

식용유지에 대한 붉나무 추출물의 항산화 효과

최 응 · 신동화 · 장영상* · 신재익*

전북대학교 식품공학과, *농심기술개발연구소

Antioxidant Activity of Ethanol Extract from *Rhus javanica* Linné on Edible Oil

Ung Choi, Dong-Hwa Shin, Young-Sang Chang* and Jae-Ik Shin*

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

*Nong Shim Technology Development Institute

Abstract

For natural antioxidant test, the *Rhus javanica* Linné was extracted by 75% ethyl alcohol and fractionated it by chloroform and ethyl acetate using separatory funnel and column chromatography. In the *Rhus javanica* L. extract, the effective material was dissolved easily in ethyl acetate and chloroform. When 600 ppm of ethyl acetate fraction of the extract was added to palm oil and lard, AI(antioxidant index) of each oil was 1.60 and 3.90 respectively. The CHCl_3 and EtOAc fractions were more effective than whole extract of *Rhus javanica* L. The palm oil, lard and soybean oil containing different levels of the *Rhus javanica* L. extract were stored at 60°C to compare their antioxidative activity. Peroxide value, acid value and TBA value of each oil were monitored. The *Rhus javanica* L. extract was very effective to retard oxidation of palm oil and lard. This result coincided with Ranimat test.

Key words: natural antioxidant, *Rhus javanica* Linné, palm oil, lard, soybean oil

서 론

식품의 보존 또는 가치증진을 위해 첨가하는 각종 합성첨가물에 대하여 최근 그 안전성과 건강에 대한 사회적 관심이 고조되면서, 유지나 유지함유 식품 분야에서도 인체에 안전하고 효과적인 천연물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

Osawa 등^(1,2)은 Eucalyptus 잎의 silica gel column을 사용한 chloroform 추출물의 분획물이 water/alcohol system에서 α -tocopherol과 BHA보다 항산화성이 강하였는데 이는 n-tritriacontan-16,18-dione이라고 밝혔으며, Esaki 등⁽³⁾은 natto 메탄올 추출물의 70% methanol을 사용한 column chromatography 분획물에서 항산화 효과를 나타내었으며, 왕겨 메탄올 추출물의 methanol-water 분획물에서도 강한 항산화 활성이 있는데 이는 phenolic 물질로 isovitexin은 α -tocopherol과 같은 강도의 항산화 효과가 있다고 보고^(4,5)하였다. 김 등⁽⁶⁾은 홍삼 메탄올 추출물의 ethyl acetate 분획물에서 강한 항산화 활성을 나타내었다고 하였으며, 이⁽⁷⁾는 인삼의 chloroform-methanol 추출물의 각 분획물중 Rf값이 큰 분획일수록 항산화력이 크다고 하였다. 또한 양조간장을 Se-

phadex G-10으로 분획하였을 때 멜라노이딘 획분에서 항산화 효력이 가장 컸으며, 이 부분은 질소를 함유한 물질이라 하였고⁽⁸⁾, 박 등⁽⁹⁾은 식용 해조류의 hot-methanol 추출물의 용매 분획물중 aqueous-methanol 가용성 획분에서 강한 항산화 활성을 나타내었으며 이들 모두 극성물질이라고 하였다. 갓과 겨자의 methanol 추출물의 부탄올 분획물에서도 항산화 효과를 나타내었는데 이는 sinapine이라⁽¹⁰⁾고 하였으며, 취뿌리의 chloroform과 methanol 추출물에서도 항산화 효과를 보이는데 식물성보다 동물성유지에 효과가 뚜렷하였다고 하였다⁽¹¹⁾. 붉나무 (*Rhus javanica* Linné)는 우리나라를 비롯하여 일본 및 중국에 자생하는 낙엽 활엽 소교목으로 어린 잎은 식용하며, 충영(蟲癭)을 오배자(五倍子)라 하여 한방에서 이질, 설사 등의 수습약(收澀藥)으로 사용하고 있는 식물^(12,13)로서 본 실험에서는 예비 검색 결과 항산화 효과가 확인된 붉나무 에탄올 추출물을 각종 용매로 분획하여 그 항산화력을 비교하였고, 또한 각종 동식물 유지에 첨가하여 항산화 성분의 특성 등을 검토하여 몇 가지 사실을 확인하였기로 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서는 야산에 자생하는 붉나무의 껍질을 건조하여 미세하게 마쇄한 후 추출용 시료로 하였다.

Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Dukjin-Dong Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

실험유지

팜유는 농심에서 분양받았고, 콩기름은 동방유량 제품을, 돈지는 롯데 삼강유지 제품을 사용하였으며, 어느 항산화제도 첨가되지 않음을 확인하였다.

시약

추출용 용매는 1급을 사용하였으며, 나머지 시약은 특급을 사용하였다.

추출방법 및 Soluble solid 함량측정

대상 시료의 추출은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 플라스크에 시료 중량에 대하여 5배 정도의 75% Ethanol을 넣어 85℃의 수욕상에서 3시간 동안 추출, 여과하여 rotatory vacuum evaporator로 농축하였고, soluble solid 함량은 농축된 추출물 1ml를 취하여 105℃에서 건조 후, 증발잔사의 양으로 표시하였다.

추출수율 측정

추출수율의 측정은 추출에 사용한 시료의 건물에 대한 추출물의 총 soluble solid 함량의 백분비로 하였다.

항산화력의 비교

각 추출물을 특별한 전처리 없이 바로 시험 대상 유지에 첨가 혼합한 다음 항산화 효과를 Rancimat 617 (METHROHM AG, CH-9100 Herisau, Switzerland)을 사용⁽¹⁴⁾하여, 각 추출물의 항산화 정도를 측정하였고, 동시에 추출물을 첨가하지 않은 것을 대조구로 하여 항산화 정도를 비교, AI(antioxidant index ; 각 항산화제 첨가구의 유도기간을 무첨가구의 유도기간으로 나눈 값)로 표시하였다. 이때 각 추출물의 첨가량은 각각 100, 200, 400, 600 ppm으로 하였으며, 측정조건은 실험온도 130℃, air flow rate 20 l/hr, 유지 사용량은 2.5g이었다. 모든 측정치는 2회 반복 시험하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다.

추출물의 분획

1) Separating funnel에 의한 분획

분액 깔대기에 의한 용매별 분획과정은 다음과 같다. 즉, 75% ethanol로 추출하여 얻은 추출물을 먼저 chloroform으로 분획하여 CHCl₃ ext.를 얻고, 수층을 다시 EtOAc 및 BuOH 순으로 계속 분획하여 EtOAc ext., BuOH ext. 및 Water ext.를 얻었다. 각 분획물은 45℃ 수욕상에서 rotatory vacuum evaporator를 이용하여 용매를 완전히 제거, 농축한 후 기질유지에 첨가하여 항산화 효과를 측정하였다.

2) Column chromatography에 의한 분획

Silica gel 60 F₂₅₄(70~230 mesh, Merck)을 충전한 column(50×200 mm)에 ethanol에 녹인 붉나무 추출물을 흡착시킨 후 CHCl₃, EtOAc, BuOH, Water 순으로 계속하여 용출, 각 분획을 45℃ 수욕상에서 rotatory va-

cuum evaporator를 이용하여 용매를 완전히 제거, 농축한 후 분획시료로 하였다.

유지저장 시험

각 용매별 분획물을 해당 유지에 300, 600 ppm 첨가하여 잘 분산시킨 후 삼각플라스크에 넣어 마개없이 60℃에 저장하면서 저장기간에 따라 시료를 취하여 POV, AV 및 TBA가를 측정하였다. 각 처리별 2개 시료를 분석 그 평균치로 표시하였다.

1) Peroxide value의 측정

I.U.P.A.C. 방법⁽¹⁵⁾에 따라 측정하였다.

2) Acid value의 측정

I.U.P.A.C. 방법⁽¹⁶⁾에 따라 측정하였다.

3) TBA가의 측정

Sidwell의 방법⁽¹⁷⁾에 따라 흡광도를 측정(530 nm)하여 TBA 값으로 하였다. 이들에 대한 결과는 Harvard graphic system에 데이터를 입력하여 경향을 graph로 나타내었다.

결과 및 고찰

붉나무 추출물의 항산화성

용매별 분획물의 항산화성은 팜유 및 돈지에 효과가 있는 붉나무 에탄올 추출물을 분액 깔대기로 chloroform, ethyl acetate, butanol 및 water 층으로 분획한 후 감압농축하여 분획물을 얻고, 이 분획물을 농도별로 각종 유지에 첨가하여 항산화 효과를 비교하였다.

팜유에 대하여 분획물별 농도별 항산화 효과를 비교한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 보면 팜유에 대하여 ethyl acetate 분획층이 가장 높은 항산화 효과를 보이고 있는데, 600 ppm 첨가시 AI는 1.60으로 첨가량이 증가함에 따라 효과도 비례하는 것을 알 수 있다. 이 AI값은 붉나무 조추출물 600 ppm 첨가시의 AI 1.35보다 상당히

Table 1. Antioxidative activity of each fraction¹⁾ of *Rhus javanica* L. ethanol extract on palm oil

Solvent	Concentration (ppm)			
	100	200	400	600
CHCl ₃	8.03 ²⁾ (1.06) ³⁾	8.14 (1.07)	10.02 (1.32)	10.31 (1.36)
EtOAc	7.15 (0.94)	8.24 (1.08)	10.26 (1.35)	12.09 (1.60)
BuOH	7.02 (0.93)	7.24 (0.95)	8.29 (1.09)	8.07 (1.07)
Water	7.54 (0.99)	8.09 (1.07)	8.15 (1.08)	8.00 (1.05)

¹⁾The fractions were separated by separatory funnel

²⁾Induction period(IP, hr.min) of oil was determined by Rancimat test at 130℃

³⁾AI(antioxidant index) was expressed as IP of oil containing various fractions/IP of natural oil

Table 2. Antioxidative activity of each fraction¹⁾ of *Rhus javanica* L. ethanol extract on lard

Solvent	Concentration (ppm)			
	100	200	400	600
CHCl ₃	0.45 ²⁾ (1.15) ³⁾	0.47 (1.21)	1.20 (3.08)	1.44 (3.69)
EtOAc	0.39 (1.00)	0.42 (1.08)	1.45 (3.72)	1.52 (3.90)
BuOH	0.42 (1.08)	0.41 (1.05)	0.45 (1.15)	0.40 (1.03)
Water	0.39 (1.00)	0.41 (1.05)	0.48 (1.23)	0.44 (1.13)

^{1,2,3)}See footnotes of Table 1

Table 3. Antioxidative activity of each fraction¹⁾ *Rhus javanica* L. ethanol extract on soybean oil

Solvent	Concentration (ppm)			
	100	200	400	600
CHCl ₃	2.10 ²⁾ (0.95) ³⁾	2.06 (1.18)	2.42 (1.10)	2.33 (1.06)
EtOAc	1.39 (0.63)	1.58 (0.72)	1.47 (0.67)	2.03 (1.05)
BuOH	2.18 (0.99)	1.50 (0.68)	2.09 (1.32)	1.57 (0.71)
Water	2.13 (0.97)	2.04 (1.09)	2.21 (1.00)	2.24 (1.02)

^{1,2,3)}See footnotes of Table 1

높은 경향으로 항산화성 물질이 ethyl acetate에 용출되는 것으로 판단된다. 다음 항산화성이 높은 분획은 chloroform층이었고, butanol과 water는 별로 효과가 없었다. 돈지에 대한 붉나무 추출물의 분획별 농도별 항산화 효과를 비교한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보면 돈지에 대하여 ethyl acetate 분획층이 가장 높은 항산화 효과를 보여 600 ppm 첨가시 AI는 3.90으로, 이는 붉나무 조추출물을 첨가했을 때 AI 3.03보다 1.2배 증가한 결과이다. 다음은 chloroform층으로 AI는 3.69로 붉나무 조추출물을 첨가했을 때 보다 증가하여 돈지에 대해서도 팜유와 같이 항산화성 물질은 주로 ethyl acetate와 chloroform층에 존재함을 알 수 있다.

대두유에 대한 붉나무 추출물의 분획별 농도별 항산화 효과를 비교한 결과(Table 3) 붉나무 추출물은 어느 분획분에서도 대두유에 대하여 뚜렷한 항산화 효과를 나타내지 않고 농도에도 관계가 없음을 알 수 있다.

Table 1~3의 결과를 종합하여 볼 때 붉나무 추출물은 ethyl acetate와 chloroform 분획층에서, 돈지에서는 무첨가구에 비하여 3.9~3.7배 산화억제 효과가 인정되었고, 팜유에 대해서는 1.4~1.7배의 산화지연 효과가 인정된다.

Table 4. Antioxidative activity of each fraction¹⁾ of *Rhus javanica* L. ethanol extract on various edible oil and fat

Solvent	Edible oil and fat		
	Palm oil	Lard	Soybean oil
<i>Rhus javanica</i> whole extract	9.00 ²⁾ (1.18) ³⁾	0.59 (1.51)	2.14 (0.97)
CHCl ₃	10.57 (1.39)	2.27 (5.82)	2.24 (1.02)
EtOAc	8.24 (1.08)	0.51 (1.31)	2.09 (1.32)
BuOH	7.33 (0.96)	0.39 (1.00)	2.12 (0.96)

¹⁾The fractions separated by silica gel column chromatography and 600 ppm of each extract was added

^{2,3)}See footnotes of Table 1

Table 5. The yield and antioxidative activity of several solvent extract of *Rhus javanica* L. on palm oil

Solvent	Yield ¹⁾	IP ²⁾	AI ³⁾
Methanol (75%)	16.40	7.45	1.06
Chloroform	8.04	7.54	1.07
Hexane	7.70	8.21	1.16
Control ⁴⁾	25.86	7.06	1.00

¹⁾(%, w/w, dry base)

^{2,3)}See footnotes of Table 1

⁴⁾75% ethanol extract

Column chromatography에 의한 붉나무 추출 분획물의 항산화성

Silica gel column에 붉나무 에탄올 추출물을 흡착시킨 다음 chloroform, ethyl acetate, butanol 그리고 water 순으로 용출시킨 후, 이를 감압 농축한 분획물 600 ppm을 각각의 유지에 첨가한 후 항산화 효과를 측정된 결과는 Table 4와 같다.

Table 4에서 보면 팜유의 chloroform 용출분은 Table 1과 큰 차이가 없으나 ethyl acetate 용출분은 상당히 떨어지는 현상을 보였고, 돈지에서는 chloroform 용출분에서 가장 높아 AI가 5.82에 이르고 있다. 그러나 ethyl acetate에서는 Table 2와 비교하여 감소하나 butanol에서는 차이가 없었고, 대두유에서는 Table 3과 비교하여 ethyl acetate 용출분이 효과가 상승하고 있다. 비슷한 실험으로 식용해조류에서는 메탄올 분획분에서 강한 항산화 효과¹⁾를 보여 용매의 극성에 따라 분리되는 물질이 다름을 알 수 있다. 이상의 결과에서 보면 항산화 효과가 있는 성분이 silica gel에 흡착정도와 극성에 따라 용매에 용출되는 양상이 달라진다고 볼 수 있다.

용매에 따른 붉나무 추출 수율 및 항산화성

식물로부터 유효성분을 추출하기 위해서는 여러가지 용매가 사용되고 있는데 식품에서는 일반적으로 에탄올

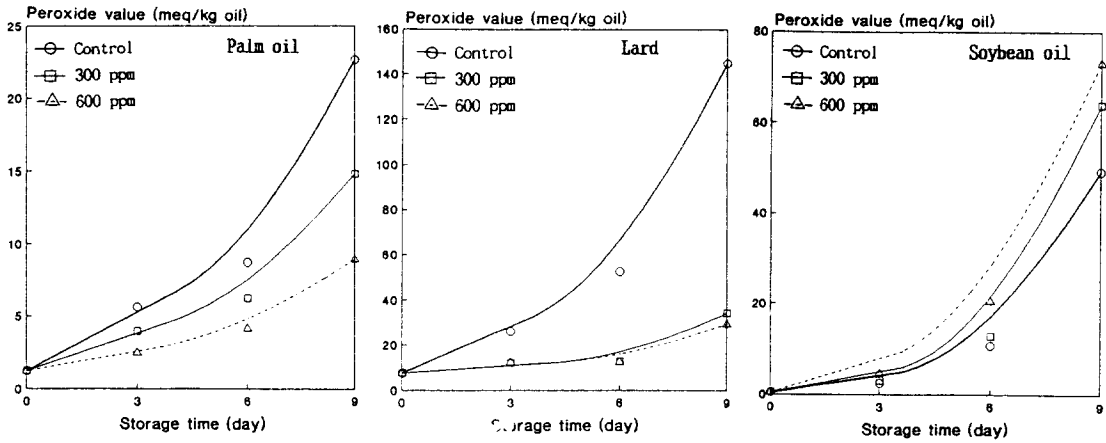


Fig. 1. Peroxide value of various edible oil and fat containing *Rhus javanica* L. ethanol extract during storage at 60°C

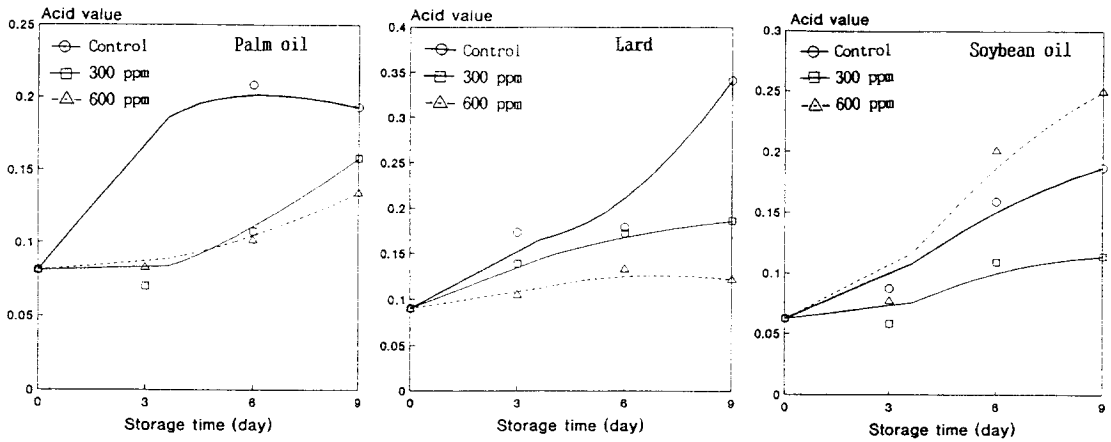


Fig. 2. Acid value of various edible oil and fat containing *Rhus javanica* L. ethanol extract during storage at 60°C

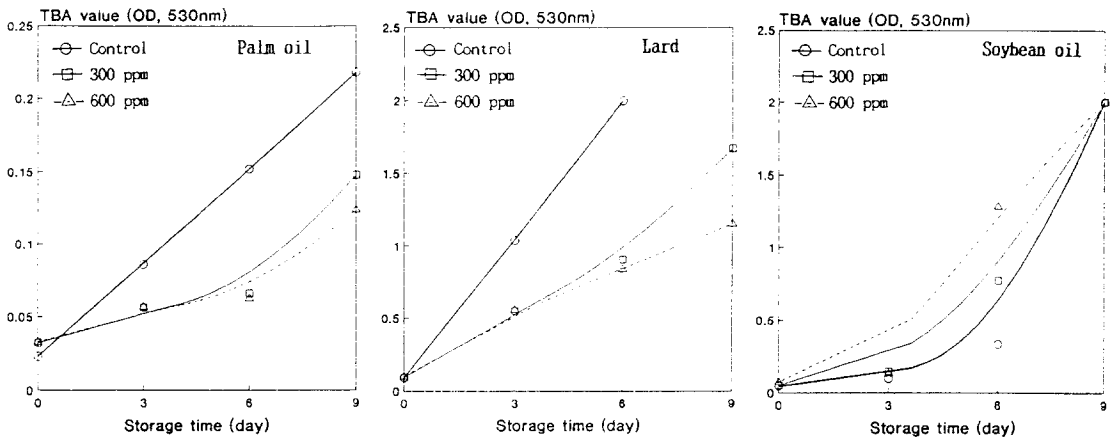


Fig. 3. TBA value of various edible oil and fat containing *Rhus javanica* L. ethanol extract during storage at 60°C

이 이용되나 항산화 효과가 있는 불나무의 경우 용매에 따라 추출되는 물질이 다를 것으로 추정되어 몇 가지 용매를 이용, 추출 수율과 항산화성을 비교한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5에서 보면 추출 수율은 에탄올의 경우 25.86%로 가장 높았고, Hexane이 가장 낮아 7.70%로 상당한 차이를 보이고 있다. 또한 추출 용매별로 AI를 비교해보면 methanol의 경우 1.06에서 Hexane은 1.16으로 뚜렷한 효과를 보이지 않고 있다. 따라서 불나무에서 추출물을 얻을 때는 용매로서 에탄올이 적당하다고 생각된다.

한편, 고구마의 항산화 물질 추출에서는 70% 메탄올이 가장 효과적이었고⁽¹⁸⁾ 해조류에서도 hot methanol 추출물이 가장 우수한 항산화 효과를 보여 모두 극성물질이 관여 물질⁽⁹⁾이라고 사료되고 있어 대상 식물과 유효성분의 성질에 따라서 추출용매를 적절히 선정해야 할 필요가 있다고 본다.

불나무 추출물을 첨가한 유지 저장 시험

항산화 효과가 있다고 밝혀진 불나무 추출물을 실제로 각종 유지에 농도별로 첨가하여 60°C에서 저장하면서 POV, AV 및 TBA를 측정할 결과는 각각 Fig. 1, 2 및 3과 같다.

Fig. 1에서 보면 실제 유지의 장기 저장시험에서도 불나무 조출물을 농도별로 첨가하여 실험한 결과와 비슷하게 팜유에서는 농도별로 peroxide 생성 억제효과가 있었고, 돈지는 600 ppm에서 뚜렷한 효과를 보이고 있다. 즉 팜유의 경우 9일 후 무첨가구의 POV는 22.6 meq/kg인데 비하여 600 ppm 첨가구는 8.9 meq/kg이었고, 돈지는 무첨가구 144.9 meq/kg인데 비하여 600 ppm에서 29.4 meq/kg으로 상당한 효과를 보이고 있으나 대두유에서는 오히려 촉진하는 결과를 보이고 있어 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Fig. 2에서 보면 팜유 및 돈지에서 추출물 첨가 농도가 높아짐에 따라 산가는 낮게 나타나고 있다. 즉 팜유에서 6일 저장시 무첨가구의 산가는 0.2인데 비하여 600 ppm 첨가구는 0.1에 불과하였고, 돈지에서도 12일 저장시 무첨가구의 산가 1.3에 비하여 600 ppm 첨가구는 0.26에 불과하였다. 대두유에서는 POV와 같이 불나무 추출물의 경우가 오히려 산가가 높았다. Fig. 3에서 보면 팜유와 돈지에서는 불나무 추출물 첨가에 의하여 TBA값을 상당히 낮출 수 있었으나 콩기름에서는 억제 효과가 없었다.

요 약

천연 항산화 물질을 분리하고자 식용 또는 한약재로 이용되는 불나무를 75% ethyl alcohol로 항산화 성분을 추출하여 chloroform, ethyl acetate 등의 용매를 사용하여 separatory funnel, column chromatography로 분

회하여 얻은 분획물의 항산화 효과를 검토하였다. 불나무 추출물중 항산화 효과를 나타내는 유효성분은 ethyl acetate와 chloroform에 잘 용해되는 물질로, ethyl acetate로 분리한 분획물을 팜유에 600 ppm 첨가시 AI는 1.60, 돈지에서는 AI가 3.90으로 이들 용매로 분리한 분획물의 항산화 효과는 불나무 추출 원액보다 높은 현상을 보였다. 불나무 추출물을 팜유, 돈지 및 대두유에 농도별로 첨가하여 60°C에 저장하면서 POV, AV 및 TBA를 측정하여 이들 유지에 대한 산화안정성을 시험한 결과 Rancimat test 결과와 비슷하여 팜유에는 항산화 효과가 뚜렷하였고, 돈지에는 탁월한 결과를 보였다.

감사의 말

본 연구는 1990년도 출산장학회 지원 연구비로 수행한 결과의 일부로 이에 심심한 감사를 드립니다.

문 헌

- Osawa, T. and Namiki, M.: A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of *Eucalyptus* leaves. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 735(1981)
- Osawa, T. and Namiki, M.: Natural antioxidant isolated from *Eucalyptus* leaf waxes. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 777(1985)
- Esaki, H., Nokara, Y., Onozaki, H. and Osawa, T.: Antioxidative activity of natto. *日本食品工業學會誌*, **37**, 474(1990)
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S.: Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 2. Identification of isovitexin, A C-glycosyl flavonoid. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 316(1988)
- Ramarathnan, N., Osawa, T., Namiki, M. and Kawakishi, S.: Chemical studies on novel rice hull antioxidants. 1. Isolation, fractionation, and partial characterization. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 732(1988)
- 김만옥, 최강주, 조영현, 홍정근: 인삼의 항산화 성분에 관한 연구. *한국농화학회지*, **23**, 173(1980)
- 이근계: 인삼 사포닌과 그 분획물이 유기산의 산화에 미치는 영향에 관한 연구. *상명여대 논문집*, **10**, 425(1982)
- 문갑순, 최홍식: 양조간장으로부터 항산화성 물질의 분리 및 그 특성. *한국식품과학회지*, **22**, 461(1990)
- 박재한, 강규찬, 박상봉, 이윤형, 이규순: 식용 해조류에서 항산화 물질의 분리. *한국식품과학회지*, **23**, 256(1991)
- 한용봉, 김기라, 한병훈, 한용남: 갯과 겨자의 항산화 활성성분에 관한연구. *생약학회지*, **18**, 41(1987)
- 오만진, 손화영, 강재철, 이가순: 식용유지에 대한 쉐뿌리의 항산화 효과. *한국영양식품학회지*, **19**, 448(1990)
- 황도연, 김의진: 원방 최신 방약합편. *동양종합통신교육원*(1989)
- 강삼식, 윤혜숙, 장일무: 천연물과학. 서울대학교 출판부(1988)
- Laubli, M.W. and Bruttel, P.A.: Determination of the oxidative stability of fats and oils; Comparison bet-

- ween the active oxigen method(AOCS Cd 12-57) and the rancimat method. *J. of the American Oil Chemists Society*, **63**, 792(1986)
15. Paguot, C. and Hautfenne, A.: Standard method for the analysis of oils, fats and derivatives(7th revised). Blackwell Scientific Pubilcation, London, p.214, p.199 (1987)
 16. Paguot, C. and Hautfenne, A.: Standard method for the analysis of oils, fats and derivatives(7th revised). Blackwell Scientific Publication, London, p.73(1987)
 17. Sidwell, C.G., Salwin, H., Benca, M. and Mitchell Jr. J.H.: The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. of the American Oil Chemists Society*, **31**, 603(1954)
 18. Hayase, F. and Kato, H.: Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. Vitaminol.*, **30**, 37 (1984)
-
- (1991년 12월 30일 접수)