KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL. Vol. 49, No. 5, pp. 480~485 (2017)
https://doi.org/10.9721/KJFST.2017.49.5.480

KOREAN JOURNAL OF
한국식품과학회지
FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY
©The Korean Society of Food Science and Technology

샐러리 종자 에탄올 추출물의 산화방지 활성 및 수중유적형 유화계에서의 산화안정성

김민아 · 한창희 · 이재철 · 김미자*
강원대학교 보건과학대학 식품영양학과

Antioxidant properties and oxidative stability of celery seeds ethanol extract using *in vitro* assays and oil-in-water emulsion

Min-Ah Kim, Chang Hee Han, Jae-Cheol Lee, and Mi-Ja Kim*
Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Kangwon National University

Abstract This study was conducted to examine the antioxidant activity of 80% ethanol extract of celery seeds and to verify the effectiveness of extracts as a natural antioxidant to improve the stability of oil-in-water emulsions. The radical scavenging activity of 80% ethanol extract of celery seeds was significantly increased at 0.125, 0.25, and 0.5 mg/mL (p<0.05). Additionally, the total phenolic content and FRAP value were equal to 8.2±2.3 mol tannic acid equivalent/g extract and 195.0±12.6 mol ascorbic acid equivalent/g extract, respectively. The headspace oxygen content was significantly higher in the group treated with 80% ethanol extract of celery seeds than in the control group (p<0.05). The amounts of lipid hydroperoxide and conjugated diene were significantly reduced compared to the control group (p<0.05). The results showed that the extract of celery seeds had excellent antioxidant ability and it could be used as a natural antioxidant owing to the increased oxidative stability of the emulsified product.

Keywords: antioxidant activity, ethanol extract, celery seeds, oil-in-water emulsion

서 론

향신료는 기본적으로 모든 음식의 맛과 향을 증진시켜주고 좋지 않는 맛 또한 가려 주는 역할을 하는 식품소재로써 열매, 종자, 나무껍질, 꽃봉오리 등의 형태로 주로 존재하며 인도, 중동, 아프리카의 요리에 주로 사용되기도 한다(1,2). 또한 향신료에는 다양한 파이토케미컬을 함유하고 있어 생리활성이 우수한 것으로 알려져 있다(1). 이러한 향신료 중에 샐러리(학명: *Apium graveolens*) 종자는 샐러리와 동일한 향을 가지고 있으나 더 쓰고 진하다. 주로 토마토 주스, 스테이크 등에 넣어 먹거나 서양식 육수를 우릴 때 샐러리 대신에 쓰기도 하며 카레가루에 첨가되는 향신료 중에 하나이기도 하다. 샐러드 종자는 많은 생물학적 중요한 물질들이 들어있는데 리모넨(limonene) (60-70%), 베타셀리넨(β-selinene) (5-10%), 프탈라이드(phthalides) (15%)와 같은 terpenes을 포함하는 휘발성 유지가 1.5-3.0% 존재하고, 쿠마린(coumarins), 푸라노쿠마린(furanocoumarins), 다이하이드푸란쿠마린(dihydrofurancoumarins), 푸라노쿠마린 글루코사이드(furanocoumarin glucosides), 아피인(apiin), 아이소퀘세틴(isoquercitrin) 등의 플라보노이드(flavonoids)가 풍부하며, 페놀화합물(phenolic compounds)인 클로로젠산(chlorogenic acid)과 카페인산(caffeic acid)이 존재하며 알칼로이드 등이 풍부한 것으로 알려졌다(3). 이러한 성분 중에서 샐러리 종자 오일의 향기는 프탈라이드(phthalide), 3-n-butylphthalide와 sedanenolide형태로 존재한다. 이러한 향기성분들이 암을 유도한 실험동물에서 glutathione S-transferase을 상승시켜 면역력을 좋게 해주어서 항암효과를 보였다는 연구보고가 있다(4). 뿐만 아니라, 샐러리 물추출물 섭취에 의해 고지혈증 동물 모델에서 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤이 유의적으로 감소하였다는 연구보고가 있다(5). 샐러리 종자 추출물 연구 중 산화된 LDL-콜레스테롤로 유도된 대식세포에서 대표적인 염증 cytokine인 TNF-α와 IL-6를 각각 12-27%와 5-15% 감소시켜 항염증 효능이 알려져 있다(6). 또한 중추신경에도 영향을 미쳐 샐러리 휘발성 유지에 있는 성분 중 3-n-butylphthalide와 sedanenolide가 항경련 효능(3)을, 알칼로이드에 의한 항우울의 효능(7)을 보이는 것으로 연구되었다. 샐러리 종자 오일은 *Histoplasma capsulatum*와 *Candida albicans* 같은 곰팡이균을 제거하는 능력이 있어 항균작용이 강력한 것으로 나타났다(8). 뿐만 아니라 임상연구에서 샐러리 종자 추출물 75 mg (85% 3-n-butylphthalide)을 캡슐에 넣어서 6주간 공급하였더니 혈관의 혈압이 수축기 혈압은 8.2 mmHg 감소, 이완기 혈압은 8.5 mmHg 감소하여 유의적인 혈압 하강 효과를 보이기도 하였다(9). 이러한 여러 생리활성이 탁월한 샐러드 종자 추출물을 활용하여 지방산화가 빈번하게 일어나는 유지식품 중 유화관련 제품의 천연 산화방지제로서의 유효성을 본 연구에서 검증하여 식품산업에 활용할 수 있는 방법을 모색하려 한다. 유지산화는 유지에 존재하는 불포화지방산의 자동산화에 의

*Corresponding author: Mi-Ja Kim, Department of Food and Nutrition, College of Health Science, Kangwon National University, Samcheok, Gangwon 25949, Korea
Tel: +82-33-540-3313
Fax: +82-33-540-3319
E-mail: mijakim@kangwon.ac.kr
Received May 31, 2017; revised July 7, 2017;
accepted July 11, 2017

해 이루어지며 유지의 변질 중 가장 일반적으로 일어나는 현상으로 유지식품 중에서도 유화관련 제품의 경우 유화가 형성되는 표면에서 산화가 많이 일어난다고 알려져 있다. 따라서 이러한 유화제품 또한 저장, 가공 및 제품화 시에 항산화제 첨가가 중요하다고 볼 수 있다. 일반적으로 유지식품에서 사용되는 항산화제는 산화에 의해 일어나는 식품의 냄새, 풍미 변화, 유지 산패, 변색을 지연시킴으로써 식품을 보존하기 위해 사용된다. 현재 식용으로 사용하고 있는 천연 항산화제로 식품의 지질과산화를 억제하기 위해 내열성이 강한 토코페롤(tocopherol)류를, 활성산소를 소거할 수 있는 능력을 가지고 있는 베타카로텐(β-carotene) 등의 카로테노이드(carotenoids)를 주요한 자연 항산화제로 사용하고 있으며, 안정성과 건강에 대한 관심이 대두되면서 자연 식품으로부터 항산화 효과가 있는 물질을 분리하여 이용하려는 소재에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(10,11). 따라서 본 연구는 생리활성이 우수한 샐러리 종자 에탄올 추출물의 항산화능을 검증하여 산화안정성을 중시하는 식품에 천연산화안정제로서 사용가능한지를 타진하려고 한다. 이에 항산화능을 검증하기 위해서 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 양이온 소거능, 총 페놀 함량, ferric reducing antioxidant power (FRAP) 환원력을 측정하였고, 식품의 산화안정성을 검증하기 위해 수중유적형 유화액을 제조하여 헤드스페이스 산소(headspace oxygen) 측정, conjugated dienoic acid (CDA)가, 지방질 하이드로과산화물(lipid hydroperoxides) 농도를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물제조

샐러리 종자는 인도산으로, 오뚜기(Anyang, Korea)에서 제공받았다. 샐러리 종자 100 g당 6배량의 80% 에탄올로 진탕기(RS-1, JEIO TECH, Daejeon, Korea)에 274 rpm 속도로 1시간 정도 진탕하였다. 추출액은 거름종이(Whatman No. 4, Maidstone, England)로 여과하였다. 여액을 60°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator (EYELA, Tokyo, Japan)로 용매를 제거하고 감압, 농축한 후 동결건조하여 4°C 이하로 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거능

메탄올(Methanol, Daejung, Siheung, Korea) 100%에 0.1 mM DPPH (Sigma, St. Louis, MO, USA) 용액을 제조하여 0.75 mL에 각각 0.125, 0.25, 0.5 mg/mL의 추출 시료용액 0.25 mL을 섞어 10초간 혼합하여 30분간 암소에서 반응시켰다. 30분 후에 UV-VIS 분광광도계(Jenesis 10UV, Thermo, Waltham, MA, USA)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다(12). 대조군은 추출 시료용액과 동량의 메탄올 용액을 처리하여 시료와 같은 과정을 실험하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} \ \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c: 대조군의 흡광도, A_s: 시료의 흡광도

2.3 ABTS 양이온 라디칼 소거능

7 mM ABTS (Sigma) 수용액과 2.45 mM 과황산포타슘(Potassium persulfate, Sigma)를 잘 섞어서 상온 암실에서 12시간 방치하여 ABTS 양이온 라디칼을 형성한 후, ABTS 양이온 라디칼을 UV-VIS 분광광도계 734 nm에서 흡광도를 측정하여 0.700±0.050이 되도록 나오도록 완충용액으로 희석하여 맞추어진 ABTS 용액 1.9 mL과 각각 0.125, 0.25, 0.5 mg/mL의 추출 시료용액 0.1 mL을 혼합하여 6분간 암실에서 반응시켰다(13). 반응 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 추출 시료용액과 동량의 메탄올 용액을 처리하여 시료와 같은 과정을 실험하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} \ \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

A_c: 대조군의 흡광도, A_s: 시료의 흡광도

총 페놀 함량

시료의 총 페놀 함량은 Folin-Denis 비색법(14)으로 정량하였다. 추출 시료 용액 0.25 mL과 증류수 4 mL을 섞어 증류수와 1:1로 희석한 Folin-Ciocalteau's 시약(Sigma) 0.25 mL 첨가하여 30초간 혼합 후 5분간 반응시키고 포화된 sodium carbonate (Sigma) 0.5 mL을 첨가하여 상온에서 30분간 정치하였다. 상등액을 UV-VIS 분광광도계(Thermo)를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 타닌산(Sigma)를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 검량곡선으로부터 시료 중의 총 페놀 함량을 구하였다.

FRAP 환원력

FRAP 환원력 분석은 0.3 M 아세트산소듐완충용액(pH 3.6) (Sigma)와 40 mM HCl (Daejung)로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution (Sigma), 20 mM $FeCl_3$ solution (Sigma)을 사용하여, 각각의 시약을 10:1:1의 비율로 혼합하여 37°C에서 10-15분간 반응시켜 FRAP 시약을 얻었다. FRAP시약 1.5 mL을 추출 시료 0.05 mL에 혼합하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 UV-VIS 분광광도계(Thermo) 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 아스코브산(Sigma)를 사용하였다(15).

수중유적형 유화액 제조

수중유적형 유화액 (oil-in-water emulsion)은 Yi 등(16)의 연구를 변형하여 제조되었다. 유화액은 0.25% (w/w) Tween 20 (Sigma), 2.5% (w/w) 옥수수유, 97.25% (w/w) deionized water을 혼합하여 블랜더 HB501 (Tepal, Rumilly, Haute-Savoie, France)을 사용하여 3분간 균질화 하였다. 균질화된 유화액은 NLM 100 NanoDisperser (Young Jin Co., Gunpo, Korea)을 사용하여 5000 psi로 세 차례 처리되어 추가적인 균질화 과정을 거쳤다. 수중유적형 유화액이 제조된 후 유화액에 예비실험을 통해 결정된 추출물 시료를 10 mg/mL 농도로 만들어서 유화액에 잘 분산될 수 있도록 시료를 여과하여 넣고 혼합하였으며 10-mL vial에 시료가 포함된 유화액을 2 mL씩 분주하여 1333 lux light intensity의 가시광선아래에서 2일, 3일, 4일 광산화를 유도하였다. 대조군은 추출물 시료가 첨가 되지 않은 시료로, 동일 방법으로 제조되었다.

헤드스페이스 산소 함량

Air-tight 시료의 헤드스페이스 산소는 Kim등(17)의 방법에 의해 분석되었다. 헤드스페이스 산소를 측정하기 위해 GC-TCD (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA)가 사용되었다. 시료로부터 air-tight syringe로 20 μL의 헤드스페이스 가스를 60/80 packed column (3.0 m×2 mm ID; Restek Ltd., Bellefonte, PA, USA)과 a thermal conductivity detector (TCD)가 장착되어 있는 Hewlett-Packard 7890 gas chromatograph에 주입하였다. 이동상인 헬륨 가스는 20 mL/min의 속도로 주입되었고, GC의 오븐, 인젝터, 검출기의 온도는 각각 60, 180, 180°C이었다.

CDA 가

CDA 가는 Mei 등(18)의 방법에 의해 실시하였다. 시료 120 μL와 methanol/1-butanol (2:1, v:v) 혼합액 2.7 mL와 10초 동안 3번 잘 섞어서 UV/VIS-분광광도계 233 nm에서 흡광도를 측정하였다.

지방질 하이드로과산화물 농도

수중유적형 유화액에서 지방질 하이드로과산화물 농도는 Kim 등(19)의 연구에 따라 이루어졌는데, 시료 0.2 mL과 isooctane/2-propanol (3:2, v:v)과 섞어 2,000×*g*로 원심분리하였다. 상층액 0.2 mL을 취하여 2.8 mL methanol/1-butanol (2:1, v:v)과 잘 섞고 30 L thiocyanate/Fe^{2+} solution과 혼합하여 상온에서 30분간 반응시켰다. 반응 후, UV/VIS-분광광도계(Thermo) 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 쿠멘 하이드로과산화물(cumene hydroperoxide) (Sigma)를 사용하였다.

휘발성 물질 추출 및 분리

휘발성 물질 추출 조건은 Yang 등(20)의 연구에 의해 solid phase microextraction (SPME)법을 이용하여 추출하였다. 헤드스페이스 내 휘발성 물질의 평형을 만들기 위해 시료병을 1시간 동안 상온 암소에 방치시켰다. 시료병을 30°C 항온수조에 넣고 SPME fiber manual holder를 삽입 한 후 fiber를 돌출 시켜 30분간 방치한 후, 불꽃이온화 검출기(flame ionization detector) (FID)가 설치된 GC (Hewlett-Packard 6890)를 이용하여 SPME fiber로부터 휘발성 물질을 분리하였다.

휘발성 물질의 분리 조건은 Yang 등(20)에 연구에서 사용된 조건을 본 연구에 적합하게 수정하여 사용하였다. SPME fiber는 65 μm polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB)를 사용하였다. 고정상은 HP-5 (30 m×0.32 m ID, 0.25 mm film) column을 사용하였다. GC 오븐의 온도 조건은 초기에는 40°C에서 2분간 방치 후 6°C/min의 속도로 160°C까지 증가 시켰고 10°C/min의 속도로 160°C에서 220°C까지 증가시켰다. 주입기(injector)와 검출기(detector)의 온도는 각각 250과 300°C이었고 운반가스(carrier gas)는 질소로서 flow rate는 1.0 mL/min이었다. Splitless mode를 이용하였고 SPME fiber는 주입기 내에서 2분간 방치하였다.

휘발성 물질 동정

휘발성 물질의 동정은 GC-MS (Agilent technology 5973, Palo alto, CA, USA)를 사용하였고, 추출조건은 GC-FID 조건과 동일하며, SPME fiber, column 및 오븐 온도 변환 조건 또한 동일하게 사용하였다(21). 이동상은 헬륨가스였으며 flow rate는 1.0 mL/min이었다. MS 분석 조건으로 70 eV와 220°C ion source 온도를 사용하였다. 각각의 휘발성분은 NIST 질량스펙트럼 라이브러리(Mass spectra library)와 표준물질들의 머무름시간(retention time)을 이용하여 동정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며 얻어진 결과는 SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)통계프로그램을 이용하여 평균±표준편차로, 시료간의 유의성 검정은 $p<0.05$수준에서 t-test 또는 ANOVA로 분석하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후검증 하였다.

Table 1. *In vitro* antioxidant properties of celery seeds extract

(Unit: %Inhibition)

Methods	Concentration of CSEE[1] (mg/mL)		
	0.125	0.25	0.5
DPPH	14.1±2.1[c2)]	29.1±1.4[b]	63.4±0.7[a]
ABTS	6.0±1.9[b]	10.9±0.4[b]	23.2±5.4[a]

[1)]CSEE: Celery seeds 80% ethanol extract

[2)]Different letters are significantly different at $p<0.05$ among different concentration of celery seeds 80% ethanol extract.

결과 및 고찰

샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 및 ABTS 양이온 라디칼 소거활성

샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 라디칼 소거활성에 관한 결과는 Table 1과 같다. DPPH 라디칼 소거활성의 경우 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물이 0.125 mg/mL 농도에서는 14.1±2.1%로, 0.25 mg/mL 농도에서는 29.1±1.4, 0.5 mg/mL 농도에서는 63.4±0.7% 라디칼 저해율을 나타내어서 농도 의존적으로 유의한 라디칼 소거활성을 보이는 것으로 나타났다($p<0.05$). 또한 ABTS 양이온 라디칼 소거활성의 경우 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물이 0.215 mg/mL 농도에서는 6.0±1.9%로, 0.25 mg/mL 농도에서는 10.9±0.4%, 0.5 mg/mL 농도에서는 23.2±5.4% 라디칼 저해율을 나타내어서 농도 의존적으로 유의한 라디칼 소거활성을 보이는 것으로 나타났다($p<0.05$). 이러한 향신료의 라디칼 소거활성에 대한 연구는 Kim 등(22) 연구에서도 후추, 겨자, 고추냉이, 계피, 정향 등의 5종의 향신료를 에탄올로 추출하여 DPPH 라디칼 소거활성을 관찰한 결과 농도가 증가함에 따라 각각의 향신료의 라디칼 소거활성이 유의적으로 증가함을 관찰할 수 있었고 이들 중에서도 정향>계피>겨자>후추>고추냉이의 순으로 라디칼 소거활성이 우수한 것으로 나타났다. 또한 추출 조건을 열수추출과 에탄올 추출을 하여 올스파이스, 육두구, 백후추, 오레가노, 사지의 DPPH 라디칼 소거활성을 비교한 결과 올스파이스, 백후추, 오레가노, 사지는 열수추출 조건에서, 육두구는 에탄올 추출 조건에서 강력한 라디칼 소거활성을 보였고, ABTS 양이온 라디칼 소거활성은 올스파이스와 오레가노 열수추출과 에탄올 추출 조건에서 95% 이상의 높은 항산화활성을 나타내어, 향신료들도 추출조건에 따라 추출되는 성분들이 달라지므로 라디칼 소거활성이 차이가 나는 것으로 보고하였다(23).

총 페놀 함량 및 FRAP 환원력

향신료의 일종인 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 총 페놀 함량과 FRAP 환원력은 Table 2에 나타난 바와 같이, 총 페놀 함량은 28.2±2.3 mol 타닌산 당량(tannic acid equivalent)/g extract이었고, FRAP 활성은 195.0±12.6 mol 아스코르브산 당량(ascorbic acid equivalent)/g extract로 나타났다. Jung 등(24)은 샐러리 잎을 여러 추출용매를 달리하여 추출한 후 추출용매에 따른 항산화능을 비교하였는데, 총 페놀함량의 경우는 메탄올 추출이 51.09 mg 갈산당량(gallic acid equivalents)/g extract, 물추출이 46.40 mg 갈산당량/g extract, ethyl acetate 추출이 22.70 mg 갈산당량/g

Table 2. Total polyphenol contents and FRAP value of celery seeds extract

	TPC[1)] (mol Tannic acid equivalent/g extract)	FRAP[2)] (mol Ascorbic acid equivalent/g extract)
CSEE[3)]	28.2±2.3	195.0±12.6

[1)]TPC: Total polyphenol contents, [2)]FRAP: Ferric reducing antioxidant power, [3)]CSEE: Celery seeds 80% ethanol extract

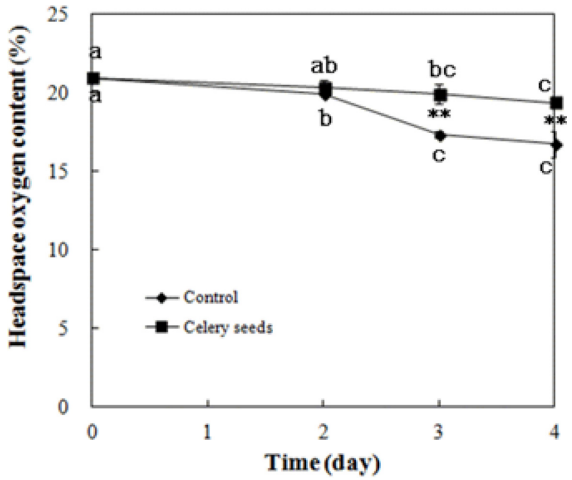

Fig. 1. Change of headspace oxygen content in oil-in-water emulsions with celery seeds extract under light for 2, 3, and 4 days. Different letters are significantly different at $p<0.05$ among different treatment day each group. ** are significantly different at $p<0.01$ between control and celery seeds 80% ethanol extract.

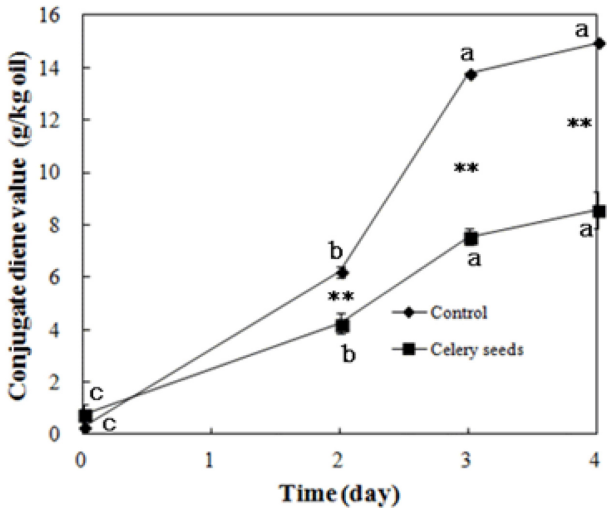

Fig. 2. Change of conjugated dienes in oil-in-water emulsions with celery seeds extract under light for 0, 2, 3, and 4 days. Different letters are significantly different at $p<0.05$ among different treatment day each group. ** are significantly different at $p<0.01$ between control and celery seeds 80% ethanol extract.

extract, butanol 추출이 19.43 mg 갈산당량/g extract로 나타나 극성용매에서 총 페놀 함량이 높은 것으로 나타났고, FRAP 환원력의 경우는 각각의 용매 추출물 250 g/mL 농도에서 메탄올 추출은 80.85%, 물 추출이 78.89%, ethyl acetate 추출이 67.25%, butanol 추출이 61.07%로 나타나 이 또한 총 페놀 함량의 결과와 유사한 결과를 보였다.

수중유적형 유화계에서의 헤드스페이스 산소 함량 분석

샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 수중유적형 유화계에서의 산화안정성을 관찰하기 위해 헤드스페이스 산소 함량을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이, 시료를 첨가하지 않은 대조군에 비해 광산화에 의해 소모되는 산소 소비율이 유의적으로 감소하여 잔존하는 산소량이 증가함을 관찰할 수 있었다($p<0.05$). 대조군의 경우 0일, 2일, 3일, 4일간의 광산화에 의해 헤드스페이스 산소 함량은 각각 20.9, 19.9, 17.3, 16.7%로 나타나 0일에 비해 3일, 4일째 헤드스페이스에 잔존하는 산소량이 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었고($p<0.05$), 이러한 감소는 2일째부터 시작됨을 알 수 있었다. 반면에 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군의 경우 0일, 2일, 3일, 4일간의 진행되는 광산화에 의해 헤드스페이스 산소 함량은 각각 20.9, 20.3, 19.9, 19.3%로 나타나 0일째에 비해 3일째부터 유의적인 차이가 나타났고, 4일째가 되어도 3일째 산소 잔존율과 유의적인 차이가 없었다. 또한 대조군과 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군을 비교하면, 광산화가 3일, 4일째 진행됨에 따라 대조군의 산소 잔존율 보다 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군의 산소 잔존율이 유의적으로 높음을 알 수 있었다. 이러한 결과로, 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리에 의해 기존에 진행되는 광산화로 인한 산소 소모를 늦추어서 전체적으로는 광산화에 사용되는 산소 사용량을 유의적으로 줄 일 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 유지식품의 실제 matrix가 될 수 있는 수중유적형 유화계를 이용하여 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 산소 잔존율을 측정한 연구는 본 연구가 처음으로서 실제로 유지식품 중 유화식품이 가지고 있는 보관 및 저장 중 지방산화의 문제점을 해결할 수 있는 천연 항산화제로서 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물이 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

수중유적형 유화계에서의 CDA가와 지방질 하이드로과산화물 함량 분석

Fig. 2는 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 수중유적형 유화계에서의 산화안정성을 관찰하기 위해 지방자동산화 시 개시단계에서 생성되는 1차 산화생성물인 conjugated dienes의 양을 측정한 결과로 시료를 첨가하지 않은 대조군에 비해 광산화에 의해 생성되는 conjugated dienes의 양이 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p<0.05$). 대조군의 경우 0일, 2일, 3일, 4일간의 광산화가 진행됨에 따라 생성되는 conjugated dienes의 양이 각각 0.3, 6.2, 13.8, 14.9 g/kg oil로 유의적으로 증가됨을 관찰할 수 있었고 3일째와 4일째는 유의적인 차이는 없었다. 이러한 경향은 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군의 경우에도 나타났으며, 0일, 2일, 3일, 4일간의 진행되는 광산화에 의해 생성되는 conjugated dienes의 양은 각각 0.8, 4.2, 7.5, 8.6 g/kg oil로 3일째 4일째는 유의적인 차이는 없었다. 또한 대조군과 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군을 비교하면, 2일, 3일, 4일째 광산화가 진행됨에 따라 대조군에 비해 생성되는 conjugated dienes의 양이 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다($p<0.05$). 이러한 결과로 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리에 의해 기존에 광산화로

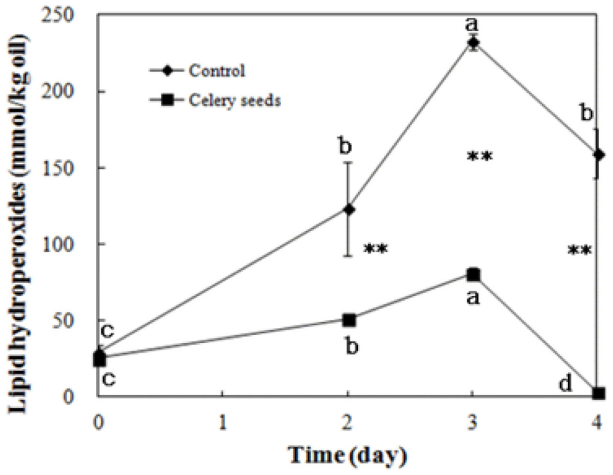

Fig. 3. Change of lipid hydroperoxide concentration in oil-in-water emulsions with celery seeds extract under light for 0, 2, 3, and 4 days. Different letters are significantly different at $p<0.05$ among different treatment day each group. ** are significantly different at $p<0.01$ between control and celery seeds 80% ethanol extract.

인해 생성된 산화생성물인 conjugated dienes이 유의적으로 적은 양이 생성됨을 알 수 있었고, 광산화가 진행됨에 따라 conjugated dienes 생성 증가 폭이 많은 2일째와 3일째를 비교해 보면 대조군은 2일째에 비해 3일째에 약 2.2배 증가하였고, 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군은 약 1.8배 증가하였음을 알 수 있었다. 지방자동산화의 또 다른 1차산화물인 지방질 하이드로과산화물의 양을 측정한 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군이 시료를 첨가하지 않은 대조군에 비해 광산화에 의해 생성되는 지방질 하이드로과산화물의 양이 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다. 대조군의 경우 0일, 2일, 3일, 4일간의 광산화가 진행됨에 따라 생성되는 지방질 하이드로과산화물의 양이 각각 29.5, 123.2, 232.4, 159.6 g/kg oil로 유의적으로 증가됨을 관찰할 수 있었고, 3일째 가장 생성되는 지방질 하이드로과산화물 양이 유의적으로 많았다. 이러한 경향은 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군의 경우에도 나타났으며, 0일, 2일, 3일, 4일간에 진행되는 광산화에 의해 생성되는 지방질 하이드로과산화물의 양은 각각 25.6, 51.5, 80.8, 3.7 g/kg oil로 3일째 유의적으로 증가하였다. 또한 대조군과 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군을 비교하면 2일, 3일, 4일째 광산화가 진행됨에 따라 대조군에 비해 생성되는 지방질 하이드로과산화물의 양이 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있었다. 위와 같이 수중유적형의 유지 matrix가 아닌 미강유에 향신료를 첨가하여 rancimat을 활용하여 유지산패 유도시간을 측정한 연구가 있는데 rosemary 메탄올 추출물이 대조군에 비해 유도기간이 10.9시간 증가하여 가장 우수한 산화안정을 보였다고 보고한 바 있다(23). 이러한 결과로 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리에 의해 기존에 진행되는 광산화를 통해 생성되는 산화생성물의 감소를 일으킬 수 있어 유지식품 제조 시 가공처리에 의해 생성될 수 있는 산화물 감소를 위한 첨가물질로 사용 가능할 것으로 사료된다.

샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 향기성분 분석

샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 주요 휘발성 물질은 Table 3과 같다. 주요 휘발물질로는 o-cymene, α-thujene, α-terpinene, γ-terpinene, decane, sabinene, hexane, α-phellandrene, 2,4-dimethyl-heptane, α-terpinolene 등이 검출되었다. 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물에서 3.46×10^8 pick area를 차지하여 가장 많은 양 검출된 향기성분은 o-cymene 계열의 1-isopropyl-2-methylbenzene로써 monoterpene과 관련되는 alkylbenzene로 분류되며 주로 향신료인 cumin이나 thyme의 정유의 향기성분으로 알려져 있다(25). 또한 두 번째로 검출된 α-thujene 계열의 5-isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene은 섬머세이보리의 향기성분으로 향신료로 사용(26)되며 sabinene은 후추의 향기성분(27)이고 α-phellandrene는 eucalyptus 정유성분으로써 아로마테라피에 사용하며 İşcan 등(28)은 미생물을 이용하여 생물 전환하여 얻은 α-phellandrene의 유도물질들이 박테리아, 곰팡이 등에 항균작용이 있다고 보고하였고, Lima 등(29)은 통증 동물모델에서 항통증 효능을 나타내는 것을 보고한 바 있다. 이와 같이 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물에는 정유에서 추출될 수 있는 향기성분들이 검출되었고 검출된 화학성분들은 모두 향신료의 향기성분으로써 주로 작용하는 것으로 나타났다. 따라서 샐러리 종자의 항산화 및 산화안정성은 이러한 향기성분들에 의해 유래된 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 생리활성이 우수하다고 알려진 향신료 중 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 항산화능과 산화안정성을 관찰하였다. 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물의 처리에 의해 DPPH 라디칼

Table 3. Major volatile compounds of celery seeds extract

Volatile compounds	Pick area ($\times10^8$) (%)[1)]
1-Isopropyl-2-methylbenzene (o-Cymene)	3.46±0.71 (36.8)
5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene (α-Thujene)	0.98±0.06 (10.4)
1-Methyl-4-(1-methylethyl)-1,3-cycohexadiene (α-Terpinene)	0.72±0.10 (7.7)
1-Methyl-4-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene (γ-Terpinene)	0.65±0.10 (6.9)
Decane	0.38±0.11 (4.0)
4-Methylene-1-(1-methylethyl)-bicyclo[3.1.0] hexane (Sabinene)	0.27±0.02 (2.9)
Hexane	0.22±0.05 (2.3)
2-Methyl-5-(1-methylethyl)-1,3-cyclohexadiene (α-Phellandrene)	0.21±0.01 (2.2)
2,4-Dimethyl-heptane	0.19±0.07 (2.0)
1-Methyl-4-(1-methylethylidene)-cyclohexene (α-Terpinolene)	0.19±0.01 (2.0)
Total Volatiles	9.40±1.10 (100)

[1)]The number in parenthesis was the percentage of each volatile divided by the total volatiles.

소거능은 농도 의존적으로 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 또한 ABTS 양이온 라디칼 소거활성 역시 농도 의존적으로 라디칼 소거활성이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 총 페놀 함량은 8.2±2.3 mol 타닌산 당량/g extract로 나타났고, FRAP 환원력은 195.0±12.6 mol 아스코브산 당량/g extract로 나타났다. 수중유적형 유화계에서의 헤드드스페이스 산소 함량은 대조군의 산소 잔존율 보다 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군 산소 잔존율이 유의적으로 높았고, CDA가는 광산화가 진행됨에 따라 대조군에 비해 지방산화시 발생되는 conjugated dienes의 생성량이 유의적으로 감소하였으며, 지방질 하이드로과산화물의 양 역시 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물 처리군이 대조군 보다 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다. 이러한 샐러리 종자의 항산화 및 수중유적형에서의 산화안정성은 샐러리 종자 80% 에탄올 추출물에 존재하는 향기성분들에 의해 유래된 것으로 사료된다. 이와 같은 결과로 샐러리 종자 에탄올 추출물은 항산화능이 우수하여 산화안정성이 중시되는 식품에 천연항산화제로서 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2015년도 강원대학교 대학회계 학술연구조성비로 수행되었다.

References

1. Tapsell LC, Hemphill I, Cobiac L, Patch CS, Sullivan DR, Fenech M, Roodenrys S, Keogh JB, Clifton PM, Williams PG, Fazio VA, Inge KE. Health benefits of herbs and spices: The past, the present, the future. Med. J. Aust. 185: S4-24 (2006)
2. Murdok L. A busy cook's guide to spices: How to introduce new flavors to everyday meals. Bellwether Books, Englewood, CO, USA. p.14 (2001)
3. Sowbhagya HB. Chemistry, technology, and nutraceutical functions of celery (*Apium graveolens* L.): An overview. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 54: 389-398 (2014)
4. Zheng GQ, Kenney PM, Zhang J, Lam LK. Chemoprevention of benzo[a]pyrene-induced forestomach cancer in mice by natural phthalides from celery seed oil. Nutr. Cancer 19: 77-86 (1993)
5. Tsi D, Das NP, Tan BK. Effects of aqueous celery (*Apium graveolens*) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. Planta Med. 61: 18-21 (1995)
6. Si Y, Guo S, Fang Y, Qin S, Li F, Zhang Y, Jiao P, Zhang C, Gao L. Celery seed extract blocks peroxide injury in macrophages via Notch1/NF-κB pathway. Am. J. Chin. Med. 43: 443-55 (2015)
7. Kulshrestha VK, Singh N, Saxena RC, Kohli RP. A study of central pharmacological activity of an alkaloid fraction of *Apium graveolens*. Indian J. Med. Res. 58: 99-102 (1970)
8. Jain SR, Jain MR. Effects of some common essential oils pathogenic fungi. Planta Med. 24: 127-132 (1973)
9. Madhavi D, Kagan D, Rao V, Murray M. A pilot study to evaluate the antihypertensive effect of a celery extract in mild to moderate hypertensive patients. Nat. Med. J. 4: 1-3 (2013)
10. Moure A, Cruz JM, Franco D, Domínguez JM, SineiroJ, Domínguez H, Núñez MJ, Parajó JC. Natural antioxidant from residual sources. Food Chem. 72: 145-171 (2001)
11. Kim JG, Kang YM, Eum GS, Go YM, Kim TY. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (Akebia quinate Decaisn, Scirusflu-viatilis A. Gray, Gardenia jasminoides for Grandiflora Makino). J. Agr. Life Sci. 37: 69-75 (2003)
12. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1198-1200 (1958)
13. van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem. 66: 511–517 (1999)
14. Folin O, Denis W. On phosphotungasticphospho molybdic compounds as color reagent. J. Biol. Chem. 12: 239-243 (1912)
15. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. Anal. Biochem. 230: 70-79 (1996)
16. Yi BR, Ka HJ, Kim MJ, Lee JH. Effects of curcumin on the oxidative stability of oils depending on type of matrix, photosensitizer, and temperature. J. Am. Oil Chem. Soc. 92: 685–691 (2015)
17. Kim MJ, Park MH, Jeong MK, Yeo JD, Cho WI, Chang PS, Chung JH, Lee JH. Radical scavenging acticity and anti-obesity effects in 3T3-L1 preadipocyte differentiation of ssuk (*Artemisia princeps* Pamp.) extract. Food Sci. Biotechnol. 19: 535-540 (2010)
18. Mei L, McClements DJ, Wu J, Decker EA. Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. Food Chem. 61: 307-312 (1998)
19. Kim TS, Decker EA, Lee JH. Effects of chlorophyll photosensitisation on the oxidative stability in oil-in-water emulsions. Food Chem. 133: 1449-1455 (2012)
20. Yang SO, Chang PS, Lee JH. Effects of riboflavin-photosensitized oxidation on the formation of volatile compounds in oleic acid model system. Korean J. Food Sci. Technol. 37: 717-722 (2005)
21. Lee JH. Photooxidation and photosensitized oxidation in linoleic acid, milk, and lard. PhD thesis, The Ohio State University, Columbus, OH, USA (2002)
22. Kim J, Kim SA, Yun WK, Kim EJ, Woo MK, Lee MS. Antioxidantive effect of ethanol extract for 5 kinds of spice. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33: 1426-1431 (2004)
23. Ahn CK, Lee YC, Yeom CA. Antioxidant and mixture of curry spice extracts obtained by solvent extraction. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 491-499 (2000)
24. Jung WS, Chung IM, Kim SH, Kim MY, Ahmad A, Praveen N. *In vitro* antioxidant activity, total phenolics and flavonoids from celery (*Apium graveolens)* leaves. J. Med. Plants Res. 5: 7022-7030 (2011)
25. Favre HA, Powell WH. Nomenclature of organic chemistry: IUPAC recommendations and preferred names 2013 (Blue Book). Chem. Sci. 139-597 (2014)
26. Joerg G. PDR for Herbal Medicines. 3rd ed. Thomson PDR Inc., Montvale, NJ, USA. p. 802 (2004)
27. Shulgin AT, Sargent T, Naranjo C. The chemistry and psychopharmacology of nutmeg and of several related phenylisopropylamines. Psychopharmacol. Bull. 4: 13 (1967)
28. Işcan G, Kırımer N, Demirci F, Demirci B, Noma Y, Hüsnü K. Başer C. Biotransformation of (-)-(R)-α-phellandrene: Antimicrobial activity of Its major metabolite. Chem. Biodivers. 9: 1525-1532 (2012)
29. Lima DF, Brandão MS, Moura JB, Leitão JM, Carvalho FA, Miúra LM, Leite JR, Sousa DP, Almeida FR. Antinociceptive activity of the monoterpene α-phellandrene in rodents: Possible mechanisms of action. J. Pharm. Pharmacol. 64: 283-292 (2012)