

솔잎 추출물의 기능적 특성과 대두유 산화억제 효과에 관한 연구

정 갑 섭

동명대학교 식품공학과

(2008년 7월 4일 접수; 2008년 8월 19일 수정; 2008년 8월 29일 채택)

Functional Properties of Pine Needle Extract and Its Antioxidant Effect on Soybean Oil

Kap Seop Jeong

Department of Food Science & Technology, Tongmyong University, Busan 608-711, Korea

(Manuscript received 4 July, 2008; revised 19 August, 2008; accepted 29 August, 2008)

Abstract

To investigate the functional properties and the antioxidant effect of pine needle(*Pinus densiflora*), the pine needle extract was obtained with methanol and its functionality was measured by spectrophotometric method, and the antioxidant experiment on soybean oil was carried out by the active oxygen method. The extraction yield of pine needle with 99% methanol was about 19%, the total flavonoid content of the pine needle-methanol extract was 11.32 mg/g on dry basis and the superoxide dismutase-like activity was 94.3%. The nitrite scavenging ability of the extract was pH dependent with the values of 77.44% at pH 1.2, 48.45% at pH 3.0 and 11.04% at pH 6.0, respectively. The peroxide value was 92.6 meq/kg at 5% dosage, 138.4 meq/kg at 2% dosage of the extract on 8 oxidation days. The period of the peroxide value to be 100 mg/kg was 4.9, 6.3 and 8.5 days at control, 2% and 5% dosage of extract, respectively. And the relative antioxidant effectiveness of the extract was 27.9% and 72.3% increase at 2% and 5% dosage, respectively, compared to control. The thiobarbituric acid value showed few differences within 4 oxidation days, but with the dosage of the extract it fairly decreased with considerable antioxidant effect to control above 4 days.

Key Words: Antioxidant effect, Pine needle, Superoxide dismutase-like activity, Nitrite scavenging ability, Peroxide value, Thiobarbituric acid value

1. 서 론

식품의 성분 중에서 식용 유지나 지방질 성분은 다른 성분에 비하여 저장, 가공, 정제 중에 산패변화

가 쉽게 일어나고, 산패 생성물들은 악취, 맛과 영양적 손실 등을 초래하여 식품의 품질저하를 일으키는 주요 원인이 될 뿐 아니라 독성을 발현하거나 생체내 성분의 산화에 의한 노화에 관여하여 인체에 위해를 초래하는 것으로 보고되고 있다¹⁾. 이러한 유지의 산패는 산화촉진제에 의한 생화학적 산패와 자동산화에 의한 비생화학적 산패, 가수분해 산패 및 미생물에 의한 산패 등에 유래하지만 일반적으로

Corresponding Author: Kap Seop Jeong, Department of Food Science & Technology, Tongmyong University, Busan 608-711, Korea
Phone: +82-51-629-1713
E-mail: ks0903@tu.ac.kr

로 자동산화에 의한 산패가 보편적인 것으로 알려져 있다²⁾. 근래 식생활의 고급화와 함께 유지를 함유하는 식품의 종류가 다양해지고, 유지의 소비량도 계속 증가하여 유지의 산패방지는 그 중요성이 더욱 커지고 있다.

식품의 냄새, 풍미의 변화, 유지의 산패나 변색 등을 방지, 억제 혹은 지연시키는 기능을 가진 물질이 항산화제로서, 식품의 자동산화 방지에 따른 신선도 유지라는 식품과학 분야의 역할뿐 아니라 최근 항산화제에 의한 산화 억제와 지연 기능이 생체 내에서도 발현된다는 사실이 알려지면서 항산화제는 이제 식품의 품질보존 차원을 넘어 노화억제와 질병치료라는 측면에까지 연구영역이 확대되고 있는 실정으로, 천연 항산화 물질의 탐색과 합성 항산화 물질에 대한 많은 연구가 진행되고 있다³⁻²¹⁾.

합성 항산화제는 페놀계와 아민계 및 설펜이드계 화합물 등으로 분류되지만 항산화제의 필수요건과 합성물이라는 특성으로 비추어 볼 때 인체 독성의 우려로 인해 대부분 사용규제를 받고 있어, 아민계나 설펜이드계의 화합물은 부적당하며, 지금은 대부분 페놀계를 사용하고 있다. 이 중 BHA (butylated hydroxyanisole)나 BHT (butylated hydroxytoluene), TBHQ (tertiarybutyl- hydroquinone) 및 PG (propyl gallate) 등이 잘 알려져 있다. 이들의 탁월한 효과와 높은 항산화력 및 경제성 때문에 폭넓게 사용되고 있으나 열안정성과 같은 변이원성(mutagenicity)이 문제되고 있는 실정이며, 또한 BHA, BHT 등도 하루 50 mg/kg이상을 섭취할 경우에는 생체효소 및 지방의 변화로 병, 암 등이 유발된다고 보고되고 있다⁵⁾. 따라서 안전성과 관능상 문제가 되지 않는 천연 항산화제 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다⁶⁻¹⁶⁾.

천연 항산화제는 비타민류 외에 페놀성 화합물과 플라보노이드를 포함하는 식용식물과 생약재, 저분자 물질인 향기성분 등이 포함된다⁶⁾. 일반적으로 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 밝혀진 천연 향신료를 비롯하여 예로부터 식용으로 사용해 오면서 그 안전성이 확보된 생약재 및 식용식물은 식품의 변질, 부패 및 화학적 변화를 방지하여 식품의 영양가와 신선도를 유지할 수 있는 항산화 활성을 가져 천연 보존료로서 그 활용 가치가 기대된다. 그러나 천연 항산화제에 관하여 지금까지 많은 연구가 수행

되어 왔고¹⁸⁻²¹⁾, 또한 많은 항산화 물질이 분리되었음에도 불구하고, 토코페롤 이외에는 양적·경제적 요인으로 인해 상업적으로 범용화 되지는 못하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 야생 또는 재배되는 식용식물이나 생약재의 기능적 특성과 천연 항산화능의 탐색에 관한 연구의 하나로 솔잎(pine needle; *Pinus densiflora*)을 대상으로 검토하였다. 솔잎의 테르펜에는 천연 항산화 성분인 피크노제롤이 들어 있어 산화를 억제하며, 신진대사의 촉진과 체내의 독성물질 및 노폐물을 배출시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 소화를 돕고 강장작용이 있으며, 혈관벽을 강화하고 고혈압과 중풍 및 각기병의 예방 및 치료기능이 있는 것으로 알려져 민간에서는 시기에 관계없이 채취하여 천연약재로 사용되어 왔다²²⁾. 이러한 솔잎을 메탄올로 가열추출하여 추출물의 방향족 화합물 함량(total aromatics contents, TAC), 총플라보노이드 함량(total flavonoid contents, TFC), 아질산염 분해능(nitrite scavenging ability, NSA) 등 몇 가지 기능적 특성을 측정하고, 대두유에 대한 과산화물가(peroxide value, POV)와 TBA가(thiobarbituric acid value)의 경시변화를 측정하여 유지의 산화억제 효과를 실험적으로 측정함으로써 솔잎의 천연 항산화제로서의 기능성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료채취 및 추출물 조제

실험재료로 사용한 솔잎은 2007년 5월 부산 남구 해안가에서 자생하는 솔잎을 직접 채취하여 24시간 증류수에 침적 후 세척하여 표면에 부착된 이물질을 제거하고, 길이 약 1 cm 이내로 세절하여 60℃에서 24시간 열풍건조하여 사용하였다. 솔잎 추출물은 99% 메탄올을 추출제로 사용하여 조제하였다. 즉 건조된 솔잎에 10배의 메탄올을 가하여 60℃에서 24시간 환류추출하고, 이를 여과하여 조추출물을 얻었다. 여액을 회전진공 증발기로 부피가 1/4정도가 되도록 감압농축하고, 농축액의 1/4에 해당하는 활성탄을 사용하여 24시간 흡착함으로써 색도를 제거하였으며, 이를 유리병에 넣고 밀봉 후 0℃로 유지되는 냉장고에 보존하면서 솔잎-메탄올 추출물 시료로 사용하였다.

2.2. 기능특성 측정

2.2.1. 가용성 고형분 함량측정

술잎-메탄올 추출물 시료 2 mL를 시계접시에 취하여 105℃에서 항량으로 될 때까지 증발건조한 후 증발잔사의 무게를 측정하였으며, 추출액 조제에 사용된 원료량(건물량 기준)에 대한 백분율로써 가용성 고형분(soluble solid, SS) 함량(%)을 결정하였다.

2.2.2. 갈변도와 방향족 화합물 함량측정

추출물 시료를 0.2~1.0 % (v/v) 농도의 수용액으로 조제하고, 분광광도계(V-570, Jasco)를 이용하여 갈변도(brown intensity, BI)는 파장 420 nm에서, 방향족 화합물 함량(TAC)은 파장 280 nm에서 흡광도를 측정하여 구하였다⁷⁾.

2.2.3. 총플라보노이드 함량측정

총플라보노이드 함량(TFC)은 diethylene glycol 비색법⁸⁾으로 구하였으며, 그 측정은 추출물 시료 1 mL에 10 mL의 diethylene glycol 을 첨가하고, 여기에 1 N NaOH 1 mL를 첨가한 다음 이를 37℃에서 1시간 반응시켜 파장 420 nm에서의 흡광도로부터 구하였다. 이 때 표준 검량곡선은 naringin 을 기준으로 하여 작성하였다.

2.2.4. SOD 유사활성측정

SOD유사활성(superoxide dismutase(SOD)-like activity)은 pyrogallol이 SOD유사활성 물질의 첨가에 의해 자동산화가 억제되는 원리를 이용한 Marklund의 방법⁹⁾으로 구하였다. 즉 0.2 mL의 추출액 시료에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer 용액(50 mM의 tris[hydroxymethyl]amino- methane +10 mM의 ethylenediaminetetraacetic acid) 3 mL와 7.2 mM의 pyrogallol 0.2 mL를 가하고, 25℃에서 10분간 반응한 다음 1 N HCl을 1 mL 첨가하여 반응을 정지시키고, 파장 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 동일한 방법으로 시료 대신 증류수를 첨가한 것을 대조군으로 하여 공시험을 행하고 추출액 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도로부터 식 (1)을 사용하여 SOD 유사활성을 계산하였다¹⁰⁾. 이 때 A:시료 무첨가구의 흡광도, B:시료 첨가구의 흡광도이다.

$$SOD-like\ activity(\%) = 100 - \left(\frac{A}{B} \times 100 \right) \quad (1)$$

2.2.5. 아질산염 분해작용 측정

술잎 추출물의 아질산염 분해능(NSA)은 다음과

같이 측정하였다¹¹⁾. 즉 술잎 추출물 시료 1 mL에 1 mM의 NaNO₂ 2 mL를 첨가하고, 0.1 M 염산과 0.2 M 구연산 완충액을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2, 3.0 및 6.0으로 조정 한 다음 반응액의 부피를 각각 10 mL로 하였다. 이들 용액을 37℃에서 1시간 반응시킨 다음 각 반응용액 1 mL를 취하고, 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 후 30% 초산용액으로 조제한 Griess시약(1%의 sulfanilic acid : 1% naphthylamine=1:1인 시약) 0.4 mL를 가하고 혼합하여, 실온에서 15분간 방치한 후 파장 520 nm에서 분광광도계의 흡광도를 측정하였다.

동일한 방법으로 시료없는 공시험을 행하여 추출물 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도로부터 각 pH에서의 아질산염 분해능을 식 (2)로 계산하였다¹¹⁾.

$$NSA(\%) = 100 - \left[\frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right] \times 100 \quad (2)$$

2.3. 산화억제 효과측정

2.3.1. 산화실험

술잎 추출물의 산화억제 효과는 D사 시판품 식용 대두유를 기질로 사용하여 활성산소법(active oxygen method, AOM)⁵⁾으로 산화시키면서, 술잎 추출물에 의한 산화억제 효과를 비교하였다. 먼저 유지를 비이커에 일정량 평취하고, 여기에 술잎 추출물을 첨가하여 30분간 자석식 교반기로 교반 혼합한 후 AOM용 시험관에 주입하였다. 대조군으로는 술잎 추출물과 동일한 부피의 메탄올만 가하여 조제하였다. 이들 AOM 시험관을 온도가 50℃로 조절된 항온조 내에 장치하고, 기포 발생기를 사용하여 100 mL/min의 양으로 공기를 주입하면서 강제산화시켰으며, 대두유의 부피는 100 mL로, 술잎 추출물의 첨가량은 0~5% 범위로 하였다.

2.3.2. 과산화물가 측정

AOM으로 생성된 산화물은 일정 시간간격으로 시료를 채취하여 과산화물가(POV)의 경시변화를 측정함으로써 산화정도를 측정하였으며²³⁾, 그 변화 폭으로부터 산화억제 효과를 비교하였다. 즉 AOM 시험관으로부터 채취한 유지 시료에 클로로포름 10 mL와 초산 15 mL를 가하여 유지를 용해하고, KI 포화용액 1 mL를 가하여 1분간 진탕시키고, 5분간 암소에 방치시킨 후 증류수 75 mL를 첨가하여 진탕

혼합한 다음 전분 지시약 1 mL를 가하고, 0.01 N 티오황산나트륨용액으로 적정하였다. 동일한 방법으로 시료없는 상태에서 공시험을 행하여 식 (3)으로 구하였다. 여기서 a: 시료의 0.01N 티오황산나트륨용액 적정소비량(mL), b: 공시험의 0.01 N 티오황산나트륨 용액 적정소비량(mL), f: 0.01 N 티오황산나트륨 용액의 factor, s: 유지 시료량(g)이다.

$$\text{과산화물가(meq/kg)} = \frac{(a-b) \times 10 \times f}{s} \quad (3)$$

2.3.3. TBA가 측정

AOM 시험관의 시료 일정량을 취하여 벤젠 10 mL로 용해하고, 0.69 g의 TBA의 100 mL 수용액과 초산이 1:1로 혼합된 TBA시액 10 mL를 가한 다음 진탕하며 4분간 방치한 후 끓는 물 속에서 30분간 가열하고 흐르는 물 속에서 냉각한 다음 분광광도계로 파장 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 방법으로 시료없는 상태에서 공시험을 행하여 식 (4)로부터 TBA가를 구하였다²³⁾. 여기서, A:본시험의 흡광도, B:공시험의 흡광도, S:유지 시료량(g)이다.

$$\text{TBA가} = \frac{(A-B) \times 300}{S} \quad (4)$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출물의 가용성 고형분 함량

메탄올에 의한 환류추출로부터 짙은 흑갈색의 추출액을 얻고, 이를 Whatman No.2 여지로 2회 여과하여 조추출물 여액을 얻었으며, 그 잔사로부터 가용성 고형분을 측정하였다. 그 결과 솔잎 추출물의 SS량은 18.8 mg/mL로 얻어져, 건조중량에 대한 SS수율은 약 19%로 나타났다. 이 값은 Lee 등¹²⁾이 감귤 과피를 40°C에서 가수분해하여 얻은 수율 48~73%나 Lim 등¹³⁾이 메탄올에 의한 프로폴리스의 추출수율 67.4%에 비해 상당히 낮은 값이었으나 붉나무의 14.53%¹⁴⁾, 방아의 7.36%²⁾, 인삼과 산더덕 및 재배 더덕의 7.94%와 13.6% 및 14.12%¹⁵⁾ 보다는 높은 값이었다. 이러한 차이는 원료의 종류, 상태 및 성질이나 추출온도, 추출제의 종류 등 추출조건에 따른 차이인 것으로 생각된다.

조추출물 여액은 가열추출 중 갈변현상이 나타나 산화억제 효과의 측정을 위한 실험조작에서 종말점

판단이 곤란하여 흑갈색의 조추출물 여액을 활성탄으로 24시간 흡착한 결과 육안으로는 거의 투명한 상태로 색소가 제거되었고, 이 때의 SS 수율은 약 5%로 감소하였다.

3.2. 갈변도와 방향족 화합물 함량

추출물 시료의 수용액에 대한 갈변도(BI)와 방향족 화합물 함량(TAC)의 측정결과는 Table 1과 같았다. 1%이하의 농도범위에서 조추출물 시료의 경우 농도가 증가할수록 $\lambda=420$ nm에서의 흡광도로 나타낸 BI와 $\lambda=280$ nm에서의 흡광도로 나타낸 TAC는 모두 직선적으로 증가하였으며, 1%의 농도에서 BI 및 TAC는 0.351과 1.256으로 나타났다. 이들 값은 Kang 등⁷⁾의 70% 아세톤에 의한 쪽의 추출물에 대한 BI 및 TAC인 0.44와 4.36과 비교하여 BI는 거의 유사한 값이었으나 TAC는 상당히 작은 값이었다. 더욱이 활성탄 흡착 후에는 시료용액의 BI는 조추출물 시료의 BI에 대하여 1/15~1/70로 감소하였고, TAC는 1/10~1/40로 감소하여 극히 낮은 값으로 얻어졌다. 이는 추출물 시료중 산화적 갈변작용을 가진 물질이 활성탄에 상당히 많이 흡착되었기 때문으로 생각된다.

3.3. 총플라보노이드 함량

식물에 존재하는 많은 화학물질(phytochemical) 중 폴리페놀 화합물이나 플라보노이드류는 여러 가지 식품에 널리 분포되어 있으며, 천연 항산화제로써 작용할 수 있다는 연구들이 행해져 왔다¹⁶⁾. 따라서 실험에 사용한 솔잎 메탄올 추출물의 항산화제로서의 가능성을 검토하기 위하여 추출물 내의 총플라보노이드의 함량(TFC)을 측정하였다. 그 결과 솔잎-메탄올 조추출물의 플라보노이드 함량은 건물

Table 1. Absorbance for BI and TAC of pine needle-MeOH extract

Concentration (v/v%)	$\lambda=420\text{nm}$		$\lambda=280\text{nm}$	
	Extract A ^{a)}	Extract B ^{b)}	Extract A	Extract B
0.2	0.065	0.004	0.256	0.024
0.5	0.168	0.004	0.622	0.025
0.8	0.272	0.004	0.995	0.027
1.0	0.351	0.005	1.256	0.030

a: crude extract

b: extract filtrated with activated carbon

을 기준하여 naringin 상당량으로 환산한 결과 11.32 mg/g으로 얻어졌으며, 활성탄 흡착 후에는 1.86 mg/g으로 감소하여 얻어졌다. 술잎 조추출물의 플라보노이드 함량은 Kim 등¹⁶⁾의 여러 종의 국내산 한약 규격품에 대한 결과와 비교하여 같근, 감초, 오가피 등의 플라보노이드 함량보다는 작은 값이었으나 옥죽, 하수오, 황정 등 보다는 큰 값이었으며, 또한 Thu Thi와 Park¹⁷⁾의 영귀귀에 대한 총플라보노이드 측정결과와 Eum 등⁸⁾의 감자에 대한 결과보다는 큰 값으로 나타나 본 연구에서의 술잎-매탄을 추출물이 항산화물질로서의 기능성이 있음을 예상할 수 있었다. 활성탄 흡착 후 플라보노이드 함량이 감소한 것은 흡착과정에서 색소의 흡착에 의한 손실에 기인하는 것으로 생각된다. 여기서 앞서 3.2절에서와 같이 산화적 갈변작용을 일으키는 물질 중에 기능성 성분이 함유되어 있을 것으로 예상할 수 있으며, 식품 중 플라보노이드 함량이 증가하면 대체로 총폴리페놀 함량이 증가하여 항산화 활성이 증가하므로 이들 함량이 많을수록 기능성이 클 것으로 가정한다면 활성탄 흡착에 의한 BI와 TAC 손실이 일어나지 않도록 활성탄 흡착공정이 없이 추출·분석할 수 있는 방법이 필요할 것으로 생각된다.

3.4. SOD 유사활성

항산화 효소중의 하나인 SOD는 활성산소를 제거하는 효소로서 산소를 소비하는 기관에 존재하면서 생체 내에 과잉의 활성산소가 발생하였을 때 이것을 중화하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 즉 산패로 인하여 생성된 환원산소종 superoxide anion, O₂⁻)을 과산화수소로 전환시키는 반응[2O₂⁻ + 2H⁺ → H₂O₂ + O₂]을 촉매하고, catalase는 SOD에 의해 생성된 과산화수소를 무해한 물분자와 산소분자로 전환시키는 역할을 한다. 인간의 경우 노화가 진행되면 SOD의 유도능이 약해지게 되는데, SOD는 인체 내에서 추가로 생성되지 않는 특성을 가지고 있다. 그러나 SOD는 30 kDa이상의 분자량을 가진 단백질 물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고, 체외로 배출되며, 열과 pH에 불안정하다^{11,19)}. 따라서 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완할 수 있는 SOD 유사활성 물질을 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로

주로 phytochemical에 속하며, superoxide의 반응성을 억제한다. 따라서 이 SOD 유사물질을 섭취하면 인체 내의 superoxide를 제거함으로써 산화적 장해를 방어하고, 노화억제 효과를 기대할 수 있을 것이다.

이러한 SOD와 유사한 역할을 하여 superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 물질로서의 활성능을 확인하기 위하여 superoxide와 반응하여 갈변 물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화 반응을 측정하여 술잎 에탄올 추출물의 SOD유사활성을 측정하였다. 술잎 조추출물의 SOD는 94.3%로 나타나 Yoo 등¹⁰⁾이 포도 과피의 에탄올 추출물에 formic acid와 citric acid를 첨가한 SOD인 95.1%와 94.4% 및 Cha 등¹⁸⁾이 복분자 딸기의 완숙과 추출물의 SOD인 91.7%와 유사한 값이었으며, Kim 등¹⁹⁾의 복령 근사체의 유사활성인 25%나 Lee 등²⁰⁾이 동물성 항산화제로서 팽장이 추출물의 유사활성인 22~42%보다 높은 값이었다. 그러나 활성탄 흡착 후의 SOD는 21.0%로서 낮은 값으로 나타났다.

3.5. 아질산염 분해능

육제품이나 수산가공품 등에 발색제로 첨가되는 질산염이나 아질산염은 육제품의 발색 및 안정화에 기여하므로 발색제 및 보존제로 이용될 뿐 아니라 정균작용을 하며, 또한 육의 보수성과 결착성을 개선하는 데에 중요한 역할을 한다. 이들 질산염은 식품의 저장 중이나 인체의 소화기관 내에서 질산 환원효소나 아질산염 환원세균에 의해 아질산염으로 환원되며, 아질산염은 2급 및 2급 아민류와 반응하여 nitrosamine을 형성하는 것으로 알려져 있다²¹⁾. 이 nitrosamine은 체내에서 diazoalkane[C_nH_{2n}N₂]으로 변화하여 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 알킬화함으로써 암을 유발한다고 한다. Ascorbic acid는 nitrosamine 생성을 억제하고, 식품 중에 페놀계 물질들이 nitro화하는 반응을 강력하게 억제하여 항암작용에 기여한다.

본 연구에서의 술잎 추출물의 아질산염 분해능을 확인하기 위하여 아질산나트륨 용액에 술잎의 매탄을 추출물을 첨가하고, pH 조건을 1.2, 3.0, 6.0으로 조정하고 분해능을 측정한 결과 Fig. 1과 같이 pH 1.2에서 77.44%, pH 3.0에서 48.45%, pH 6.0에서 11.04%로 각각 나타나 pH가 낮을수록 아질산염 분해능이 높게 나타났다. 이들 값은 동일한 pH조건에

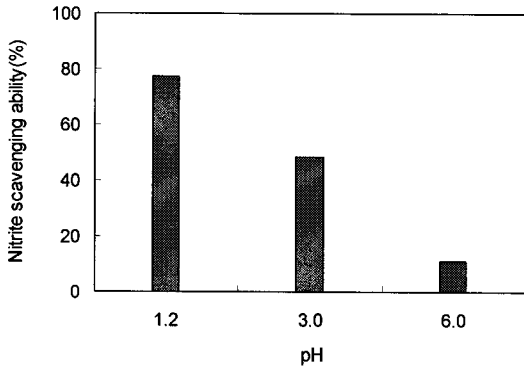


Fig. 1. Nitrite scavenging ability of pine needle-MeOH extract.

서 비타민 C에 대한 결과¹⁸⁾인 99.67%, 88.00% 및 67.16%보다는 낮은 값이었으나 복분자 딸기의 결과인 63.24%, 10.99% 및 7.94%나 대나무의 에탄올 추출물에 대한 측정결과²¹⁾인 43.02%, 35.46% 및 9.86% 보다는 높은 값이었다. 일반적으로 nitrosoamine의 생성억제효과는 페놀함량, 플라보노이드 함량 및 페놀산 함량 등에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있으므로 상기의 추출물간 측정결과의 차이도 이들 함량의 차이와 측정 조건의 차이 등에 의한 것으로 생각된다.

아질산염이 아민류와 반응하여 nitrosamine을 형성하는 과정은 pH조건이 낮은 조건에서 쉽게 일어나는 것으로 알려져 있다. 니트로화에 영향을 주는 아질산염은 산성화하여 아질산을 형성하고, 아질산은 $H_2NO_2^+$ 으로 proton화되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamide를 형성한다. 이러한 산성화 과정 때문에 니트로화 반응은 주로 인체내의 산성 위(acidic stomach)에서 발생한다. 아질산염의 분해능이 높다는 것은 위장내에서 발암물질의 분해능이 높아 항암효과를 나타낼 가능성이 있는 것으로 알려져 있다. 인체내 위에서의 pH 변화를 고려하여 측정된 솔잎 추출물에 대한 결과인 Fig. 1에서 보이듯이 위의 pH조건과 유사한 pH 1.2에서 분해능이 가장 우수한 것으로 나타나 인체 내에서도 효과적인 아질산염 분해작용을 통하여 nitrosamine생성을 억제함으로써 항암작용에 기여할 것으로 예상할 수 있다.

3.6. 과산화물가의 변화

솔잎-메탄올 추출물의 산화억제 효과를 확인하기

위하여 대두유를 기질로 사용하고, 솔잎 추출물의 첨가량을 2%와 5%로 하여 50℃로 조절된 항온조내에 저장하면서 100 mL/min의 양으로 조절된 공기를 AOM 시험관에 주입하여 강제 산화시키면서 측정된 과산화물가의 경시변화 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 도시결과 산화 8일째에 추출물을 첨가하지 않은 대조구(control)의 과산화물가는 183.3 meq/kg인데 비하여 솔잎-메탄올 추출물 2% 첨가구는 138.4 meq/kg이었고, 5% 첨가구는 92.6 meq/kg으로 감소하여 솔잎 메탄올 추출물은 과산화물의 생성을 억제함으로써 대두유에 대하여 상당한 산화억제 효과가 있음을 알 수 있었다.

각 처리구의 과산화물가가 100 meq/kg에 도달하는 시간을 유도기간(induction period, IP)으로 하여 이들 유도기간으로부터 산화억제 효과를 나타내는 정도인 산화억제지수(antioxidant index)로서 RAE(relative antioxidant effectiveness)를 식 (5)로 산출하였고¹⁵⁾, 이 값으로부터 추출물 첨가에 따른 산화억제효과를 비교한 결과 Table 2와 같았다.

$$RAE = \frac{\text{추출물을 첨가한 경우의 IP}}{\text{무첨가한 경우의 IP}} \times 100(\%) \quad (5)$$

솔잎 추출물을 첨가하지 않은 대조구의 유도기간이 약 5일인데 비하여 솔잎-메탄올 추출물 2%첨가구는 약 6.3일로서 RAE가 약 28% 증가하였고, 5% 첨가구는 유도기간이 약 8.5일로서 RAE가 약 72% 증가하여 솔잎 추출물의 산화억제 효과가 있음을 알 수 있다. 이들 RAE값은 Maeng 등¹⁵⁾의 결과인 인삼 추출물의 86.1~106.4%보다는 낮았으나 산더덕의 75.2%와는 유사한 결과였으며 BHA의 결과보다는 높은 값이었다.

3.7. TBA가의 변화

TBA가는 유지 산패시 최종 생성되는 대표적인

Table 2. Induction period (IP) and relative antioxidant effectiveness (RAE) of pine needle-MeOH extract

	IP(day)	RAE(%)
Control	4.91	100.0
2% dosage	6.28	127.9
5% dosage	8.46	172.3

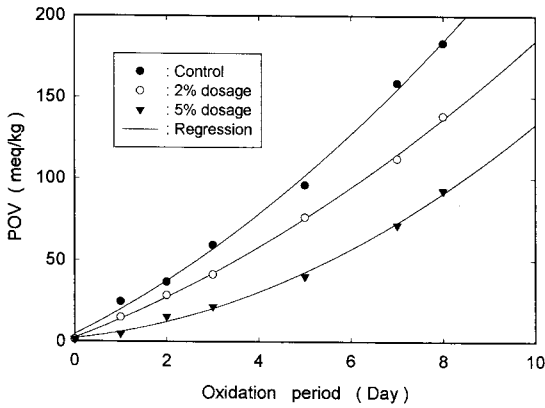


Fig. 2. Variation of peroxide value of soybean oil containing pine needle-MeOH extract(Air flow rate:100 mL/min, Temp.:50°C).

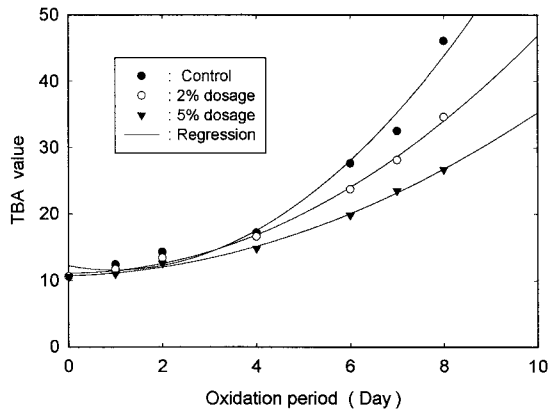


Fig. 3. Effect of pine needle-MeOH extract on the changes of TBA value of soybean oil(Air flow rate:100 mL/min, Temp.:50°C).

카르보닐 화합물인 malondialdehyde가 TBA와 반응하여 생성하는 적색색소 물질의 양을 정량하여 산패여부를 확인하는 방법이다²¹⁾. 유지 산패와 관련한 솔잎 메탄올 추출물의 산화억제 효과를 검토하기 위하여 대두유에 추출물을 2%와 5%를 첨가하여 100 mL/min의 공기량 하에 50°C에서 측정된 TBA의 경시변화를 Fig. 3에 도시하였다.

산화개시 4일까지는 추출물이 첨가되지 않은 대조구와 첨가된 시료구 모두 TBA의 증가가 크지 않았으나 그 이후 급격한 증가를 보이고 있으며, 과산화물가의 변화 양상과 유사하게 대조구에 비해 시료구의 TBA가 훨씬 낮아 솔잎 추출물의 유지 산화억제 효과를 알 수 있다. 6일 경과후의 TBA는 대조구의 27.6에 비하여 2% 첨가구 23.7, 5% 첨가구 19.8로서 솔잎 추출물 첨가로 TBA를 상당히 낮출 수 있어 산화억제 효과가 있음을 보여 주었다.

4. 결 론

메탄올에 의한 솔잎 추출물에 대하여 갈변도, 총 플라보노이드 함량, SOD유사활성 및 아질산염 분해작용 등 기능적 특성을 측정하고, AOM법으로 대두유의 과산화물가와 TBA의 경시변화를 측정하여 대두유에 대한 솔잎 추출물의 산화억제 효과를 검토하였다.

추출수율은 솔잎 건조중량 기준으로 약 19%였으

며, 추출물 1% 농도에서 갈변도 및 방향족 화합물 총함량은 0.351 O.D. 및 1.256 O.D.로 나타났다. Naringin을 기준한 총플라보노이드의 함량은 11.32 mg/g으로 얻어졌고 SOD유사활성은 94.3%였으며, 아질산염 분해효과는 pH 1.2, 3.0 및 6.0에서 각각 77.44%, 48.45% 및 11.04%로 나타났다.

솔잎 추출물의 첨가량에 따른 대두유의 과산화물가 변화로부터 이의 100 mg/kg에 도달하는 유도기간은 대조구, 2% 및 5% 첨가구에 대해 각각 4.9일, 6.3일 및 8.5일로서 추출물 2%와 5% 첨가구는 대조구에 비해 RAE가 각각 27.9%와 72.3% 증가하였다. 산화실험 개시 6일 경과후의 솔잎 추출물 첨가 TBA는 대조구의 27.6에 비하여 2% 첨가시 23.7, 5% 첨가시 19.8로 각각 나타나 솔잎 추출물 첨가로 TBA를 상당히 낮출 수 있었으며, 이들 결과로부터 대두유에 대한 솔잎 추출물의 산화억제 작용을 확인할 수 있었다.

감사의 글

실험 소재를 분양해 주신 국가지정 한약자원 향장소재은행에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Proctor P. H., Reynolds E. S., 1984, Free radicals and disease in man, *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*, 16,

- 175-195.
- 2) 원선임, 지옥화, 양차범, 1995, 방아의 각종 용매 추출물의 항산화효과, 한양대학교 한국생활과학연구, 13, 149-164.
 - 3) Frankel E. N., 1996, Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality, Food Chemistry, 57, 51-55.
 - 4) Kim I. W., Shin D. H., Jang Y. S., 1999, Antioxidative activity of some antioxidants and emulsifier in bulk and emulsion systems, Korean J. Food Sci. Technol., 31, 1077-1083.
 - 5) Park J. H., Kang K. C., Baek S. B., Lee Y. H., Rhee K. S., 1991, Separation of antioxidant compounds from edible marine algae, Korean J. Food Sci. Technol., 23, 256-261.
 - 6) Jang H. W., Lee H. J., Lee K. G., 2005, Analysis and antioxidant activity of volatile extracts from plants commonly used in Korean foods, Korean J. Food Sci. Technol., 37, 723-729.
 - 7) Kang Y. H., Park Y. K., Oh S. R., Moon K. D., 1995, Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts, Korean J. Food Sci. Technol., 27, 978-984.
 - 8) Eum M. A., Kang Y. H., Keon D. J., Jo K. S., 1999, The nitrite scavenging and electron donating ability of potato extracts, Korean J. Food & Nutr., 12, 478-483.
 - 9) Marklund S., Marklund G., 1974, Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, Eup. J. Biochem., 47, 468-474.
 - 10) Yoo M. A., Chung H. K., Kang M. H., 2004, Optimal extract methods of antioxidant compounds from coat of grape dreg, Korean J. Food Sci. Technol., 36, 134-140.
 - 11) Lim J. A., Na Y. S., Baek S. H., 2004, Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of ethanol extract from phyllostachys bambusoides, Korean J. Food Sci. Technol., 36, 306-310.
 - 12) Lee M. H., Huh D., Jo D. J., Lee G. D., Yoon S. R., 2007, Flavonoids components and functional properties of citrus peel hydrolysate, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 36, 1358-1364.
 - 13) Lim D. K., Shin D. H., Jeong Y. S., 1994, Antioxidative effect of propolis extract on parlm oil and lard, Korean J. Food Sci. Technol., 26, 622-626.
 - 14) Lee Y. J., Shin D. H., Chang Y. S., Kang W. S., 1993, Antioxidative Effect of *us javanica Linne* Extract by Various Solvents, Korean J. Food Sci. Technol., 25, 677-682.
 - 15) Maeng Y. S., Park H. K., 1991, Antioxidant activity of ethanol extract from Doduk(*Codonopsis lanceolata*), Korean J. Food Sci. Technol., 23, 311-316.
 - 16) Kim E. Y., Baik I. H., Kim J. H., Kim S. R., Rhyu M. R., 2004, Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants, Korean J. Food Sci. Technol., 36, 333-338.
 - 17) Thu Thi B. H., Park M. K., 2008, Total phenolic compounds and flavonoids in the parts of artichoke (*Cynara scolymus L.*) in Viet Nam, J. of Environ. Sci., 17, 107-112.
 - 18) Cha H. S., Park M. S., Park K. M., 2001, Physiological activities of *Rubus coreanus miquel*, Korean J. Food Sci. Technol., 33, 409-415.
 - 19) Kim D. G., Son D. H., Choi U. K., Cho Y. S., Kim S. M., 2002, The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of *Poria cocos*, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31, 1097-1101.
 - 20) Lee K. T., Song H. S., Park S. M., 2007, Antioxidant effects of carnosine extracted from the eal *anguilla japonica*, J. Kor. Fish. Soc., 40, 193-200.
 - 21) Kim S. B., Lee D. H., Yeum D. M., Park J. W., Do J. R., Park Y. H., 1988, Nitrite scavenging effect of Maillard reaction products derived from glucose-amino acids, Korean J. Food Sci. Technol., 20, 453-458.
 - 22) 한국성인병예방연구회, 2007, 약초한방 대백과, 아이템북스, 351-352.
 - 23) 채수규, 강갑석, 마상조, 방광웅, 오문현, 오성훈, 2003, 표준 식품분석학, 지구문화사, 347-351.