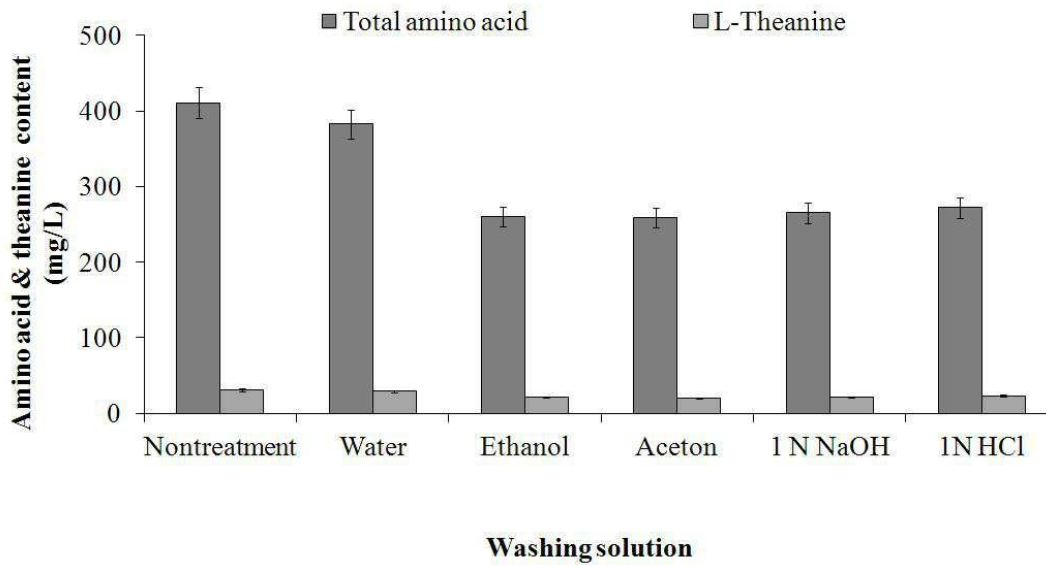
도면6



도면7



도면8



도면9

