

Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용한 ISO 14502-1 기반 녹차 파우더 총 폴리페놀 함량 정량



요약

본 연구에서는 ISO 14502-1:2005(E) 표준 분석법을 적용하여 식품 제조용 녹차 파우더 시료의 총 폴리페놀 함량을 정량하였다. 70% 메탄올로 추출한 시료를 Folin-Ciocalteu 시약과 반응시킨 후, Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용해 765 nm에서 흡광도를 측정하고 갈산(gallic acid) 표준 검량선을 통해 갈산 등가치(Gallic Acid Equivalent, GAE)로 환산하였다. 갈산 표준용액 10.0-50.2 μg 구간에서 작성된 검량선의 결정계수(R^2)는 0.9999로 우수한 선형성을 나타냈다. 이러한 결과를 통해 Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용한 총 폴리페놀 분석이 ISO 14502-1 시험법에 부합하며, 식품 원료의 총 폴리페놀 정량 분석에 안정적으로 적용 가능함을 확인하였다.

국내 분석장비 산업을 선도하는 케이랩 주식회사, 연구 및 제조까지 전 과정을 한 곳에서 책임지는 국내의 유일한 전문 연구·제조 기업입니다.

주소
(34014) 대전광역시 유성구 테크노 2로 94-23

홈페이지
www.klab.im

전화번호
042-932-7586

문의
info@klab.im

개요

폴리페놀은 식물의 2차 대사산물로, 항산화 활성과 더불어 항암, 항균, 심혈관 질환 예방 등과 관련된 다양한 생리활성을 나타내는 중요 성분군이다. 특히 녹차(green tea)는 카테킨(catechins)을 비롯한 폴리페놀을 풍부하게 함유하고 있어 기능성 식품 및 건강보조소재의 주요 원료로 널리 활용되고 있다. 이에 따라 녹차 원료의 품질 관리와 기능성 평가를 위해 총 폴리페놀 함량을 객관적이고 재현성 있게 정량할 수 있는 분석 방법이 요구된다.

ISO 14502-1:2005(E)는 Folin-Ciocalteu 시약을 이용해 녹차 및 홍차 등 차(tea) 제품의 총 폴리페놀 함량을 정량하는 국제 표준 시험법으로, 연구 및 산업 현장에서 폭넓게 사용되고 있다. 본 연구에서는 해당 표준 분석법을 식품 제조용 녹차 파우더 시료에 적용하고, 케이랩 Alpha UV-Vis 분광광도계를 이용한 총 폴리페놀 분석 결과의 선형성과 신뢰성을 검증하고자 하였다. 이를 통해 Alpha UV-Vis 분광광도계의 [Quantitation] 모드가 ISO 14502-1에 따른 총 폴리페놀 분석에 적합한 측정 플랫폼임을 확인하고, 식품·음료 산업에서의 원료 품질 관리 및 연구 개발에 활용 가능한 정량 분석 솔루션임을 제시하고자 한다.



[그림 1]. Alpha UV-Vis 분광광도계 - 190-1,100 nm 파장 범위에서 동작하는 더블빔(double-beam) UV-Vis 분광광도계로, 정밀한 흡광도 측정과 정량 분석에 적합하다. 멀티셀 홀더 등 다양한 셀 홀더 옵션과 호환되어 다수 시료의 연속 측정이 가능하며, 본 연구에서는 ISO 14502-1에 따른 총 폴리페놀 분석을 위해 765 nm에서 시료의 흡광도를 측정하였다.

재료 및 방법

시료

본 연구에 사용된 시료는 식품 제조 공정용 녹차 파우더로, 밀봉 상태로 구입한 후 실험 전까지 실온에서 보관하였다.

시약 및 표준물질

- gallic acid (Sigma-Aldrich, analytical grade)
- Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich)
- sodium carbonate (analytical grade)
- methanol, 70% (v/v, analytical grade)

실험 절차

시료 추출

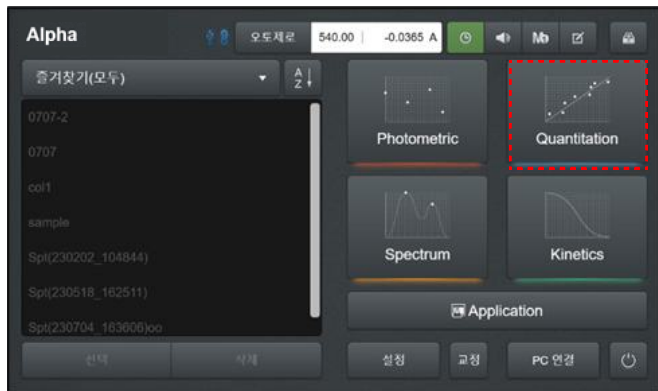
- ① 녹차 시료 0.200 g을 15 mL 원심분리기 튜브에 넣는다.
- ② 70% 메탄올 용액을 70°C로 예열한 뒤, 시료가 담긴 튜브에 5 mL를 첨가한다.
- ③ 튜브를 밀봉하고 70°C 수욕조에 넣어 5분간 방치한 후, 꺼내어 볼텍서로 혼합한다.
- ④ 다시 70°C 수욕조에 넣어 추가로 5분간 방치한 뒤, 꺼내어 볼텍서로 혼합한다.
- ⑤ 실온으로 냉각한 후, 3,500 r/min에서 10분간 원심분리한다.
- ⑥ 상등액을 취해 눈금 튜브에 옮긴다.
- ⑦ 동일 과정을 1회 반복하여 두 추출액을 합친 뒤, 70% 메탄올로 최종 부피를 10 mL로 맞춘다.
- ⑧ 분석 전, 시료를 적절한 배수로 희석하여 측정 범위에 적합하도록 준비한다.

표준용액 제조

- ① gallic acid를 정확히 0.100 g을 칭량하여 증류수로 정용해 100 mL stock 용액을 조제한다.
- ② 이 stock 용액을 증류수로 희석하여 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL 농도의 표준 용액을 준비한다.

반응 및 측정

- ① 표준용액, 시료용액, 블랭크 용액을 각각 1 mL씩 시험관에 취한다.
- ② 10배 희석한 Folin-Ciocalteu 시약 5 mL를 첨가하고, 암소에서 5분간 반응시킨다.
- ③ 7.5% sodium carbonate 용액 4 mL를 첨가하고, 상온 암소에서 60분간 반응시킨다.
- ④ Alpha UV-Vis 분광광도계의 [Quantitation] 모드에 표준용액 농도(10, 20, 30, 40, 50 µg/mL)를 입력하고 765 nm에서 흡광도를 측정한다.



[그림 2]. 케이랩 Alpha UV-Vis 분광광도계의 초기 화면- Photometric, Quantitation, Spectrum, Kinetics 모드를 지원하며, 본 실험에서는 [Quantitation] 모드를 사용하여 ISO 14502-1에 따른 총 폴리페놀 정량 분석을 수행하였다.

⑤ 측정된 흡광도 값을 바탕으로 [Quantitation] 모드에서 표준 곡선 작성 및 자동 계산된 결과를 이용해 시료의 총 폴리페놀 함량을 갈산 등가치(Gallic Acid Equivalent, GAE)로 환산한다.

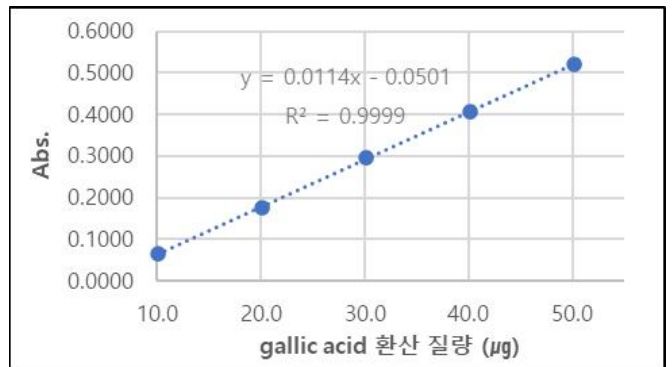
결과

선형성(Linearity)

gallic acid 표준용액 stock 용액을 희석하여 준비한 표준용액을 ISO 14502-1 조건에 따라 반응시킨 후, 반응계에 실제로 투입된 gallic acid 질량(10.0-50.2 µg)을 x축, 765 nm에서 측정된 흡광도(3회 반복 측정 평균)를 y축으로 하여 검량선을 작성하였다. 그 결과 [표 1] 및 [그림 3]과 같이 전체 구간에서 우수한 직선성을 보였으며, 회귀식은 $y = 0.0114x - 0.0501$, 결정계수(R^2)는 0.9999로 나타났다.

[표 1]. gallic acid 환산 질량(µg)에 따른 흡광도(3회 반복 측정 평균)

gallic acid 환산 질량 (µg)	Abs. (Average)
10.0	0.0653
20.1	0.1757
30.1	0.2958
40.2	0.4066
50.2	0.5217



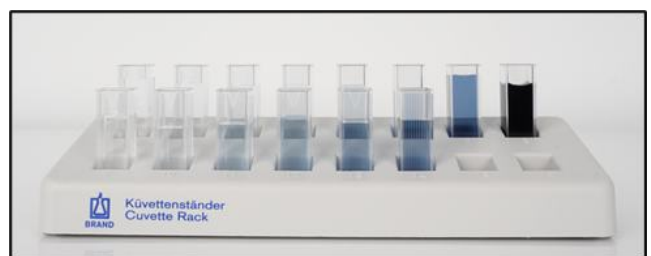
[그림 3]. gallic acid 환산 질량(10.0-50.2 µg)에 대한 765 nm 흡광도 검량선($y = 0.0114x - 0.0501$, $R^2 = 0.9999$)

시료 결과

검량선 유효 범위(10.0-50.2 µg)에 해당하도록 희석된 시료를 측정된 결과, 80배 및 100배 희석 시료에서 gallic acid 기준 11.9 µg, 10.7 µg의 결과값이 계산되었다. 이에 각 희석배수를 역산하여 원액 기준으로 환산한 총 폴리페놀 함량은 각각 953.7 µg GAE와 1,071.3 µg GAE였으며, 두 값을 평균한 결과 원액의 총 폴리페놀 함량은 1,011.65 µg GAE로 산출되었다. 이를 초기 칭량량 0.2004 g에 적용하고 100 g 기준으로 환산하면, 해당 녹차 파우더의 총 폴리페놀 함량은 0.505 g GAE/100 g(w/w)로 나타났다.

[표 2]. 시료의 희석배수별 765 nm 흡광도 및 gallic acid 등가 환산값

희석 배수	Abs. (Average)	GAE 환산 질량(µg)	원액 기준 GAE 환산 질량(µg)
1	4.000	355.3	353.3
10	0.8120	75.6	756.1
80	0.0858	11.9	953.7
100	0.0720	10.7	1071.9
200	0.0243	6.5	1305.3



[그림 4]. gallic acid 표준용액 및 녹차 시료의 반응 후 색 변화 - 좌측의 낮은 농도 표준용액에서 우측의 고농도 표준용액으로 갈수록 청색이 진해지는 모습을 확인할 수 있다.

결론

ISO 14502-1:2005(E) 표준 분석법을 적용하여 식품 제조용 녹차 파우더 시료의 총 폴리페놀 함량을 정량한 결과, Folin-Ciocalteu 시약 반응으로 측정된 흡광도와 gallic acid 표준 검량선을 이용해 시료의 총 폴리페놀 함량을 갈산 등가치(Gallic Acid Equivalent, GAE)로 산출할 수 있었다. 본 시험을 통해 케이랩 Alpha UV-Vis 분광광도계의 [Quantitation] 모드를 사용하면 ISO 14502-1에 따른 총 폴리페놀 분석을 안정적으로 수행할 수 있음을 확인하였으며, 식품·음료 산업에서 녹차 원료의 품질 관리 및 기능성 평가를 위한 정량 분석 솔루션으로 활용 가능성을 제시하였다.

*참고문헌(자료출처):

- International Organization for Standardization (ISO). ISO 14502-1:2005(E): *Determination of substances characteristic of green and black tea — Part 1: Content of total polyphenols in tea — Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent*. ISO, Geneva, Switzerland.)