Kor. J. Food Hygiene 7 (2, 3), 107-112 (1992)

五倍子(Rhus japonica Linne) Methanol 추출물의 항산화 효과

김태철 · 이기동 · 윤형식
경북대학교 식품공학과

Antioxidative Effectiveness of Methanol Extract in Galla Rhois

Tae-Cheol Kim, Gee-Dong Lee and Hyung-Sik Yoon
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National Univerisity, Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT – Free-, soluble- and insoluble phenolic acids were extracted from defatted Galla Rhois. The extracts were then dissolved in equal amounts of an soybean oil, and POV (peroxide value) of the resulting substrates, portion of the soybean oil (control) and 0.02% BHT were measured by AOM (active oxygen method) test at 97.8°C for 40 hours through Rancimat method. Induction period of control, BHT, free phenolic acids, soluble phenolic acids and insoluble phenolic acids by the Rancimat method were 4.8, 10.5, 23.9 and 30.5 hr. The phenolic acids separated and tentatively identified by gas chromatography were catechol, gallic acid, vanillin, protocatechuic acid, syringic acid, ferulic acid.

Keywords□Antioxidant, Gella Rhois, Phenolic acids

식품은 가공 또는 저장중에 각 성분들 사이의 상호작용으로 인하여 변화를 일으켜 품질저하가 일어나며 그 대표적인 예가 저장중의 식용유지나 지방질식품의 산패라 할 수 있다. 이러한 산패는 구성지방산의 산화로 인하여 비정상적인 냄새와 맛에 영향을 주며 필수지방산이나 각종 지용성비타민의 파괴를 가져올 뿐만 아니라 이들의 분해생성물들이 생체내에서 유해한 작용을 하는 것으로 알려져 있다.[1-3]

각종 튀김식품, 육류 및 육류가공품과 같은 지방질식품은 물론 지방함량이 낮은 곡류의 경우에 있어서도 지방성분의 변화에 의해 식품의 품질에 많은 영향을 미친다. 따라서 식품의 가공 및 저장중의 지방성분의 변패는 점차 중요한 문제가 되며 이를 억제하기 위한 여러 방법들이 모색되어 왔다.

산패의 억제에 사용되고 있는 여러 방법중의 하나로서 항산화제가 광범위하게 이용되고 있다.

Received for publication 25 July, 1992
Reprint request: Dr. H.S. Yoon at the above address

항산화제는 천연항산화제와 합성항산화제로 크게 나눌 수 있으며 합성항산화제로서 널리 사용되고 있는 것은 BHA, BHT와 같은 페놀계 합성항산화제이고 이들은 일정한 규제하에서 각종 지방질식품에 이용되고 있다. 그러나 합성항산화제는 그 자체가 독성을 나타낼 뿐만 아니라 체중증가의 억제, 각 장기조직의 병리조직 변화, 간의 중량증가 등 독성에 대한 문제점이 많아짐에 따라[4,5] 합성항산화제의 법적사용규제가 더욱 강화되고 있고 인체에 무해한 천연항산화제의 개발이 절실히 요망되고 있는 실정이다.

향신료 및 생약성분중의 phenol계 성분들은 항산화작용을 가진 대표적인 물질로 보고되어 있으며[6,7] 항산화성의 정도는 식물의 종류 및 이들에 함유되어 있는 항산화유효성분의 종류에 따라 다르며 추출방법에 따라 현저한 차이가 난다고 한다.[8]

위 등[9,11]은 인삼으로부터 페놀성 성분인 caffeic acid, gentisic acid, ferulic acid, vanillin를 분리동정하였으며, pratt와 watts[8]는 대두중 여러 phenolic acid의 β-carotene과 linoleic acid에 대한 산화억제

효과를 비교한 결과 caffeic acid가 ferulic acid 및 *p*-coumaric acid보다 항산화활성이 더 컸으며 chlorogenic acid와 더불어 대두의 주요 항산화제라고 보고하였다.

Leung 등[11]은 해바라기씨의 산·알카리 가수분해물로부터 caffeic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, *p*-coumaric acid, cinnamic acid가 존재함을 보고하였다.

본 실험에 사용된 오배자는 옻나무과에 속한 落葉小喬木인 붉나무의 葉柄 혹은 嫩葉에 오배자 蛾蟲이 기생하여 생긴 췌생물인 붉나무여름을 채취하여 건조한 것으로 약리작용은 유력한 收斂劑로서 腸虛泄痢, 一切失血, 吐血, 便血, 婦人子宮出血, 赤白帶下 등의 병에 사용하고 외용으로는 皮膚濕疹, 中耳炎 등의 병에 사용하여 멸균, 방부의 효과가 있다.

따라서 본 실험에서는 생약제인 오배자에 대한 항산화작용에 대한 기초자료를 얻기 위해 오배자의 메탄올 추출물의 항산화효과를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 오배자는 수확한지 5개월 된 것을 한약방에서 구입, 선별하여 재료로 사용하였으며, 산패도 조사를 위한 기질로서 시판유지를 구입하여 사용하였고 과산화물價(peroxide value) TBA値(2-thiobarbituric acid value), 요오드價(iodine value), 검화價(saponification value)는 다음과 같았다.

Peroxide Value (POV)	0.96± 0.05
Thiobarbituric acid (TBA) Value	0.02± 0.01
Iodine Value	128± 1
Saponification Value	189± 1

기질의 성상

과산화물가는 요오드적정법인 Lea[12]법의 개량법으로 측정하였다.

TBA치는 Sidewell 등의 방법[13]으로 행하였으며 검화가와 요오드가는 Person[14]의 방법에 준하였다.

탈지오배자박의 제조

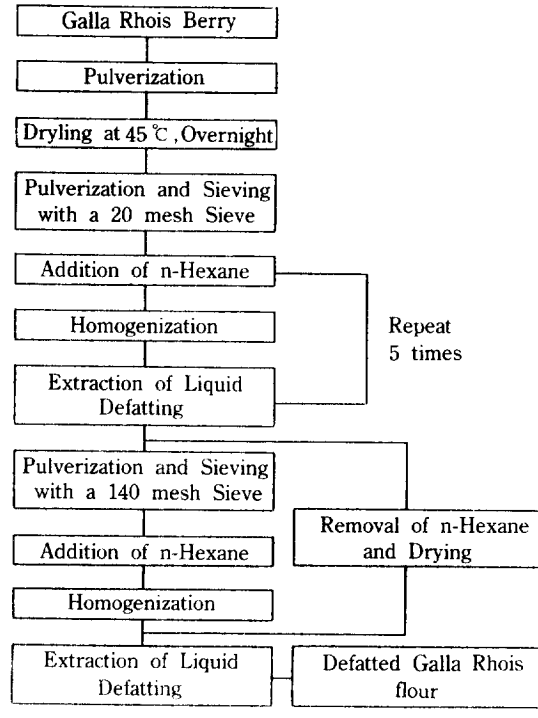

Fig. 1. Preparation of defatted Gella Rhois flour.

오배자종실을 Lea 방법에 따라 Fig. 1과 같이 실시하였다.

즉 오배자종실을 선별한 다음 분쇄건조하여 n-Hexane으로 반복추출하여 기질을 제거하였다.

용액과 잔사를 분리한 후 잔사를 n-Hexane으로 1회 더 추출한 후 분리하여 잔사를 상온에서 24시간 풍건한 것을 탈지시료로 하였다.

유리형페놀산 에스터형 및 불용성 페놀산의 추출

페놀물질의 추출은 Kozlowaka 등[15]과 Krygier 등[16]의 방법에 따라 Fig. 2와 같이 실시하였다.

즉 50g의 오배자박을 메탄올 200 m*l*로 5회 추출하여 6000 rpm에서 원심분리해서 상등액과 잔사로 분리하였다.

이 상등액을 200 m*l*로 농축하였다. 이 농축액을 유리형 페놀산과 에스터형 페놀산의 분석에 사용하였으며 잔사는 불용성 페놀산의 추출에 사용하였다.

농축액을 6 N-HCl로 pH 2로 조절한 다음 6000 rpm에서 20분간 원심분리하여 부유물로 제거하였다. 잔존의 지방산을 제거하기 위하여 n-Hexane으로 3회 추출하여 지질을 제거하였다. 수층은 diethyl

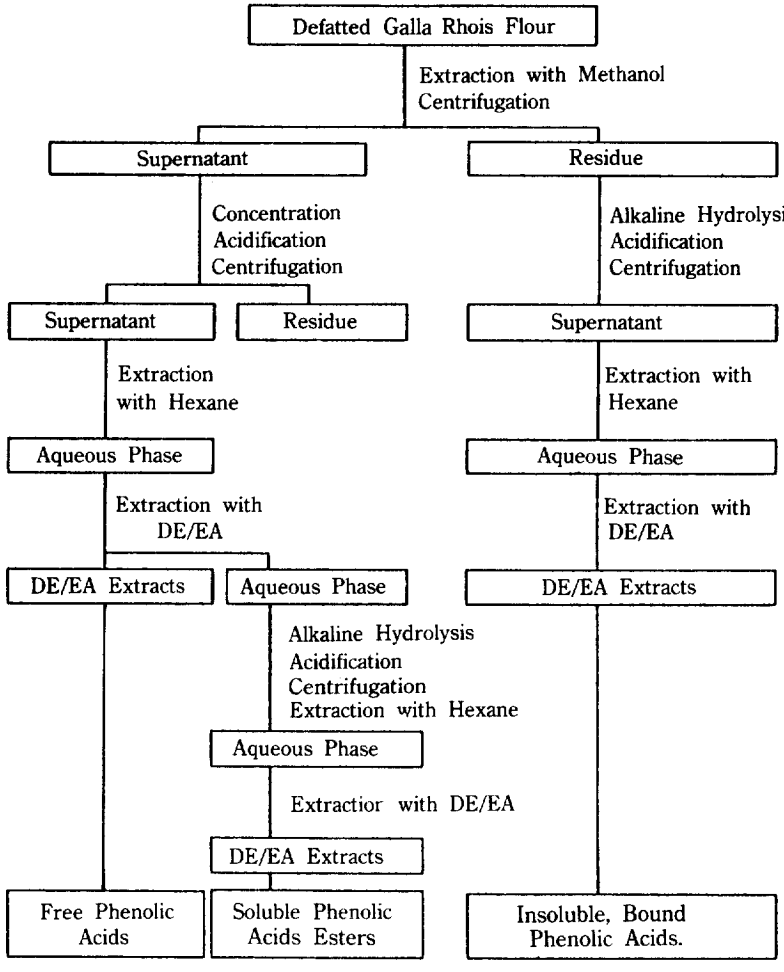

Fig. 2. A flow sheet for the procedures of the separation of the free-, soluble- and insoluble phenolic acids in the extracts of the defatted Galla Rhois flour 〈DE/EA=diethyl ether/ethyl acetate (1:1)〉.

ether/ethyl acetate(1 : 1)로 같은 분량을 첨가하여 6회 추출하였으며 추출된 diethyl ether(DE)/ethyl aceate(EA)는 Sodium sulfite, anhydrous로 잔여수분을 제거하였다. 유리형 페놀산을 함유한 DE/EA 추출물을 40℃에서 증발시켜 잔사를 메탄올 25 m*l*로 녹였다.

에스터형 페놀산 추출을 위하여 수층을 200 m*l* 4 N-NaOH로 가수분해하기 위해 질소 충진하에서 4시간 실온에 방치한 후 pH 2로 조절하여 6000 rpm에서 원심분리하였다.

가수분해된 페놀산은 DE/EA로 상기와 같은 방법으로 추출 후 농축하여 잔사를 메탄올 25 m*l*로 녹였다. 불용성 페놀산의 추출을 위하여 메탄올로 추출한 잔사를 200 m*l* 4 N-NaOH로 가수분해를 위해 질소충진하에서 4시간 실온에서 방치한 후 pH 2로 산성화시켜 원심분리한 상등액을 잔여지질을 제거하기 위해 n-Hexane으로 3회 추출하였다. 수층을 DE/EA로 상기와 같은 방법으로 농축하여 잔사를 메탄올 25 m*l*로 녹였다.

페놀산의 동정

탈지오배자의 페놀산 확인을 위하여 Katagi 등[17]의 방법에 따라 추출물에 N.O bis-trimethylsilyl acetamide : acetonitrile(1 : 4 v/v) 용액 0.9 m*l*을 가하여 60℃에서 5분간 TMS화시킨 후 그 중 2 m*l*를 취하여 GC로 분석하였다. 사용되는 GC는 Hewlett

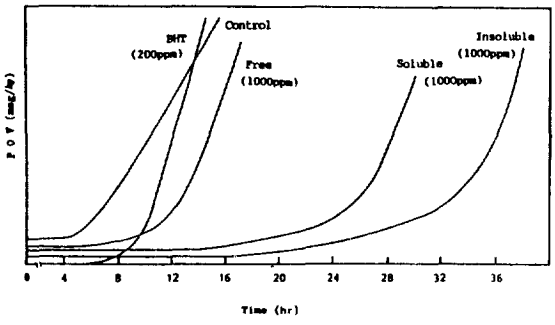

Fig. 3. Antioxidant effect of Galla Rhois extracts in Soybean oil at 97.8°C (AOM test).

Packard 5890이며 검출기로서 FID를 사용했고, column은 Chromosorb W10% SE30(1.5 m×4 mm, glass)를 사용하였고 오븐온도는 130℃에서 1분간 유지 후 170℃까지 13℃/min 속돌 승온 후 다시 170℃에서 3분간 유지 후 200℃까지 10℃/min 속도로 승온한 후 또 다시 200℃에서 3분간 유지 후 10℃/min 속도로 230℃까지 승온하였다. 주입구의 온도는 260℃였고 검출기의 온도는 270℃로 하였다. Carrier gas는 N_2 gas를 30 ml/min로 하였으며 Chart 속도는 5 mm/min로 하였다.

과산화물價의 측정

과산화물가의 측정은 AOM(active oxygen method)으로 측정하였다. AOM은 가속된 자동산화과정을 유지에 유발시켜서 유도기간을 측정비교하는 방법이다.

측정은 Rancimat 679(Metrohm사, 스위스)을 사용[18]하였으며, 공기공급량은 20 l/hr, 시료량 2.5g의 조건에서 측정하였다.[19]

결과 및 고찰

페놀산의 과산화물價

식용유에 BHT와 오배자의 추출물을 각각 200 ppm, 1000 ppm씩을 첨가하여 산화안정성을 비교한 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

전 실험기간을 통해 각각의 오배자추출물은 BHT보다 항산화효과가 높았음을 볼 수 있다. 유도기간은 불용성 페놀산이 30.5 hr으로 가장 길었고, 다음으로 에스터형 페놀산이 23.9 hr이었고, 유리형 페놀산이 10.5 hr BHT가 10 hr이었다.

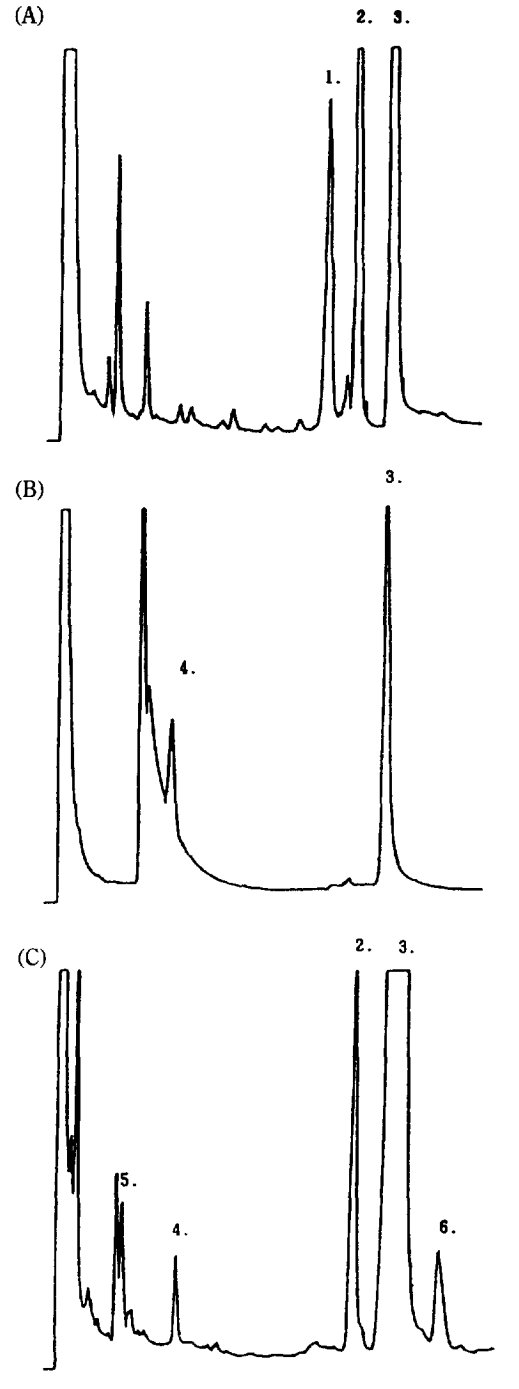

Fig. 4. Gas chromatogram of free phenolic acids (A), soluble phenolic acids (B) and insoluble phenolic acids (C) (1.5 mm×4 mm glass column packed with 10% SE30 on 100~120 mesh Chromosorb W). Keywords: 1. Protocatechuic acid, 2. Syringic acid, 3. Gallic acid, 4. Vanillin, 5. Catechol, 6. Ferulic acid.

中島智恭[20]은 생강 추출물를 첨가한 시험구의 유도기간이 10.5 hr이라고 했으며 이것은 오배자의 free형과 같음을 볼 수 있으며 오배자 추출물 중 불용성 페놀산과 에스터형 페놀산은 유도기간이 생강 추출물보다 길었음을 볼 수 있다.

이 등[21]은 산쑥의 에테르 추출물 중에서 불용성 페놀산이 가장 항산화 효과가 높았으며 에스터형, 유리형의 순이었다고 보고하였다. 또한 장 등[22]은 가자 추출물중에서도 불용성 페놀산이 가장 항산화 효과가 높았다고 하였으며 그 다음으로 에스터형이었고, 유리형이 가장 낮은 항산화 효과를 나타낸다고 보고하였다. 그러나 최 등[23]은 겨자 추출물에서 에스터형 페놀산이 항산화 효과가 가장 강하였고 그 다음이 유리형이었으며 불용성 페놀산이 가장 낮은 항산화 효과를 나타낸다고 보고하였다. 이로 미루어 보아 오배자 추출물은 추출형태에서 산쑥과 가자 추출물과 비슷한 양상을 보인 반면 겨자 추출물과는 다른 양상을 보이고 있음을 알 수 있었다.

페놀산의 동정

오배자에 존재하는 주요 페놀화합물의 종류를 알아보기 위하여 유리페놀산 및 에스터형 페놀산, 불용성 페놀산 추출물의 gas chromatogram을 Fig. 4에 나타내었다.

유리페놀산의 추출물에는 protocatechuic acid, syringic acid, gallic acid을 동정할 수 있었고, 에스터형 페놀산의 추출물에는 vanillin, gallic acid을 동정할 수 있었으며, 불용성 페놀산의 추출물에는 catechol, vanillin, syringic acid, gallic acid, ferulic acid을 동정할 수 있었다.

3가지형 추출물 공히 gallic acid가 존재하였으며, 양적으로도 가장 많았음을 볼 수 있었다.

이 등[21]은 산쑥에서 부리동정된 페놀산은 유리형에서 catechol, vanillin, umbelliferone, ferulic acid, caffeic acid였으며, 에스터형에서 protocatechuic acid, caffeic acid였고, 불용성 페놀산으로는 caffeic acid였다고 보고하였다. 그러나 장 등[22]은 가자 추출물에서 3가지형 추출물 공히 catechol, *p*-coumaric acid, ferulic acid, vanillin를 함유하고 있다고 보고하였다.

최 등[23]은 겨자 추출물에서 유리형 페놀산에서 catechol, methylcatechol, salicylic acid, cinnamic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, syringic acid, caffeic acid, sinapic acid를 동정하였으며, 에스터형에서 methylcatechol cinnamic acid, pyrogallol, *p*-hydroxybenzoic acid, syringic acid, caffeic acid, sinapic acid를 동정하였다고 보고하였다.

이들은 또한 산쑥, 가자 및 겨자추출물에서 강한 항산화 효과가 있음을 보고하였다. 항산화 효과가 있는 식품이나 한방재 중에는 catechol, vanillin, gallic acid, ferulic acid 등과 같은 페놀물질을 많이 함유하고 있음을 볼 수 있다.

이로 미루어 볼 때 오배자의 페놀화합물의 종류는 항산화 효과가 강한 것이 있을 것으로 사료된다.

국문요약

탈지오배자으로부터 유리형, 에스터형 및 불용성 페놀산를 추출하여 식용 대두유의 기질에서 항산화효과를 0.02%(w/w) BHT의 항산화효과와 비교하였는 바, 다음과 같은 결과를 얻었다. 각 기질과 대조구를 AOM으로 97.8℃에서 40시간 경과하면서 과산화물가를 측정하였고, Rancimat법을 이용하여 항산화효과를 추정하였다. Rancimat법에 의한 오배자 추출물의 유도기간은 불용성 페놀산이 30.5 hr으로 가장 길었고, 다음으로 에스터형 페놀산이 23.9 hr이었고, 유리형 페놀산이 10.5 hr, BHT가 10 hr이었다. 탈지 오배자의 추출물로부터 분리 확인된 페놀산은 catechol, gallic acid, vanillin, protocatechuic acid, syringic acid, ferulic acid이었으며, gallic acid는 3가지형 추출물 공히 가장 많은 양를 함유하고 있었다. 이상의 결과들을 종합해 볼 때 오배자는 gallic acid, syringic acid, protocatechuic acid 등의 항산화효력이 강한 성분이 많이 함유되어 있으므로 식용 대두유 기질에서 좋은 항산화효력을 나타낸다고 생각된다.

참고문헌

1. Nishigake, I.: *Vitamins (Kyoto),* **37**, 617 (1968).
2. Glavid, J.: "Studies on the role of lipoperoxide in human pathology 2" Acta pathol, *Micro Scand,* **30**, 1 (1952).
3. FAO Nutor Meerings Rept. Ser. N. 38A (1968).
4. Johnson, A.B. and Hewgill, F.R.: *Aust. Exp. Biol. Med. Sci.,* **39**, 353 (1961).
5. Branen, A.L.: *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **52**, 59 (1975).
6. 戶田靜男: 新抗酸化劑 五倍子の抗酸化劑, 月刊 フードケミカル **4** (1989).
7. 太田靜行: 天然物中の酸化防止劑, *New Food Industry,,* **27**, 5 (1985).
8. Pratt, D.E. and Watts, B.M.: *J. Food Sci.,* **29**, 27 (1964).
9. 위재준, 박종대, 김만욱, 이형주: 인삼으로부터 분리된 페놀성 항산화 성분의 동정. 한국농화학회지, **32**, 1 (1989).
10. 위재준, 박종대, 김만욱, 이형주: 인삼으로부터 페놀성 항산화성분의 분리. 한국농화학회지, **32**, 1 (1989).
11. J. Leung, T.W. Fenton, and D.R. Clandinin: Phenolic compounds of sunflower flour, *J. of Food Sci.,* 46 (1981).
12. Lea, C.H.: Peroxide number-Cold method, *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **26**, 152 (1949).
13. Sidwell, C.G., Salwin, H., Henca, M. and Mitchell, H. Jr.: The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation, *J. Am. Oil Chem. Sci.,* **31**, 603 (1954).
14. Person, D.: The chemical analysis of food 7th Churchill Linning stone, Londen, **491** (1976).
15. Kozlouaka, H., Rotkiewice, D.A., Zadernouski, R. and Sosulski, F.W.: Phenolic acids in rapeseed and mustard, *J. Am. Oil Chem. Soc.,* **60**, 6 (1983).
16. Krygia, K., Sosulski, F. and Hogge: Free, esterified, and insoluble bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure, *J. Agric. Food Chem.,* **30**, 2 (1982).
17. Katagi, T., Horii, A. and Makita: Gas chromatography of flavonoids, *J. Chromatographys,* 79 (1973).
18. Markus, W. Laubli and Peter A. Bruttel: Determination of the oxidative stability of fats and oil comparison between the active oxgyen method (AOCS Cd 12-57) and the rancimat method, *JAOCS,* **63**, 6 (1986).
19. 차가성, 최춘언: 랜시매트법에 의한 들기름의 산화안정성 측정, 한국식품과학회지, **22**, 1 (1990).
20. 中島智恭: 新しい天然抗酸化劑-香辛料から抽出した天然抗酸化劑について-, 食品 化學, 4 (1981).
21. 이기동, 김정숙, 배재오, 윤형식: 쑥(산쑥)의 물추출물과 에테르추출물의 항산화 효과. 한국영양식량학회지, **21**, 1 (1992).
22. 장성준: 가자 추출물의 항산화 효과에 대하여, 경북대학교 석사학위논문 (1990).
23. 최규홍, 윤형식, 김정숙: 겨자 Metanol 추출물의 항산화 효과, 경북대 농학지, 7 (1989).