

볶음시간에 따른 들기름 메탄올 추출물의 항산화 효과와 특성

신경아 · 고영수 · 이영철*
한양대학교 식품영양학과, *한국식품개발연구원

Antioxidative Effects and Characteristics of Methanol Extracts from Perilla Oils Roasted for Different Time

Kyoung-Ah Shin, Young-Su Ko and Young-Chul Lee*
Department of Food and Nutrition, Hanyang University
*Korea Food Research Institute

Abstract

This study was carried out to investigate the oxidative stability of oils from perilla seeds roasted at 190°C for 0~50 min. The oxidative stability of perilla oils increased as the roasting time increased. Oxidative stability of perilla oils extracted methanol extracts significantly decreased. When 1.0%(w/w) methanol and hexane fractions prepared from methanol extracts added to the unroasted perilla oils, methanol fractions showed strong antioxidative effects, but hexane fractions showed weak effects. As the roasting time increased, the browning intensity, fluorescence and electron donating ability of methanol extracts, methanol and hexane fractions increased, and those were closely related with antioxidative effects.

Key words: perilla oil, methanol extracts, methanol fractions, hexane fractions, antioxidative effects

서 론

들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 일년초로서 동남 아시아가 원산지이며 비옥하지 않은 토질에서도 잘 자라 우리나라 농가에서 증산을 기대할수 있는 유지 작물이다⁽¹⁾.

들깨의 종실에서 함유한 들기름은 우리나라에서 옛날부터 많이 이용하고 있는 식용유 중의 하나로서 지방질이 약 40% 함유되어 있으며 리놀렌산(α -linolenic acid, C_{18:3}, ω -3) 함량이 50~60%로 다른 식용유에 비해 높다. 들기름의 주된 지방산인 α -리놀렌산은 혈압저하, 혈전증 개선, 암세포의 증식억제, 학습능력 향상, 알레르기 체질의 개선, 망막 및 뇌의 발달 등의 효과가 최근에 발표됨에 따라 주목을 받고 있다⁽²⁾. 이러한 좋은 생리기능을 가진 들기름은 필수 지방산인 α -리놀렌산의 함량이 높아 산패되기 쉽다는 문제점을 갖고 있어, 우리나라에서 옛날부터 많이 이용하는 식용유 중의 하나이면서도 그 이용성에 제약이 있었다.

들기름의 산화안정성에 대한 연구는 들깨 자체의

천연 항산화 성분을 조사하거나^(3,4) 화학적 합성 항산화제를 첨가하여 항산화 효과를 보는 것^(5,6)이 대부분이었다. 그러나 들기름은 일반적으로 들깨를 볶은 후에 착유하고, 이 과정에서 들깨의 여러 성분들이 반응하게 되므로, 유리된 알데하이드기나 케톤기를 가진 환원당 또는 가수분해되어 환원당을 만들 수 있는 당류가 아미노산, 펩타이드 또는 단백질과 같은 아미노기를 가진 질소 화합물과 쉽게 반응하여 melanoidin 갈색색소를 형성하는 Maillard 반응을 거쳐 들기름 특유의 향기성분이 생성되므로⁽⁷⁾ 볶음 조건과 산화안정성에 관한 연구가 필요한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 190°C에서 들깨의 볶음시간에 따라 함유한 들기름의 이화학적 특성변화와 산화안정성을 규명하고, 볶음 조건에 의해 들기름 중에 생성된 갈색물질을 메탄올로 추출하여 항산화 효과와 그 특성에 대해 연구하여, 들기름의 식품에의 이용성을 높이고 저장안정성을 향상시키고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 들깨(*Perilla frutescens* var. *ja-*

Corresponding author: Kyoung-Ah Shin, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Songnam-si, Kyunggi-do 463-420, Korea

ponica Hara)는 충청남도 부여에서 재배된 품종으로 현지에서 구입하여 수세한 후 25°C의 열풍 건조기에 서 하룻동안 건조하여 시료로 사용하였다.

들깨의 볶음 조건과 들기름 착유

들기름 착유를 위해 들깨 250 g씩 볶음기(Hesse, Andre' & Co., Germany)에 넣어 기호성이 좋다고 보고된⁽⁸⁾ 볶음 온도 190°C에서 5, 10, 15, 20, 30, 40 및 50분 동안 볶은 후 상온에서 식힌 다음, 볶지 않은 들깨와 위의 볶음 시간별로 볶은 들깨를 압착기(Fred S. Carver Inc., USA)로 압착하여 들기름을 추출하였다. 압착기의 압력은 500 kg/cm²까지 올린 후 10분 동안 유지시켜 착유하였다. 추출된 들기름은 공전 삼각플라스크에 넣고 질소가스로 충전하여 -30°C에서 냉동 보관하면서 분석시료로 사용하였다.

들기름의 메탄올 추출물 제조

각각의 들기름 50 g씩을 250 mL 삼각 플라스크에 분취한 후, 중량비 5배량의 메탄올을 첨가한 뒤 1시간 동안 교반하였다. 분액 깔대기로 옮겨 잘 흔들어준 뒤, 2시간 동안 방치 시키고, 분리된 두 층을 플라스크에 옮겨 4°C의 저장고에 하룻밤 동안 방치하였다. 같은 방법으로 3회 추출 하였으며, 추출한 메탄올층은 합하여 40°C에서 감압농축하여 메탄올 추출물의 항산화 효과를 조사하는데 사용하였고, 메탄올 가용 물질이 제거된 기름층은 따로 모아 감압농축하여 용매를 제거시킨 후 비교 시료로 사용하였다.

메탄올 분획과 헥산 분획의 제조

위에서 만들어진 들기름의 메탄올 추출물을 2 g씩 헥산:메탄올(1:1, v/v) 100 mL로 용해시킨 후, 분액 깔대기에 옮겨 층분리를 한뒤 40°C에서 감압농축하여 메탄올 분획(Fr. I)과 헥산 분획(Fr. II)을 제조하였다.

들기름의 저장실험

각각의 들기름과 메탄올 가용 물질이 제거된 들기름을 3 g씩 분취하여 50°C의 항온기에 저장하면서 일정한 간격으로 시료를 취해 AOCs⁽⁹⁾의 방법에 따라 과산화물가(meq/kg)를 측정하여 산화안정성을 비교하였다.

메탄올 분획과 헥산 분획을 첨가한 들기름의 저장실험

볶음 시간을 달리하여 볶은 들기름에서 추출한 메탄올 분획과 헥산 분획 각각을 볶지 않은후 착유한 들기름에 1.0%(w/w) 농도로 첨가하여 충분히 혼합한 뒤, 3 g씩 분취하여 50°C의 항온기에 저장하면서 2일

간격으로 과산화물가를 측정하였다.

갈색도

각 기름의 메탄올 추출물, Fr. I과 Fr. II를 0.1 g씩 취하여 메탄올 5 mL로 용해 시킨후 분광광도계로 420 nm에서 갈색도⁽¹⁰⁾를 측정하였다.

Fluorescence

각 기름의 메탄올 추출물, Fr. I과 Fr. II을 Park 등⁽¹¹⁾의 방법에 따라 spectrofluorometer (JASCO FP550, Japan)로 fluorescence를 측정하였다. 이때의 excitation은 352 nm로 고정하였으며, emission은 300~600 nm로 하였다. 표준용액은 1 µg quinine sulfate/mL 0.01 N H₂SO₄를 사용하였으며, 이것의 값을 100으로 하여 시료의 fluorescence를 계산하였다.

전자공여능

각 기름의 메탄올 추출물, Fr. I과 Fr. II의 전자공여 작용은 1,1-diphenyl -2-picrylhydrazyl (DPPH)를 이용하여 측정하였다⁽¹²⁾. 전자공여능은 DPPH 용액을 시료에 첨가한 것과 첨가하지 않은 것의 흡광도를 백분율로 계산하였다.

결과 및 고찰

들기름의 산화안정성

볶음 시간별로 볶은후 착유한 들기름을 50°C의 항온기에 저장하면서 산화안정성을 측정하였다. Fig. 1은 190°C에서 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40 및 50분간 들깨를 볶은 후 착유한 들기름의 과산화물가 변화를 나타낸 것으로, 들깨의 볶음시간이 길어질수록 들기름의 산화안정성은 증가하였다. 이는 김 등⁽¹³⁾이 볶음온도와 시간을 증가시킬수록 들기름의 산화안정성이 증가하였다는 결과와도 유사하였다. 또한, 김 등⁽¹⁴⁾은 볶지 않은 들깨와 볶은 들깨에서 착유한 들기름에 산화방지제를 첨가하여 산화안정성을 검토하였는데, 볶음조건이 들기름의 산화안정성에 4배정도 기여하는 것으로 조사되었다. Fig. 2는 메탄올 가용 물질이 제거된 들기름을 50°C 항온기에 유지하면서 과산화물가 변화를 측정한 결과로써 볶지 않고 착유한 들기름과 볶은후 착유한 들기름의 과산화물가 사이에 차이가 있지만, Fig. 1과 같이 볶음 시간별로는 차이가 크지 않았다. 즉, 들기름 자체의 과산화물가 변화는 볶음시간에 따라 큰 차이를 보여, 들깨의 볶음 시간이 길어질수록 들기름의 산화안정성은 현저히 증가하였으나, 메탄올

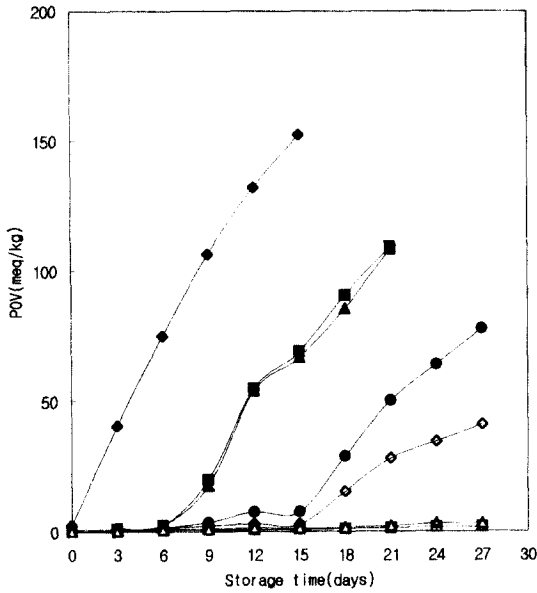


Fig. 1. Changes of the peroxide value of the oils extracted from the perilla seeds roasted in various roasting conditions. ◆—◆: unroasted, ■—■: roasted for 5 min, ▲—▲: roasted for 10 min, ●—●: roasted for 15 min, ◇—◇: roasted for 20 min, □—□: roasted for 30 min, △—△: roasted for 40 min, ○—○: roasted for 50 min.

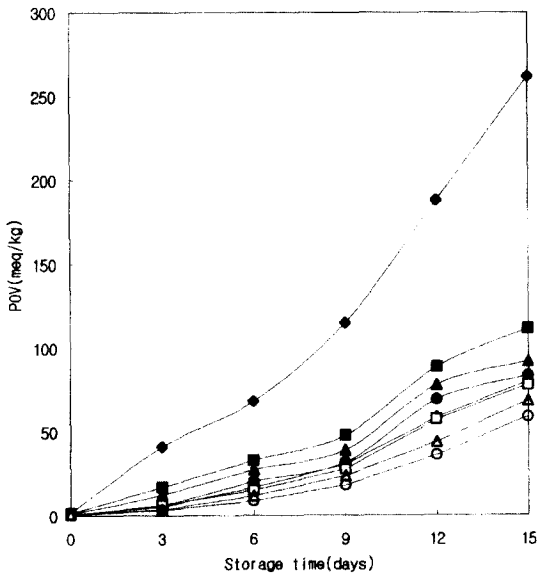


Fig. 2. Changes of the peroxide value of the oils without methanol extracts of the oils extracted from the perilla seeds roasted in various roasting conditions. ◆—◆: unroasted, ■—■: roasted for 5 min, ▲—▲: roasted for 10 min, ●—●: roasted for 15 min, ◇—◇: roasted for 20 min, □—□: roasted for 30 min, △—△: roasted for 40 min, ○—○: roasted for 50 min.

가용 물질을 제거하면, 이전보다 산화안정성이 현저히 저하되었고, 특히 볶음시간이 길어질수록 산화안정성은 더욱 낮아졌다.

메탄올 분획을 첨가한 들기름의 산화안정성

볶음 시간을 달리하여 볶은 들기름에서 추출한 메탄올 가용 물질을 다시 메탄올 분획(Fr. I)과 헥산 분획(Fr. II)으로 나누어 볶지 않고 착유한 들기름에 1.0% (w/w)로 첨가하여 50°C의 항온기에 저장하면서 과산화물가를 측정한 결과는 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 3은 메탄올 분획(Fr. I)을 1.0%(w/w)로 첨가하여 저장한 들기름의 과산화물가 변화를 나타낸 것으로 볶음 시간이 길어질수록 들기름의 과산화물가가 낮아 들기름에 첨가한 메탄올 분획의 항산화 효과를 확인할 수 있었다.

Fig. 4는 헥산 분획(Fr. II)을 1.0%(w/w)로 첨가하여 저장한 들기름의 과산화물가 변화를 나타내었는데, 헥산 분획을 첨가시에도 산화안정성은 있었으나, 볶음시간에 따라 큰 차이를 나타내지 않았으며, 헥산 분획의 항산화성은 메탄올 분획의 항산화성보다 강하지 않았다. 따라서, 들기름의 산화안정성에 관여하는 성

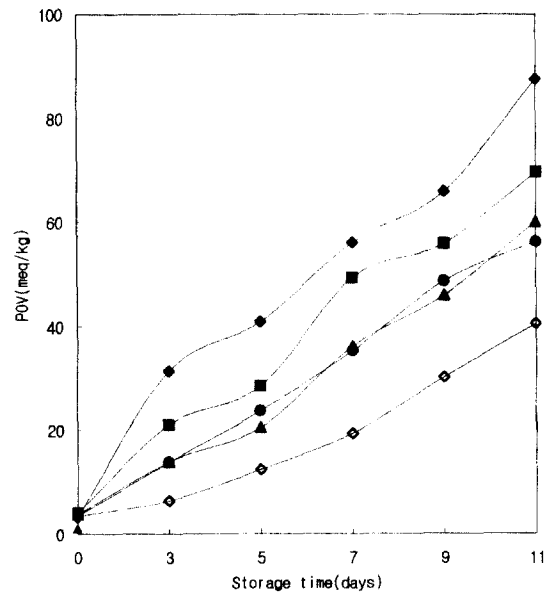


Fig. 3. Changes of the peroxide value of the unroasted perilla oil with addition of 1.0% methanol fractions from methanol extracts of perilla oils from the perilla seeds roasted in various roasting conditions. ◆—◆: control, ■—■: unroasted, ▲—▲: roasted for 15 min, ●—●: roasted for 30 min, ◇—◇: roasted for 50 min.

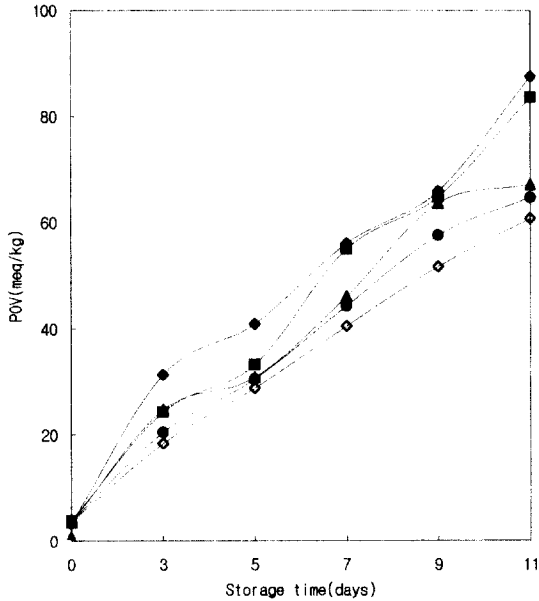


Fig. 4. Changes of the peroxide value of the unroasted perilla oil with addition of 1.0% hexane fractions from methanol extracts of perilla oils from the perilla seeds roasted in various roasting conditions. ◆—◆: control, ■—■: unroasted, ▲—▲: roasted for 15 min, ●—●: roasted for 30 min, ◇—◇: roasted for 50 min.

분은 헥산보다 메탄올에 잘 용해되는 물질인것으로 추정할 수 있었다.

메탄올 추출물, 메탄올 분획 및 헥산 분획의 수율

볶음시간별로 볶은후 착유한 들기름으로부터 추출한 메탄올 추출물과 이 추출물로부터 분리한 메탄올 분획(Fr. I) 및 헥산 분획(Fr. II)의 수율은 Table 1과 같다. 메탄올 추출물, Fr. I의 수율은 볶음시간이 길어질수록 증가하였으나, Fr. II의 수율은 Fr. I보다 훨씬 작

Table 1. Yields of methanol extracts, methanol (Fr. I) and hexane fractions (Fr. II) in the oils extracted from the perilla seeds roasted for different time

Roasting time (min)	Yield (%)		
	Methanol extracts	Fr. I	Fr. II
0	3.9	2.2	1.7
5	4.6	3.0	1.5
10	4.6	-	-
15	4.4	3.1	1.1
20	4.5	-	-
30	5.0	3.9	0.9
40	5.3	-	-
50	5.5	4.5	0.8

았으며 볶음시간이 길어질수록 수율이 감소하였다. 이는 Duh 등⁽¹⁵⁾이 땅콩 껍질을 methanol 등 5개의 용매로 추출하였을때, 용매의 극성이 커질수록 수율이 높았다는 결과와 유사하였다.

갈색도

각 들기름으로부터 추출한 메탄올 추출물, 메탄올 분획(Fr. I) 및 헥산 분획(Fr. II)을 420 nm에서 측정할 갈색도는 Table 2와 같다. 메탄올 추출물과 Fr. I은 볶음시간이 길어질수록 갈색도가 증가하였고, Fr. II도 전체적으로는 매우 낮은 수치를 보였으나 볶음시간이 길어질수록 갈색도가 증가하는 경향을 볼 수 있었다. Koizumi 등⁽¹⁶⁾은 볶음조건에 따라 볶은 참깨 기름의 산화안정성을 조사하였는데, 볶음온도가 증가할수록 갈색도와 함께 산화안정성도 증가하였다.

Fluorescence

볶음시간에 따라 볶은후 착유한 들기름으로부터 추출한 메탄올 추출물, 메탄올 분획(Fr. I) 및 헥산 분획(Fr. II)의 fluorescence는 Table 3에 나타내었다. 볶음시간이 길어질수록 fluorescence 값은 증가하였고, Fr. II보다는 메탄올 추출물이, 메탄올 추출물 보다는 Fr. I이 더 높은 수치를 보였다.

Table 2. Changes in browning intensity of the methanol extracts, methanol (Fr. I) and hexane fractions (Fr. II) in the oils extracted from the perilla seeds roasted for different time

Roasting time (min)	Absorbance at 420 nm		
	Methanol extracts	Fr. I	Fr. II
0	0.3	0.7	0.0
15	1.2	1.9	0.1
30	1.7	2.6	0.2
50	2.3	3.4	0.4

Table 3. Changes in fluorescence of the methanol extracts, methanol (Fr. I) and hexane fractions (Fr. II) in the oils extracted from the perilla seeds roasted for different time

Roasting time (min)	Fluorescence ¹⁾		
	Methanol extracts	Fr. I	Fr. II
0	0.0	1.1	0.0
15	75.3	92.7	16.6
30	136.3	152.7	39.4
50	172.4	167.1	62.8

¹⁾Fluorescence at the emission maximum of 442 nm (excitation maximum=352 nm) was expressed as relative fluorescence to that of the quinine sulfate standard solution (1 µg/mL 0.1 N H₂SO₄=100) at room temperature.

Table 4. Changes in electron donating ability of the methanol extracts, methanol (Fr. I) and hexane fractions (Fr. II) in the oils extracted from the perilla seeds roasted for different time

Roasting time (min)	Electron donating ability (%) ^{d)}		
	Methanol extracts	Fr. I	Fr. II
0	60.2	75.1	43.9
15	75.2	89.2	34.7
30	71.0	84.0	36.3
50	71.7	82.6	38.6

^{d)}Electron donating ability (%)
 $= [1 - (\text{Absorbance of sample} / \text{Absorbance of blank})] \times 100$

전자공여능

볶음시간에 따라 볶은 후 착유한 들기름의 메탄올 추출물, 메탄올 분획(Fr. I) 및 헥산 분획(Fr. II)의 DPPH에 대한 전자공여 작용은 Table 4에 나타내었다. 들기름의 메탄올 추출물은 볶음 시간이 길어질수록 전자공여능이 증가하였으나 30분이상 볶을 시에는 오히려 약간 감소하는 경향을 보였고, Fr. I도 같은 경향으로 증가하였다. 그러나 Fr. II는 볶음 시간이 길어질수록 전자공여능이 감소하는 경향을 보여 Fr. I과는 반대 경향을 나타내었다. 메탄올 추출물보다 Fr. I에서 전자공여능의 값이 더 크므로 항산화 활성이 강한 성분이 Fr. I에 더 많이 존재함을 알 수 있었다. 이와는 반대로, Fr. II는 메탄올 추출물 보다도 더 낮은 전자공여능을 가지므로 항산화 활성이 강한 성분이 적게 존재함을 확인 할 수 있었다.

볶음시간이 길어질수록, 메탄올 분획일수록, 전자공여작용이 커지는 것으로 보아 환원력이 큰 물질이 생성되었음을 알 수 있었고, 이는 본 실험의 항산화 효과와도 일치하였다. 또한, 갈색반응물질의 항산화 활성을 전자공여능을 통해 측정하여 깊은 관련성을 확인한 연구 보고^(17,18)와도 일치하는 결과였다. 따라서, 들기름에 있는 메탄올 가용 물질이 들기름의 산화안정성에 기여하며, 이들은 갈색반응 생성물과 깊은 관계가 있는 것으로 추측되어 이에 대한 자세한 연구를 수행할 예정이다.

요 약

들깨의 볶음시간에 따라 착유한 들기름의 이화학적 특성과 산화안정성을 살펴보고, 볶음에 의해 들기름 중에 생성된 갈색물질을 메탄올로 추출하여 항산화효과와 그 특성을 측정하였다. 들깨의 볶음온도는 190°C로 하였고, 볶음시간은 0~50분으로 하였다. 들깨를 볶

음시간별로 볶은 후 착유한 들기름과 메탄올 가용 물질을 제거한 들기름을 저장하면서 과산화물가의 변화를 측정해본 결과, 볶음시간이 길어질수록 들기름의 산화안정성은 증가하였고, 메탄올 가용 물질이 제거된 들기름의 산화안정성은 매우 쉽게 감소하는 경향이었다. 들기름의 메탄올 추출물을 메탄올 분획과 헥산 분획으로 나누어 볶지 않은 후 착유한 들기름에 1.0%(w/w) 농도로 첨가하여 과산화물가 변화를 측정해본 결과, 볶음시간이 길어질수록 산화안정성이 증가하였고, 헥산 분획보다는 메탄올 분획의 산화안정성이 더욱 높았다. 들기름의 메탄올 추출물, 메탄올 분획 및 헥산 분획의 갈색도, fluorescence 및 전자공여능은 볶음시간이 증가할수록, 그리고 메탄올 분획, 메탄올 추출물, 헥산 분획의 순서로 높은 수치를 나타내어 들기름의 항산화 성분은 메탄올에 쉽게 용해되는 물질임을 확인할 수 있었고, 메탄올 추출물, 메탄올 분획, 헥산 분획의 항산화 효과는 갈색도, fluorescence 및 전자공여능의 결과와도 일치 하였다.

문 헌

1. 농촌진흥청 : 약용식물도감, p. 121 (1971)
2. 이양자 : 유지영양의 문제점과 개선방향. 식품과학과 산업, **23**(2), 13-30 (1990)
3. Kim, C.K., Song, G.S., Kwon, Y.J., Kim, I.S. and Lee, T.K.: The effect of germination of perilla seed on the oxidative stability of the oil (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**(2), 178-183 (1994)
4. Kwon, Y.J.: The oxidative stability of perilla oil during the storage of the seed and the antioxidant components of the seed (in Korean). *The Research Reports of Miwon Research Institute of Korean Food & Dietary Culture*, **6**, 571-592 (1995)
5. Cha, G.S. and Choi, C.U.: Determination of oxidation stability of perilla oil by the rancimat method (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **22**(1), 61-65 (1990)
6. Ahn, T.H., Kim, J.S., Park, S.J., Kim, H.W., Park, K.M. and Choi, C.U.: Antioxidative effect of commercial lecithin on the oxidative stability of perilla oil (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **23**(3), 251-255 (1991)
7. 김동훈 : 식품화학. 탐구당, 서울, p. 404 (1995)
8. Kim, Y.E., Kim, I.H., Jung, S.Y. and Jo, J.S.: Changes in components and sensory attribute of the oil extracted from perilla seed roasted at different roasting conditions. *J. Korean Agri. Chem. Soc.*, **39**(2), 118-122 (1996)
9. A.O.C.S. Official Method Cd 8-53, 4th ed., American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, USA (1990)
10. B.E. Elizalde, Bressa, F. and Dalla Rosa, M.: Antioxidative action of maillard reaction volatiles. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**(4), 331-334 (1992)
11. Park, C.K. and Kim, D.H.: Relationship between fluorescence and antioxidant activity of ethanol extracts of a maillard browning mixture. *J. Am. Oil Chem. Soc.*,

- 60(1), 98-102 (1983)
12. Blois, M.: Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1203 (1958)
 13. Lee, Y.C., Kim, I.H., Kim, Y.J., Kim, Y.E., Kim, H.M. and Jung, S.Y.: Study on the whole utilization of perilla. Korea Food Research Institute final report, G1150-0763 (1996)
 14. Kim, Y.E., Kim, I.H. and Lee, Y.C.: Effects of roasting process and antioxidants on oxidative stability of perilla oils (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol*, **29**(2), 379-382 (1997)
 15. Duh, P.D., Yeh, D.B. and Yen, G.C.: Extraction and identification of an antioxidative component from peanut hulls. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**(8), 814-818 (1992)
 16. Koizumi, Y., Fukuda, Y. and Namiki, M.: Marked antioxidative activity of seed oils developed by roasting of oils sesame seeds, Part I. Effect of roasting conditions on antioxidative activity of roasted sesame seed oil (in Japanese). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **43**(6), 689-694 (1996)
 17. Krigaya, N., Kato, H. and Fujimaki, M.: Studies on antioxidant activity of nonenzymic browning reaction products, Part III. fractionation of browning reaction solution between ammonia and D-glucose and antioxidant activity of the resulting fractions (in Japanese). *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **45**(6), 292-298 (1971)
 18. Yamaguchi, N.: Studies on the browning reaction products from reducing sugars and amino acids, Part IX. antioxidative activities of browning reaction products and several reductones (in Japanese). *J. Food Sic. Technol*, **16**(4), 140-144 (1969)

(1998년 7월 20일 접수)