

생강 추출획분의 대두유 및 흰쥐 간 마이크로솜 지질 과산화 억제 효과

백 숙 은
한양대학교 식품영양학과

Effect of Ginger Fractions for Inhibition of Soybean Oil and Rat Liver Microsomal Lipid Peroxidation

Back, Suk Eun

Dept. of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul, Korea

Abstract

The content ratios of gingerol in 4 fractions (hexane, ether, ethylacetate and hexane-ether (1:1, v/v) fraction) extracted from ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) were analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). The content ratios of 6-gingerol in 4 fractions were hexane fraction; 49.5%, ether fraction; 20.74%, ethylacetate fraction; 21.43% and hexane-ether (1 : 1, v/v) fraction; 93.70%. Antioxidant activities of soybean oil added 0.2% of each ginger fraction and 0.02% of BHT were determined by peroxide value during storage at 45°C. And relative antioxidant effectiveness (RAE) was calculated as the ratio of the induction period of a given substrate oil to that of a control oil. RAE of each fraction was hexane fraction; 2.60, ether fraction; 2.33, ethylacetate fraction; 2.07 and hexane-ether (1 : 1, v/v) fraction; 2.75, BHT; 1.74. Inhibition effect of each fraction on the rat liver microsomal lipid peroxidation showed hexane fraction; 93%, ether fraction; 92%, ethylacetate fraction; 86% in 350 g/ml and hexane-ether (1 : 1, v/v) fraction; 89% in 20 g/ml.

I. 서 론

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)의 항산화 활성에 관하여 전보에서 생강 진저롤(gingerol)의 열안정성 및 대두유에 대한 농도에 따른 항산화 효과¹⁾, 대두유, 팥유, 돈지, 및 어유에 대한 산화안정성에 미치는 효과²⁾ 및 진저롤이 첨가된 대두유의 산화에 미치는 온도의 영향³⁾ 등을 보고한 바 있다.

본 실험에서는 생강의 추출획분 즉, 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분(1 : 1, v/v)을 얻어서 각 획분에 존재하는 진저롤의 함량과 대두유의 산화반응 억제 효과를 보고 간 마이크로솜에서의 지질 과산화의 억제 효과와 비교하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 시료로 사용한 생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 전라북도 완주군 봉동읍에서 채취한 것으

로 물로 세척한 후 2 mm 두께로 절단하여 사용하였다. 6-gingerol 표준품은 松浦藥業株式會社(日本) 제품을, BHT(butylated hydroxytoluene)는 Nikki Universal Co., Ltd.(Japan) 제품을 사용하였으며, 기타 분석시약은 일반 특급품 및 일급품을 사용하였다. 대두유는 항산화제를 첨가하지 않은것을 (주)하인즈에서 구입하였고, 산화실험 직전에 측정된 대두유의 과산화물가(POV)⁴⁾는 0.13 meq/kg oil, 산가(AV)⁵⁾는 0.054, 요오드가(IV)⁶⁾는 133.2였다.

2. 실험방법

(1) 생강획분의 추출 및 진저롤(gingerol) 확인

1) 생강획분의 추출

생강획분의 추출은 최⁷⁾의 방법에 준하여 다음과 같이 행하였다. 생강 500 g을 상온에서 메탄올 1 L에 16시간 침지하고 이 과정을 3회 반복하여 얻은 메탄올 추출물을 흡인여과(Whatman No.42)한 후 회진 농축기를 이용하여 감압하에 용매를 제거하였다. 여기에 증류수 100 ml를 가하여 분획여두상으로 옮겨 헥산

50 ml를 가하여 핵산획분을 얻었다. 남은 수층에 에테르 50 ml를 가하여 에테르획분을 얻고 다시 남은 수층에 에틸아세테이트 50 ml를 가하여 에틸아세테이트획분을 얻었다. 이들 획분 모두 회전농축기에서 용매를 제거한 후 메탄올에 용해시켜 보관하면서 시료로 사용하였다.

한편, 핵산-에테르(1:1, (v/v))획분은 Connell⁸⁾의 생강 진저롤 분리방법이며 다음과 같다. 생강 500 g에서 메탄올 추출물을 얻은 후 에테르 100 ml를 가하여 분획여두상으로 옮겨 소량의 증류수를 가하여 층이 분리될 때까지 방치한 후 에테르 가용획분을 얻고, 용매를 제거하여 생강 특유의 냄새가 나는 진한 갈색의 올레오레진(oleoresin)을 얻었다. 이 올레오레진에 핵산 10 ml를 가한 후 자석 교반기로 강하게 교반하여 핵산층을 분리하는 과정을 10회 반복하고, 남은 성분에 핵산-에테르(1:1, (v/v))혼합 용액 10 ml를 가하여 강하게 교반하여서 핵산-에테르층을 반복하여 얻은 후 핵산-에테르(1:1, (v/v))획분이라 하였다. 이 획분 역시 위와 같이 메탄올에 용해시켜 보관하면서 시료로 사용하였다.

2) HPLC에 의한 진저롤의 정량

생강 추출획분중의 진저롤 정량^{9,10)}은 HPLC(Waters associates model 244)를 사용하였으며, 사용한 HPLC의 조건은 Column은 Lichro CART RP-18(4 mm I.D. × 250 mm), Mobile phase는 Acetonitrile/water(32; 62, (v/v)), Flow rate는 1.5 ml/min, Detector는 UV 290 nm이었다.

(2) 생강 추출획분의 지질과산화 억제 효과

1) 대두유에 대한 생강 추출획분의 항산화 효과

생강의 추출획분 핵산, 에테르, 에틸아세테이트 및 핵산-에테르(1:1, (v/v))획분을 대두유에 0.2%(w/w) 농도가 되도록 첨가하여 vial(dia: 2.5 cm)에 각 시료를 7 g씩 취하여 45°C 항온기에 저장하면서 일정 시간마다 과산화물가¹¹⁾를 측정하였다. 비교군으로는 BHT를 0.02%(w/w)농도로 위와 동일한 방법으로 대두유에 첨가하여 비교하였다. 한편, 각 시료의 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는 시간을 유도기간(induction period, IP)으로 설정하였고 이들 유도기간으로부터 상대적 항산화효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)¹¹⁾를 다음과 같이 산출하여 비교하였다.

상대적 항산화효과 =

$$\frac{\text{무첨가군의 유도기간}}{\text{항산화제 첨가군의 유도기간}}$$

2) 간 마이크로솜의 지질과산화 억제에 대한 생강 추출획분의 효과

원쥐는 숫컷 Sprague-Dawley rat(180-200 g)을 사용하였으며, 간 마이크로솜(microsome) 획분은 Lake¹²⁾의 방법에 준하여 Fig. 1과 같이 분리하였다. 생강의 추출획분 즉, 핵산, 에테르, 에틸아세테이트 및 핵산-에테르(1:1, (v/v))획분을 Wong 등¹³⁾의 방법에 따라서 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 용해시켜 적당한 농도로 희석하고 여기에 Tris-HCl buffer(pH 7.5) 50 mM, 마이크로솜(1 mg protein/ml) 0.1 ml, ascorbate 0.1 mM 및 FeSO₄ 10 μM를 가하여 총 용량을 2 ml로 하였다. 마이크로솜의 지질과산화반응의 측정¹⁴⁾은 각 반응계에서 조제된 반응액을 잘 혼합하여 37°C수조상에서 1시간동안 반응시켜 지질의 과산화를 유발시키고, trichloroacetic acid 3 M과 2.5 N-HCl의 혼합용액 0.5 ml를 가한 후 10분간 원심분리(1,000×g)한 후 상등액 1 ml에 0.67% thiobarbituric acid 1 ml를 가하여 30분간 수조상에서 가열 발색 후 냉각시켜 533 nm에서 흡광도를 측정하였다.

한편, 대조시료는 시료액을 첨가하지 않은 것을 사용하였으며 공시료는 반응액을 첨가하지 않은 것을

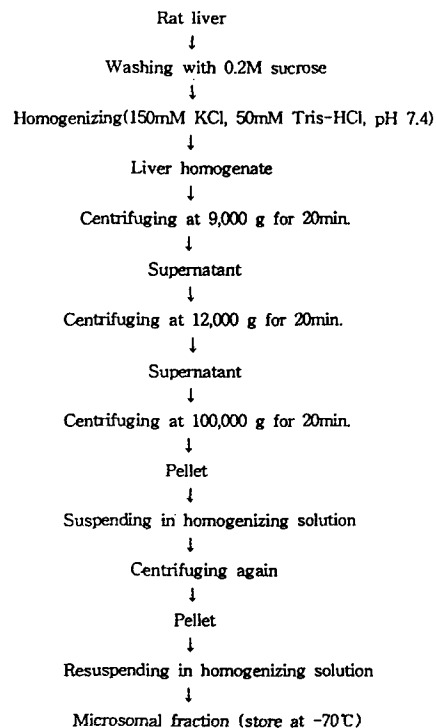


Fig. 1. Preparation of microsomal fraction from rat liver tissue.

Table 1. Contents of gingerol in hexane, ether, ethyl acetate and hexane-ether fraction extracted from ginger

Fraction	Hexane	Ether	Ethyl acetate	Hexane-Ether(1 : 1, (v/v))
Content(%)	49.50	20.74	21.43	93.70

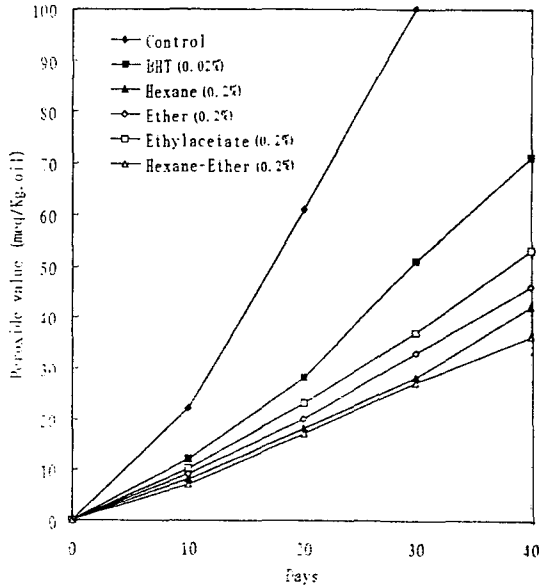


Fig. 2. Changes in peroxide value of soybean oil containing hexane, ether, ethylacetate and hexane-ether (1 : 1, v/v) fraction at 45°C.

사용하였고 지질과산화 억제율은 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{지질과산화 억제율 (\%)} =$$

$$\frac{\text{대조시료의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조시료의 흡광도} - \text{공시료의 흡광도}} \times 100$$

III. 결과 및 고찰

1. 생강 추출획분의 HPLC에 의한 진저롤 정량

생강의 추출획분 즉, 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르(1 : 1, v/v)획분에 존재하는 진저롤(gingerol)을 정량하기 위해서 HPLC 분석을 행하였다. 생강 추출획분은 모두 진저롤 표준품의 HPLC 패턴과 같이 동일한 retention time 18.2 min. 위치에서 진저롤 peak를 나타냈고, 이들 생강 추출획분의 진저롤 함량은 Table 1과 같다. 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분의 진저롤 함량은 각각 49.50, 20.74 및 21.43%이었고 헥산-에테르획분은 93.70%의 진저롤함량을 나타냈다. 이 헥산-에테르획분은 Connell⁸⁾의 생강 진저롤 분리방

Table 2. Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness(RAE) of the soybean oils containing various fractions and BHT at 45°C

Fraction	IP(days)	RAE
Control	12	1.00
hexane	31.2	2.60
Ether	28.0	2.33
Ethyl acetate	24.8	2.07
Hexane-Ether	33.0	2.75
BHT	20.9	1.74

Induction period(IP) was defined as the hour needed for the sample oil to reach a peroxide value of 30 meq/kg oil. Relative antioxidant effectiveness(RAE)=IP of substrate added antioxidant/IP of control.

법이며 이¹⁹⁾도 이 방법으로 얻은 생강추출물을 TLC로 정량한 결과 94.8%의 진저롤 함량을 나타냈다고 한 바 있어 이는 본 결과 93.70%와 큰 차이가 있지 않았다.

그러나 Connell⁸⁾의 생강 진저롤의 추출과정에는 paradol을 제거하기위해 헥산획분이 분리 제거되는데 본 실험에서 이 획분을 모아서 HPLC로 정량해 본 결과 진저롤이 20.39%의 함량을 갖고 있었다.

한편, 이들 각 획분의 진저롤 함량을 생강에 있는 진저롤에 대한 비율로 나타내면 최⁷⁾의 추출방법에 준하여 얻은 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분에 각각 73, 18, 9%의 진저롤을 얻을 수 있었고, Connell⁸⁾에 의한 헥산-에테르획분에서는 단지 생강에 있는 진저롤의 31%를 얻었으며 나머지 69%는 제거되는 헥산획분에 존재하였다.

본 실험에서는 진저롤의 함량이 각각 49.50, 20.74, 21.43 및 93.70%를 나타내는 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분을 시료로하여 다음의 항산화실험을 행하였다.

2. 생강 추출획분의 지질과산화 억제 효과

(1) 대두유에 대한 생강 추출획분의 항산화 효과

생강의 추출획분 즉, 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분을 대두유에 0.2%(w/w) 농도가 되도록 첨가하여 45°C에서 저장하면서 일정시간마다 과산화물가⁴⁾를 측정한 결과 Fig. 2와 같다. 이 결과를 유도기간(induction period, IP)과 상대적 항산화효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)¹¹⁾로 나타내면 Table 2와 Fig. 3과 같았다. 각 획분이 첨가되지 않은

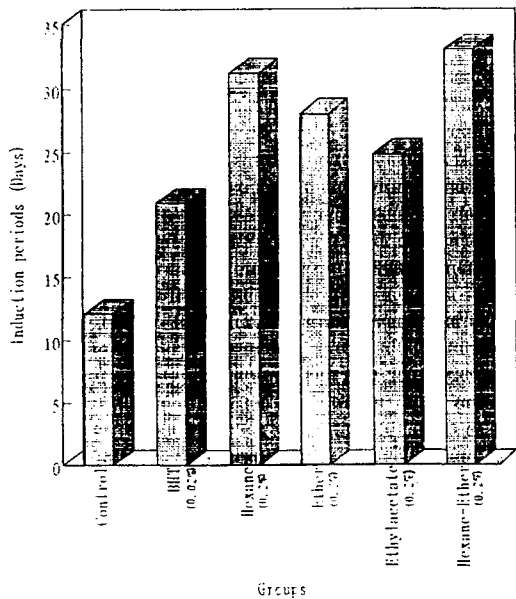


Fig. 3. Induction periods of the soybean oil containing hexane, ether, ethylacetate and hexane-ether (1 : 1, v/v) fraction at 45°C.

대두유의 유도기간(과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달한 시간)은 12일인 반면 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분이 0.2%씩 첨가된 군은 각각 31.2, 28.0, 24.8 및 33.0일, 0.02%로 대두유에 첨가된 BHT군은 20.9일이 걸렸으며, 이들 획분의 항산화 효과는 헥산-에테르획분 > 헥산획분 > 에테르획분 > 에틸아세테이트획분의 순서로 나타났다.

한편, 각 획분의 대두유에 대한 상대적 항산화 효과(RAE)를 진저롤 함량(Table 1)과 비교하면 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분의 진저롤 함량은 각각 49.50, 20.74, 21.43 및 93.70%를 나타냈고, RAE는 각각 2.60, 2.33, 2.07 및 2.75를 나타냈다. 즉, 진저롤 함량이 93.70%인 헥산-에테르획분은 진저롤 함량에 비해 상대적 항산화 효과가 크지않으나 진저롤의 함량이 적은 다른 획분보다는 대두유의 지질과산화 억제력이 높았으며, 진저롤의 함량이 49.50%인 헥산획분은 RAE가 2.60으로 헥산-에테르획분과 큰 차이를 보이지 않았고 진저롤의 함량이 각각 20.74% 및 21.43%인 에테르, 에틸아세테이트획분의 RAE는 2.33, 2.07로 획분의 진저롤 함량과 항산화력과 비례하지 않았다. 이러한 결과는 각각의 획분에 존재하는 진저롤 이외의 항산화력을 나타내는 성분¹⁶⁾ 또는 상승작용을 갖는 성분에 의하여 항산화 효과의 차이를 나타낸 것으로 생각되었다. 김 등¹⁶⁾은 생강의 80% 메탄올

Table 3. Inhibition effect of ginger fractions on the rat liver microsomal lipid peroxidation

Fraction	Concentration (µg/ml)	Inhibition (%)
hexane	350	93
Ether	350	92
Ethyl acetate	350	86
Hexane-Ether	20	89

추출물에서 DL-3,4-di-hydroxy phenylalanine, gallic acid, protocatechuic acid, pyrocatechol, caffeic acid, sinapic acid, cinnamic acid 등을 분리하여 이들의 항산화 효과를 확인한 바 있다.

(2) 간 마이크로솜의 지질과산화 억제에 대한 생강 추출획분의 효과

생강의 추출획분 즉, 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 획분 및 헥산-에테르획분의 흰쥐 간 마이크로솜의 지질과산화 억제에 미치는 효과는 Table 3과 같다. 지질과산화 억제율은 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분이 반응액농도 350 µg/ml에서 각각 93, 92, 86%의 억제율을 나타냈고, 헥산-에테르획분은 억제율이 상당히 높아서 반응액 농도를 희석하여 20 µg/ml농도에서 89%의 지질과산화 억제율을 나타냈다.

생강 추출획분의 간 마이크로솜의 지질과산화 억제 효과를 진저롤 함량과 비교하면 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분의 지질과산화 억제율(반응액 농도 350 µg/ml)은 각각 93, 92, 86%이며 진저롤 함량은 각각 49.50, 20.74, 21.43%로서 각 획분의 진저롤 함량의 차이에 따른 지질과산화 억제율의 차이는 크지 않았다. 단, 진저롤 함량이 93.70%인 헥산-에테르획분은 20 µg/ml의 낮은 반응액 농도에서 다른획분의 반응액 농도인 350 µg/ml와 비슷한 수준의 마이크로솜 지질과산화 억제율인 89%를 나타냈다.

헥산-에테르획분은 흰쥐 간 마이크로솜의 지질과산화 억제에 대하여 대두유를 기질로 했을 때보다 상당히 효과적인 것으로 사료되며, 그 외의 다른획분의 항산화 효과는 대두유에서처럼 진저롤뿐만이 아니라 그 획분에 추출되어나 온 또 다른 항산화성분¹⁶⁾과 상승역활을 하는 성분에 의하여 마이크로솜의 지질과산화 억제력을 나타낸 것으로 보인다.

결과적으로 생강에서 추출한 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분 및 헥산-에테르획분은 대두유를 기질로 했을 때만이 아니라 흰쥐의 간 마이크로솜을 기질로 하였을 때에도 지질과산화 억제효과가 있었으며, 특히 헥산-에테르획분이 다른획분보다 마이크로솜의 지질과산화 억제효과가 우수하였다.

IV. 요약

본 연구는 생강의 추출획분 즉, 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분(1:1, v/v)을 얻어서 각 획분에 존재하는 진저롤의 함량과 대두유 및 간 마이크로솜에서 지질과산화의 억제 효과를 비교하였다. 생강에서 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분(1:1, v/v)을 추출하여 HPLC를 사용하여 진저롤의 함량을 분석한 결과 각각 49.50, 20.74, 21.43와 93.70%였다. 이 4가지의 추출획분을 대두유에 0.2% (w/w) 농도가 되도록 첨가하여 45°C에서 저장하여서 상대적 항산화효과(RAE)를 본 결과 헥산, 에테르, 에틸아세테이트 및 헥산-에테르획분(1:1, v/v)이 각각 2.60, 2.33, 2.07, 2.75이었고, 0.02% 농도의 BHT첨가군은 RAE가 1.74였다. 각 획분의 흰쥐 간의 마이크로솜의 지질과산화 억제율은 헥산, 에테르, 에틸아세테이트획분이 350 µg/ml의 반응액농도에서 각각 93, 92, 86%의 억제율을 나타냈고, 헥산-에테르획분(1:1, v/v)은 20 µg/ml의 낮은 반응액농도에서 89%의 억제율을 나타냈다.

참고문헌

1. 백숙은, 이상규: Crude gingerol의 항산화효과(생강 gingerol의 열안정성 및 대두유에 대한 농도에 따른 항산화 효과), 한국조리과학회지, **9**(1): 33-36 (1993).
2. 백숙은: 대두유, 팜유, 돈지 및 어유의 산화안정성에 미치는 Crude gingerol의 영향, 한국조리과학회지, **9**(4): 298-302 (1993).
3. 백숙은: Gingerol이 첨가된 대두유의 산화에 미치는 온도의 영향, 한국조리과학회지, **10**(2): 121-125 (1994).
4. 日本油化學會, 基準油脂分析法, **2**(4): 22 (1977).

5. Pearson, D., Laboratory techniques in food analysis. Butterworths & Co., London, **125**: 1970.
6. AOCS., Official and tentative method of the American Oil Chemist's Society, 2nd ed. Method Cd 1-25. *Am. Oil Chem. Soc.*, Chicago (1964).
7. 최강주: 홍삼 및 백삼의 지방질성분의 항산화성분에 관한 연구, 고려대, 박사논문 (1983).
8. Connell, D.W., Natural pungent compounds. *Aust. J. Chem.*, **23**: 369 (1970).
9. Chen, C.C., Kuo, M.C., Wu, C.M. and Ho, C.T., Pungent compounds of ginger extracted by liquid carbon dioxide. *J. Agric. Food Chem.*, **34**: 477 (1986).
10. Baranowski, J.D., High-performance liquid chromatographic separation of pungency components of ginger. *J. Chromatograms*, **319**: 471 (1985).
11. 안명수: Caramel형 갈색화반응 중간생성물의 항산화 효과에 미치는 반응온도와 유기산 및 그 염의 영향에 대하여, 고려대학교 대학원 박사학위논문 (1984).
12. Lake, B.G., Preparation and characterisation of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism. *Biochemical toxicology*, IRL Press Oxford & Washington D.C. 183 (1987).
13. Wong, S.F., Halliwell, B., Richmond, R. and Skowronek, R., The role of superoxide and hydroxyl radicals in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorg. Biochem.*, **14**: 127 (1981).
14. Esterbauer, H., Sang, J., Zdravec, S. and Slater, T.F., *Methods in enzymology*. Packer, L.(ed), Academic Press, New York, **105**: 319 (1981).
15. 이진영: 생강추출물의 열 처리에 따른 항산화성 변화, 성신여대, 석사논문 (1993).
16. 김영휘, 문영희, 최동성, 신현영, 류창성: 생강중 메탄올 추출물의 항산화 활성. 전북대, 농대학회지, **20**: 66 (1989).