

## 생강 분획의 gingerols 분석 및 초임계 추출물의 항산화 효과

이은주 · 양선아<sup>1</sup> · 최희돈<sup>2</sup> · 임효권<sup>3</sup> · 황 기 · 이인선\*

계명대학교 식품가공학 전공, <sup>1</sup>계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR) 센터,  
<sup>2</sup>한국식품연구원, <sup>3</sup>대구 테크노파크 바이오산업지원센터

### Comparison of Gingerols in Various Fractions and the Antioxidant Effects of Supercritical Fluid Extracts from Ginger

Eun-Ju Lee, Seun-Ah Yang<sup>1</sup>, Hee-Don Choi<sup>2</sup>, Hyo-Gwon Im<sup>3</sup>, Key Whang, and In-Seon Lee\*

Department of Food Science and Technology, Keimyung University

<sup>1</sup>The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University

<sup>2</sup>Korea Food Research Institute

<sup>3</sup>Daegu Technopark Bio Industry Center

**Abstract** Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) is a well known edible plant that is traditionally used to treat various illnesses related to inflammation and oxidative stress. Steam distilled ginger oil or water extract are mainly used for related products; however, it is unclear whether these fractions contain most of the bioactive compounds or the highest efficacy. This investigated the antioxidant effects of extracts prepared by supercritical fluid extraction (SFE). 6-Gingerol was the most abundant component in hexane fraction of ethanol extract from ginger. The antioxidative properties of SFE oil and Marc ethanol fractions were demonstrated using the 2,20-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radicals scavenging assays. A clear correlation was observed between total polyphenol contents and RC<sub>50</sub> values in the Marc ethanol fraction. These results indicate that not only SFE oil but the marc after SFE could be good sources for the food industry.

**Keywords:** ginger, *Zingiber officinale* Rosc., antioxidant, supercritical fluid extraction, gingerol

## 서 론

최근 국내에서는 경제성장과 국민소득의 증대에 따라 건강과 장수에 대한 관심이 빠르게 증대되고 있으며 안전한 먹거리 확보에 대한 관심도 고조되고 있다. 따라서 유용생리활성을 가지면서 부작용이 없는 천연물 유래의 활성물질 탐색에 연구가 집중되고 있으며, 특히 천연 식물자원을 대상으로 항균, 항노화, 성인병 예방, 면역증강, 항산화 효과 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1,2). 향신료는 예부터 풍미 증진을 위해 첨가한 결과 식품의 보존성을 높였다고 알려져 있다. Maveety(3)가 향신료의 항산화 효과를 보고한 이래 향신료 분말과 용매추출물 그리고 자극성 물질들의 항산화 효과에 대한 많은 연구가 수행되어왔다(4-10).

생강(Ginger, *Zingiber officinale* Rosc.)은 생강과(*Zingiber-aceae*)에 속하는 아열대 또는 열대 원산의 다년생 초본 식물의 하나로서, 그의 근경을 칭하기도 한다(11,12). 생강은 특유의 맛과 향기를 지니고 있어 기호성이 좋은 향신료의 하나로서 날 생강, 건생강, 추출물 및 정유(absolute, oleoresin) 등이 생강 제품을 위한

소재로 유통되고 있다(13). 한방에서는 소화불량, 구토, 설사에 효과가 있고 혈액순환을 촉진하며 항염증 및 진통에 효과가 있다고 알려져 있다. 생강의 생리활성 성분으로는 항균작용(14), 항염작용(15,16), 혈청 콜레스테롤 저하효과(17), 항산화 작용(18)을 나타내는 것으로 보고되고 있고, 특히 생강의 매운맛 성분중의 하나인 6-gingerol은 소염, 살균효과 및 항산화 활성을 나타낸다(19). 생강의 면역과 관련된 연구로는 생강의 oleoresin, gingerol, shogaol이 자연살해 세포의 기능을 활성화시켜 면역능을 증진시키는 효과에 관한 것이 있다(20,21). 이처럼 질병의 치료와 예방을 위해 천연물로부터 유용성 성분을 분리하는 많은 연구방법이 제시되어 왔다. 그러나 대부분의 천연유효성분은 그 구조가 매우 복잡하고 정교할 뿐만 아니라 불안정하여 이들을 효율적으로 추출하는데 어려움이 있다. 현재 식물 내 유효성분을 추출하기 위한 방법으로는 특정 용매에 대한 구성물의 용해도 차이를 이용하는 용매 추출법이 널리 사용되고 있으나 이러한 방법은 너무 높은 비등점으로 인해 고온에 의한 천연물의 유효성분의 분해 및 파괴 등의 문제가 야기되고 사용된 용매에 유용성분 일부가 잔존할 가능성이 있어서 효과적인 추출법이라고 할 수 없다(22). 따라서 위의 단점을 보완하기 위한 추출법으로써 초임계 유체를 이용한 초임계 추출법이 주목 받고 있다.

초임계 추출공법은 저온에서 조작할 수 있어 천연물과 같은 열에 약한 물질의 추출에 유용하며 기존의 추출법과 비교하면 확산계수가 높고 점도가 낮기 때문에 빠른 추출과 상 분리가 가능하다. 또한 온도 또는 압력을 변화하여 용매 회수를 쉽게 할 수

\*Corresponding author: In-Seon Lee, Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea  
Tel: 82-53-580-5538  
Fax: 82-53-580-5538  
E-mail: inseon@kmu.ac.kr  
Received March 11, 2011; revised April 19, 2011;  
accepted April 25, 2011

있다는 장점이 있다(23). 최근의 초임계 유체 추출기술에는 이산화탄소가 가장 널리 이용되고 있는데, 이는 이산화탄소의 낮은 임계 온도와 임계 압력으로 온화한 조건에서 추출을 수행할 수 있으며, 독성, 가연성, 추출대상물질과의 반응성 및 부식성이 없고 고순도의 이산화탄소를 쉽게 구할 수 있기 때문이다(24). 그리고 온도에 민감한 물질을 변성이나 분해 없이 분리할 수 있어서 식품이나 의약품 등 인체에 직접 적용되는 제품의 생산에 매우 유용하나, 아직 추출법에 따른 유용성분의 추출과 관련된 체계적인 연구보고는 전무한 상태이다.

본 연구에서는 천연 식물소재인 생강을 이용하여 용매추출, 초임계 추출 공정을 통한 초임계 오일과 박 추출물의 항산화 특성을 검토하였으며, 추출물 및 분획물의 gingerol류의 유용성분 함량을 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 생강 에탄올 추출물 제조 및 계통 분석

본 실험에서 사용한 생강은 (주)향생원(Wanju, Korea)에서 도종건 생강을 구입하였으며, 4°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 생강은 슬라이스하여 약 6배(w/v)의 70% 에탄올 18 L에 24시간 동안 정치하여 총 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 3, Maidstone, England)를 사용하여 여과하고 rotary vacuum evaporator(UNI TRAP UT-1000, Eyela, Tokyo, Japan)로 55°C에서 감압 농축한 후 동결 건조하여 -20°C에 보관하여 사용하였다.

동결 건조한 생강 에탄올 추출물은 n-hexane, chloroform(CHCl<sub>3</sub>), ethyl acetate(EtOAc) 및 butanol(BuOH)로 순차적으로 3회 반복 추출하여 각 용매별로 계통적으로 분획을 하였고 남은 수용성 층은 water(H<sub>2</sub>O)분획으로 rotary vacuum evaporator로 55°C에서 감압농축 하여 사용하였다.

### 초임계 추출물 제조(SFE Oil)

초임계 유체 추출은 (주)유맥스의 초임계 추출장치(SFE 5 L, Natex Prozesstechnologie GesmbH, Ternitz, Austria)를 이용하였다. 분쇄된 생강 분말시료를 각각 추출조에 2 kg을 넣어 반응기의 온도 35, 45, 55°C, 온도별 압력 100, 200, 300, 400 bar, S/F ratio(supercritical fluid kg/feed kg) 25-35까지의 조건으로 추출하였다.

### 초임계 박 추출물 제조(Marc ethanol)

초임계 추출을 하고 남은 부산물인 생강 박을 무게의 10배(w/v)의 에탄올(70%)을 가하여 24시간 동안 정치하여 3회 반복하여 회수된 추출물을 rotary vacuum evaporator로 55°C에서 감압 농축한 후 동결 건조하여 사용하였다.

### Gingerol 및 shogaol 함량

생강 분획물에 함유된 6-gingerol, curcumin, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol 등의 gingerol 함량을 HPLC(Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 정량 하였다. 컬럼은 Waters symmetry C-8 reversed phase column(150×3.9 mm, Cat. No. WATO 54235, Waters Corp., Milford, MA, USA)을, 이동상은 methanol-water (46:35, v/v)를 1 mL/min의 속도로 용출하였고 시료의 검출은 UV detector로 282 nm에서 측정하였다. 분석표준물질은 6-gingerol, curcumin, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol은 Chromadex사(Laguna Hills, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 생강 추출물을 5 mg/mL 농

도로 메탄올에 녹인 후 0.45 µm syringe filter (Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과하여 제조하였고 이를 분석용 시료로 사용하였다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(25)을 응용하여 실험하였다. 70% 에탄올 추출물 시료 1 mg을 증류수 1 mL에 녹이고 10배 희석한 희석액 2 mL에 2배로 희석한 Folin 시약 2 mL을 첨가하고 잘 혼합한 후 3분간 방치하여 2 mL의 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 서서히 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 방치한 후 UV/visible spectrophotometer를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 정량하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 tannic acid의 최종농도가 5, 10, 25, 75, 100 µg/mL이 되도록 하여 위와 같은 방법으로 700 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Nieva 등(26)의 방법에 의해 측정하였다. 각 시료 100 µL를 80% 에탄올 900 µL에 희석한 후 100 µL를 취하여 10% aluminum nitrate 20 µL와 1 µM potassium acetate 20 µL, 80% 에탄올 860 µL를 혼합하여 실온에서 40분간 방치한 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 정량하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

### DPPH radical 소거활성

시료의 free radical 소거활성은 stable radical인 2,20-diphenylpicrylhydrazyl(DPPH)에 대한 환원력을 측정된 것으로 99% 메탄올에 각 시료를 녹여 농도별로 희석한 희석액 800 µL와 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH용액 200 µL를 가하여 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(27). 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC<sub>50</sub>값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 BHA를 사용하였다.

### ABTS radical 소거활성

2,2'-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS) radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolorization assay법(28)에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 1:1로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS radical을 형성시키고 732 nm에서 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)로 희석하여 사용하였다. 희석된 시료 990 µL에 ABTS radical 10 µL를 넣고 1분 동안 방치한 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC<sub>50</sub>값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 Trolox를 사용하였다.

### 통계처리 방법

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS(Version 18.0, Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 이용하여 처리하였다. 각 측정치의 평균과 표준편차를 구하고, 그룹간 비교를 위하여 one-way ANOVA와 Student's t-test를 실시하였으며, 통계적 유의수준은 α=0.05로 설정하였다.

**Table 1. Extraction yields of ginger ethanol extract and its various fractions**

Sample	Yields (%) <sup>*</sup>
EtOH	2.67
n-Hexane	0.04
CHCl <sub>3</sub>	0.10
EtOAc	0.02
BuOH	0.83
H <sub>2</sub> O	0.17
Total	3.83

<sup>\*</sup>Percentage of dried weight from each fraction to initial sample weight

**Table 2. Extraction yields of SFE oil and Marc EtOHs from ginger**

Temperature (°C)	Pressure (bar)	Yields (%)	
		SFE Oil	Marc EtOH
35	100	1.9	16
	200	2.1	10
	300	2.4	10
	400	2.7	10
45	100	1.5	12
	200	2.4	10
	300	2.7	8
	400	2.8	10
55	100	1.1	8
	200	2.4	10
	300	2.9	8
	400	3.0	6

### 결과 및 고찰

#### 생강 에탄올 추출물의 계통적 분획 및 초임계 추출물의 수율

생강 에탄올 추출물과 극성이 다른 용매인 n-hexane, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc 및 BuOH로 순차 분획의 수율은 최초 생강 원물에 대한 추출 수율을 계산하였다. Table 1에 나타난 것과 같이, 3.2 kg의 건 생강을 에탄올 추출 한 경우, 2.67%(85.32 g)의 수율을 나타내었으며, 분획층에서는 BuOH층 0.83%(26.40 g), H<sub>2</sub>O층 0.17%(5.43 g), CHCl<sub>3</sub>층 0.10%(3.32 g), n-hexane층 0.04%(1.25 g), EtOAc층 0.02%(0.50 g)의 순으로 BuOH층에서 가장 높게 나타났다. 또한 생강 초임계 추출을 위한 최적의 조건을 검토하기 위하여 35, 45, 55°C의 온도와 100, 200, 300, 400 bar의 압력 조건에서 초임계 추출한 결과, 초임계 오일과 박 에탄올 추출물(Supercritical Fluid Extraction oil: SFE oil, EtOH extract of SFE marc: Marc EtOH)의 수율은 SFE oil에서는 각각의 온도에서 압력이 높아질수록 수율이 증가하였으며 같은 압력에서 비교 할 때는 온도의 영향은 뚜렷하게 나타나지 않았다. Marc EtOH에서는 SFE oil에서와 같이 온도의 영향을 받지 않고 압력이 낮아질수록 수율이 증가하는 경향을 보였다(Table 2).

#### 생강 추출물 및 분획의 유용성분 함량

생강의 유용성분으로 알려진 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, 6-shogaol 및 색소 성분인 curcumin의 분획에 따른 함유량을 검토하기 위하여, EtOH 추출물과 그 분획인 n-hexane, CHCl<sub>3</sub>,

**Table 3. Content of ginger compounds in extract and its fractions**

Sample	Content (%)				
	6-gingerol	curcumin	6-shogaol	8-gingerol	10-gingerol
EtOH	1.67	0.15	0.12	0.3	0.19
n-Hexane	24.97	0.9	3.54	6.23	4.76
CHCl <sub>3</sub>	3.74	1.49	0.14	0.37	0.23
EtOAc	0.46	N.D. <sup>1)</sup>	0.02	N.D.	N.D.
BuOH	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
H <sub>2</sub> O	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

<sup>1)</sup>N.D.: not detected

**Table 4. Content of total polyphenols and flavonoids in ethanol extract and its fractions from ginger**

Sample	Total polyphenols <sup>1)</sup> (µg/mg)	Total flavonoids <sup>2)</sup> (µg/mg)
EtOH	58.16±13.84 <sup>3)</sup>	1.76±0.97
n-Hexane	228.87±34.19	T <sup>4)</sup>
CHCl <sub>3</sub>	49.97±3.68	T
EtOAc	23.10±0.94	T
BuOH	8.34±1.53	T
H <sub>2</sub> O	40.46±5.54	T

<sup>1)</sup>Micrograms of total polyphenol content/mg plants based on tannic acid as standard.

<sup>2)</sup>Micrograms of total flavonoid content/mg plants based on quercetin as standard.

<sup>3)</sup>Each value is mean±SD (n≥3).

<sup>4)</sup>T: trace amount

EtOAc, BuOH 및 H<sub>2</sub>O층을 HPLC로 분석하여 추출물 또는 분획 내에서의 총 중량에 대한 비율로 표시하였다. 그 결과, n-hexane 층에서 높은 함량의 gingerol과 shogaol을 확인하였다. 특히, 6-gingerol이 n-hexane층에 24.9%로 가장 높은 함량을 나타냈다. 이는 생강의 SFE oil에 6-gingerol이 고농도로 함유되어 있음을 시사한다. SFE oil 분석 결과에 의하면 분획 결과와 같이 6-gingerol의 함량이 가장 높았으며, 온도와 압력에 따른 추출 조건에 따라 11-17%의 함량을 나타냈다(Data not shown). 또한 생강의 색소 성분으로 알려진 curcumin은 CHCl<sub>3</sub>층에 가장 많이 함유되어 있는 것을 알 수 있었다(Table 3). Jeong 등(29)은 HPLC에 의한 강황의 curcumin 함량 분석 시 초임계 추출물은 1.89%, 에탄올 추출물은 2.55%, 열수추출물은 0.004%로 보고하였다. 이 결과와 비교하면 생강 SFE oil의 curcumin 함량과 비슷한 결과를 볼 수 있었다.

#### 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식품내의 지질이나 체내 생체막에 존재하는 지질은 활성산소의 존재 하에 유리기와 연쇄반응을 일으켜 산화되어 식품의 품질변화 및 생체노화의 원인이 되며(30), 이러한 산화반응을 방지하기 위한 물질로 페놀성 화합물이 널리 이용되고 있어(31,32) 추출물 및 분획에 함유된 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다. Table 4와 같이 생강 EtOH 추출물 및 분획의 폴리페놀, 플라보노이드 함량 측정 결과는 폴리페놀 함량은 EtOH 추출물이 58.16 µg/mg으로 나타났으며 분획에서는 n-hexane층에서 228.87 µg/mg으로 가장 높은 폴리페놀 함량을 보였다. 플라보노이드 함량은 EtOH 추출물에서 1.76 µg/mg으로 나타났으며 나머지 분획에서는 극히 미량 존재하였다. 반면, Marc EtOH의 추출조건에 따른 폴리페놀,

**Table 5. Content of total polyphenols and flavonoids in Marc EtOHs from ginger**

Temperature (°C)	Pressure (bar)	Total polyphenols <sup>1)</sup> (µg/mg)	Total flavonoids <sup>2)</sup> (µg/mg)
35	100	48.59±14.12 <sup>3)</sup>	7.54±1.49
	200	45.26±3.39	6.71±1.17
	300	46.04±1.85	7.19±0.18
	400	45.64±1.88	7.62±1.09
45	100	67.24±2.30	6.13±0.31
	200	51.32±5.68 <sup>a</sup>	6.45±1.34
	300	49.09±3.64 <sup>a</sup>	8.90±1.37 <sup>a</sup>
	400	47.17±11.72 <sup>a</sup>	7.69±0.07 <sup>a</sup>
55	100	84.84±2.77 <sup>c</sup>	6.53±0.34
	200	47.44±1.98 <sup>b</sup>	7.15±1.42
	300	45.59±6.24 <sup>b</sup>	7.14±0.06 <sup>b</sup>
	400	42.66±5.04 <sup>b</sup>	7.96±1.27

<sup>1)</sup>Micrograms of total polyphenol content/mg plants based on tannic acid as standard.

<sup>2)</sup>Micrograms of total flavonoid content/mg plants based on quercetin as standard.

<sup>3)</sup>Each value is mean±SD (n≥3).

<sup>a</sup>p<0.05 compare to 45°C 100 bar

<sup>b</sup>p<0.05 compare to 55°C 100 bar

<sup>c</sup>p<0.05 (55°C vs. 35°C, 45°C at 100 bar)

플라보노이드 함량 측정 결과는 Table 5와 같다. 전체 그룹 간의 유의적인 차이는 없었으며, 폴리페놀 함량에 대한 온도별 압력의 영향을 비교한 결과, 45°C와 55°C에서 각각 100 bar에서의 함량과 비교 시에만 유의적으로 감소하였다. 플라보노이드도 같은 경향을 나타냈으며, 압력 증가와 비례하지는 않았다. 또한, 같은 압력에서 온도의 영향을 비교한 결과, 폴리페놀 함량은 100 bar의 조건에서만 온도 상승과 비례하여 유의적으로 증가하여, 35, 45 및 55°C에서 각각 48.59, 67.24, 84.84 µg/mg으로 나타났다. 이 결과로부터 생강 박의 경우, 폴리페놀 성분은 압력이 낮고 온도가 높을수록 효과적으로 용출되는 것을 알 수 있다. 이는 생강 SFE oil 추출 시 오일에 함유되어 있는 폴리페놀 성분이 낮은 압력에서 충분히 용출되지 않은 것이라고 볼 수 있으며, SFE oil의 추출 수율이 55°C 100 bar에서 가장 낮은 것과 관계가 있을 것으로 생각된다. 또한, Marc EtOH의 플라보노이드 함량은 조 추출물 및 분획에 비교하여 생강 박에서 조금 높게 나타나 오일 추출 후에 플라보노이드 추출이 용이해 졌음을 알 수 있으나, 추출 조건에 따른 유의적인 차이는 없었다.

Cha 등(33)은 에탄올로 추출한 oregano, sage, pepper의 폴리페놀 함량을 측정하여 각각 32.1±0.8, 31.4±0.4, 16.7±0.5 µg/mg으로 보고하였으며, Kim 등(34)은 홍화씨, 순 및 꽃의 폴리페놀 함량이 각각 22.6, 7.5, 37.9 µg/mg이라고 보고하였다. 따라서 이 결과와 비교했을 때 본 연구에 사용된 생강 EtOH 추출물과 Marc EtOH의 폴리페놀 함량이 매우 높음을 알 수 있다.

#### DPPH radical 소거활성

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데, 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다(35).

Table 6에서와 같이 생강 EtOH 추출물은 EtOAc층을 제외한 다른 분획에 비해 높은 소거활성을 보였다. Ghasemzadeh 등(36)

**Table 6. Scavenging effects of ethanol extract and its fractions from ginger against DPPH and ABTS radicals**

Sample	DPPH RC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> (µg/mL)	ABTS RC <sub>50</sub> <sup>2)</sup> (µg/mL)
EtOH	43.95±3.07 <sup>3)</sup>	74.16±3.25
n-Hexane	89.08±14.99	10.82±6.94
CHCl <sub>3</sub>	896.85±70.40	86.28±3.06
EtOAc	10.99±4.89	145.92±31.59
BuOH	190.79±27.04	79.71±5.05
H <sub>2</sub> O	54.80±4.23	118.70±0.86
BHA	4.23±0.06	N.A.
Trolox	N.A.	7.09±0.21

<sup>1)</sup>Concentration required for 50% reduction of DPPH at 30 min after starting the reaction

<sup>2)</sup>Concentration required for 50% reduction of ABTS at 1 min after starting the reaction

<sup>3)</sup>Each value is mean±SD (n>3); N.A., not applicable

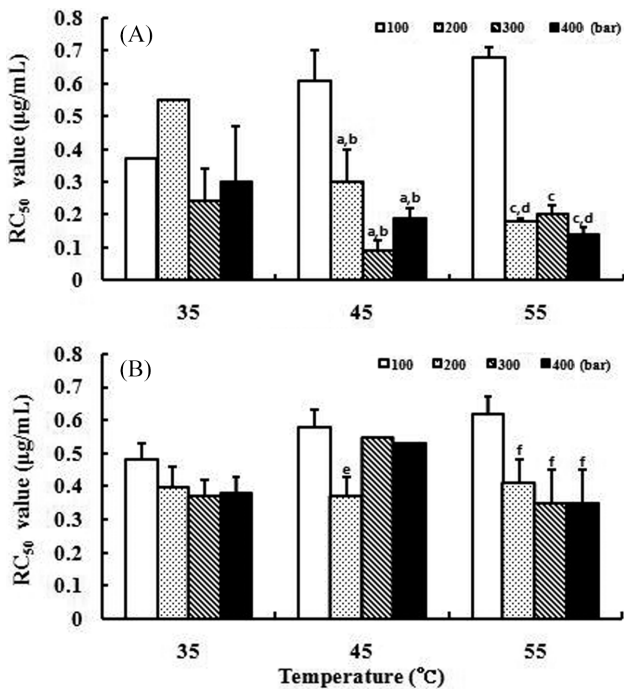
은 생강을 메탄올로 추출하여 DPPH radical 소거활성을 측정하고 결과 에탄올 추출물이 메탄올 추출물보다 항산화능이 높은 것을 보고했다. 그러나 control인 메탄올을 100%로 할 때, DPPH radical을 50% 소거하는 농도 RC<sub>50</sub>은 EtOAc층이 10.99±4.89 µg/mL로 EtOH 추출물 48.89±8.31 µg/mL에 비해 높은 소거능을 보였다.

한편, SFE oil의 DPPH radical 소거활성은 온도별 압력의 영향을 비교한 결과, 35°C에서는 유의적인 차이가 없었으며, 45°C와 55°C에서 압력 증가에 따른 소거활성의 유의적인 증가가 나타났다. 한편, 같은 압력에서 온도 증가에 따른 활성의 유의적인 증가는 나타나지 않았다. SFE oil의 RC<sub>50</sub> 값을 비교했을 때, 45°C, 300 bar에서 0.09±0.03 µg/mL로 다른 온도와 압력에 비해 효과가 가장 좋았다. 이는 45°C, 300 bar가 유용성분을 풍부하게 함유한 생강오일을 얻는 가장 적절한 온도와 압력이라고 생각된다(Fig. 1). Marc EtOH의 DPPH radical 소거능도 45°C와 55°C에서 각각의 압력의 영향을 본 결과, 100 bar에서의 소거능과 비교하여 유의적으로 증가하였다. 한편, 100 bar 35, 45 및 55°C에서의 RC<sub>50</sub> 값이 각각 55.20±22.11, 30.67±6.13, 22.87±3.02 µg/mL로 나타났으나 같은 압력에서 온도 증가에 따른 활성의 유의적인 증가는 나타나지 않았다. Li 등(37)은 해양균류의 라디칼 소거능을 조사하여 RC<sub>50</sub> 값을 29-200 µg/mL로 보고하였으며, 항산화 성분 함량과 radical 소거활성의 관계를 보면 폴리페놀 함량에 비례하여 radical 소거활성이 증가하는 것을 볼 수 있다. 이 중 Marc EtOH 55°C, 100 bar에서 가장 높은 소거활성을 보여 폴리페놀 함량과 밀접한 관련이 있음을 나타내었다(Fig. 2).

#### ABTS radical 소거활성

ABTS와 potassium persulfate를 암소에 방치하면 ABTS anion이 생성되는데 추출물의 항산화력에 의해 ABTS anion이 소거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색된다. 이와 같이 ABTS anion 탈색반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타내어 ABTS radical의 소거활성을 측정하는 방법으로 ABTS anion 탈색반응이 1분 안에 종료되므로 단시간에 측정할 수 있고, 소수성과 친수성 모두에 적용 가능하다(34).

ABTS radical 소거활성을 비교 측정한 결과, 생강 EtOH 추출물과 분획 중 n-hexane층이 10.82±6.94 µg/mL로 가장 높은 소거활성을 나타내어 대조군인 Trolox(RC<sub>50</sub>=7.09±0.21 µg/mL)보다 뛰어난 활성을 보였다(Table 6). 생강 SFE oil은 55°C에서 100 bar와 비교하여 200, 300, 400 bar에서 추출한 경우 ABTS 라디칼



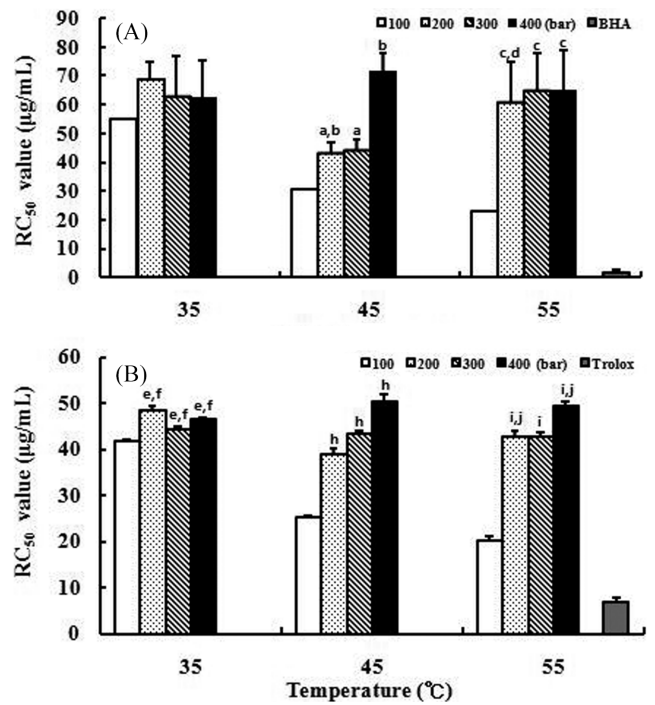
**Fig. 1.** RC<sub>50</sub> values of SFE oils from ginger against DPPH (A) and ABTS (B) radicals. SFE oils were obtained as described in ‘Materials and Methods’. RC<sub>50</sub> values are the concentrations required for 50% reduction of DPPH or ABTS radicals. a, e, *p*<0.05 (200, 300, 400 bar vs. 100 bar at 45°C); b, *p*<0.05 (200 vs. 100 bar, 300 vs. 200 bar, 400 vs. 300 bar at 45°C); c, f, *p*<0.05 (200, 300, 400 bar vs. 100 bar at 55°C); d, *p*<0.05 (200 vs. 100 bar, 300 vs. 200 bar, 400 vs. 300 bar at 55°C).

소거능이 유의적으로 높았으나, 같은 압력에서 온도 증가에 따른 활성의 유의적인 증가는 나타나지 않았다. Trolox(RC<sub>50</sub>=6.12±2.06 µg/mL)와 비교해 보면 SFE oil에서 10-18배 낮은 RC<sub>50</sub> 값을 나타내 대조군인 Trolox에 비해 우수한 항산화능을 갖는 것을 알 수 있다(Fig. 1). 생강 Marc EtOH에서는 압력의 증가에 비례하여 소거능이 유의적으로 감소하였으며, 100 bar의 조건에서는 온도 상승과도 비례하여 소거능이 증가하였다(Fig. 2). 특히 55°C 100 bar에서 가장 높은 소거능을 나타내어, 50°C 100 bar에서 오일 추출 후 남은 생강 박이 DPPH와 ABTS의 소거에 효과적인 것을 알 수 있었다. 이는 Table 5의 폴리페놀 함량이 55°C 100 bar에서 가장 높은 것과 일치하는 결과로, 생강 박에 풍부하게 함유된 폴리페놀 성분이 두 가지 형태의 라디칼에 대하여 우수한 소거활성을 나타내는 것을 알 수 있다. 이러한 결과로 비추어 볼 때 생강 초임계 추출물이 용매 추출물이나 분획보다 비교적 안정적인 항산화 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

**요 약**

본 실험에서는 생강 에탄올 추출물의 극성에 따른 용매 분획을 실시하여 생강의 유용성분을 분석하였으며, 초임계 추출 장치를 이용하여 oil을 추출한 후 남은 박을 다시 에탄올로 추출하여 각각의 총 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량과 DPPH, ABTS radical 소거활성을 측정하여 항산화 활성을 비교 검색하였다.

알려진 생강의 유용성분 중 6-gingerol의 함량이 가장 높았으며, n-hexane층에 약 25% 존재하여 6-shogaol 보다 7배 이상 높



**Fig. 2.** RC<sub>50</sub> values of Marc EtOHs from ginger against DPPH (A) and ABTS (B) radicals. Marc EtOHs were obtained as described in ‘Materials and Methods’. RC<sub>50</sub> values are the concentrations required for 50% reduction of DPPH or ABTS radicals. a, g, *p* < 0.05 (200, 300, 400 bar vs. 100 bar at 45°C); b, h, *p*<0.05 (200 vs. 100 bar, 300 vs. 200 bar, 400 vs. 300 bar at 45°C); c, i, *p*<0.05 (200, 300, 400 bar vs. 100 bar at 55°C); d, j, *p*<0.05 (200 vs. 100 bar, 300 vs. 200 bar, 400 vs. 300 bar at 55°C); e, *p*<0.05 (200, 300, 400 bar vs. 100 bar at 35°C); f, *p*<0.05 (200 vs. 100 bar, 300 vs. 200 bar, 400 vs. 300 bar at 35°C).

은 것을 확인했다. 항산화 성분 측정 결과, 생강 박 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량이 생강 에탄올 추출물보다 높은 경향을 나타내어 생강의 오일 추출 후에 플라보노이드 성분의 용출이 용이해 졌음을 알 수 있었다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거능은 초임계 오일에서 높았으며 특히, 45°C 이상의 온도 및 200 bar 이상의 조건에서 추출한 오일에서 우수한 소거활성을 나타냈다. 또한, 오일뿐 아니라 박 에탄올 추출물은 온도와 관계없이 압력 100 bar에서 항산화능이 우수하였으며 특히, 55°C, 100 bar에서 20.17±0.83 µg/mL로 강한 소거활성을 확인할 수 있었다. 이는 초임계 오일은 고온, 고압에서 추출 시 많은 양의 항산화 성분이 용출되며, 박 추출물의 경우에는 낮은 압력에서 얻은 박에 많은 양의 항산화 성분이 존재하는 것을 알 수 있다.

이러한 결과로부터, 초임계 추출법이 항산화 성분 추출에 보다 효율적인 방법이며, 생강 특유의 향과 고농도의 6-gingerol을 함유하는 초임계 오일뿐만 아니라 향 성분이 제거된 박 추출물도 높은 항산화 효과를 나타내는 기능성 천연 소재로의 활용이 가능할 것으로 사료되며 향후 다양한 산업적 활용이 기대된다.

**감사의 글**

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업의 지원과 지식경제부 지정 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

## 문헌

1. Chaovanalikit A, Wrolstad RE. Total anthocyanins and total phenolics of fresh and processed cherries and their antioxidant properties. *J. Food Sci.* 69: 67-72 (2004)
2. Choi OK, Kim YS, Cho GS, Sung CK. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 15: 300-306 (2002)
3. Maveety DJ. Inhibiting rancidity in oils. U.S. patent. 2: 706 (1938)
4. Dubois CW, Trsler DK. Seasonings, their effects on maintenance of quality in storage of frozen ground pork and beef. *Proc. Inst. Food Tech.* 202-207 (1943)
5. Kihara Y, Inoue T. Antioxidant activity of spice powders in foods. *Nippon shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 9: 290 (1962)
6. Chipault JR, Mizuno GR, Lundberg WO. The antioxidant properties of spices in foods. *Food Technol.-Chicago* 10: 209-211 (1956)
7. Cort WM. Hemoglobin peroxidation test screens antioxidant. *Food Technol.-Chicago* 28: 60-66 (1974)
8. Yang KS, Yu JH, Hwan JI, Yang R. Synergistic effect of citric acid on antioxidant property of red pepper. *Korean J. Food Sci. Technol.* 6: 193-198 (1974)
9. Chun HJ, Lee SW. Studies on Antioxidative action of garlic components isolated from garlic. *J. Korean Home Economics Association.* 24: 43-51 (1986)
10. Teris A, Van Beek, Maarten AP, Gerrit PL, Hoang VP, Bui TY. Investigation of the essential oil of Vietnamese ginger. *Phytochemistry* 26: 3005-3010 (1987)
11. Lee YN. *Flora of Korea.* Kyohaksa. Seoul, Korea. pp. 1107-1109 (1996)
12. Lee TB. *Illustrated flora of Korea.* Hyangmoon Publ. Co., Seoul, Korea. p. 990 (1979)
13. Leung AY. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients,* John Willey & Sons, Inc., New York, NY, USA. 241: 166-167 (1980)
14. Sheo HJ. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 94-99 (1999)
15. Thomson M, Al-Qattan KK, Al-Sawan SM, Alnageeb MA, Khan I, Ali M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid.* 67: 475-478 (2002)
16. Balkwill FR, Naylor MS, Malik S. Tumor necrosis factor as an anticancer agent. *Eur. J. Cancer.* 26: 641-644 (1990)
17. Cooksley VG. *Aromatherapy: a lifetime guide to healing with essential oils.* Englewood Cliffs, NJ, Prentice Hall, UK. pp. 349-350 (1996)
18. Chang WS, Chang YH, Lu FJ, Chiang HC. Inhibitory effects of phenolics on xanthine. *Anticancer Res.* 14: 501-506 (1994)
19. Lee LK, Ahn SY. The antioxidant activity of gingerol. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 17: 55-59 (1985)
20. Zakaria-Runkat F, Nurrahman, Prangdimurti E, Tejasari. Antioxidant and immunoenhancement activities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts and compounds *in vitro* and *in vivo* mouse and human system. *Nutraceuticals Foods* 8: 96-104 (2003)
21. McCartney FN, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, Nathan CF, Wahl SM. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J. Exp. Med.* 178: 749-754 (1993)
22. McHugh MA, KruKonis VJ. *Supercritical fluid extraction: principle and practice.* Butterworths, Stoneham, MA, USA. p. 608 (1986)
23. Cho YK, Kim HS, Kim JW, Lee SY, Kim WS, Ryu JH, Lim GB. Extraction of Glabridin from licorice using supercritical carbon dioxide. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 19: 427-432 (2004)
24. Kim HS, Kim BY, Lee SY, Kim ES, Lee EK, Ryu JH, Lim GB. Extraction of glycyrrhizic acid from licorice using supercritical carbon dioxide/aqueous ethanol. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 18: 347-351 (2003)
25. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phospho-molybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-249 (1912)
26. Nieva MM, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of argentina. *J. Ethnopharmacol.* 71: 109-114 (2000)
27. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. Components and their antioxidative of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujube* var. *inermis* Rehder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 38: 128-134 (2006)
28. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Yang M, Riceevans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
29. Jeong SH, Chang KS, Kim YJ. Optimization of curcumin extraction from Turmeric (*Curcuma longa* L.) using supercritical fluid CO<sub>2</sub>. *Food Eng. Progress* 8: 47-52 (2004)
30. Choi HS. Peroxide and nutrition of lipids. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 23: 867-878 (1994)
31. Pratt DE. Natural antioxidant from plant material. pp. 54-71 In: *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health.* American Chemical Society, Washington, DC, USA (1992)
32. Higasi GS. Appraisal of antioxidative activity from vegetables. *Jpn. J. Food Ind.* 57: 56-64 (2000)
33. Cha WS, Kim JH, Lee KH, Kwon HJ, Yoon SJ, Chun SS, Choi UK, Cho YJ. Antioxidative and inhibition activities on *Helicobacter pylori* of spice extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 315-320 (2006)
34. Kim HJ, Jun BS, Kim S K, Cha JY, Cho YS. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 1217-1222 (1998)
35. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 233-240 (2005)
36. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. Antioxidant activities total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 15: 4324-4333 (2010)
37. Li XF, Li Y, Nam KW, Kim DS, Chio HD, Son BW. Screening of radical scavenging activity from the marine-derived fungus. *Korean J. Pharmacogn.* 33: 219-223 (2002)