

## Bangah(*Isodon japonicus*, Hara)잎 추출물의 항산화 효과

김 동 필 · 최 옥 범\*

광주보건전문대학 식품영양과, \*전남대학교 식품공학과

### Antioxidative Effects of Bangah(*Isodon japonicus*, Hara)Leaves Extracts

Dong-Pil Kim, Ok-Beom Choi\*

Dep. of Food and Nutrition, Kwangju Health College, Kwangju 506-701, Korea

\* Dep. of Food Science and Technology, Chonnam National Univ, Kwangju, 500-757, Korea

#### Abstract

To develop antioxidant substances in plant, phenolic compounds in Bangah(*Isodon japonicus*, Hara) and antioxidative effects of cell extracts were investigated. Defatted samples of Bangah were extracted with acetone /methanol and the extracts were fractionated into the free and bound types of phenolics. The equal amounts of fractions were dissolved in soybean oil and autoxidized at 45°C for 25 days. Peroxide value and TBA values were determined every 5 days during oxidation. Changes of peroxide and TBA values showed antioxidant effects, which were lower than control during the oxidation periods. The effects of cell extracts were evaluated as high as BHT, 0.02 ppm. The antioxidative effect of insoluble-bound phenolic extract was higher than that of free. The contents of phenolic compounds in insoluble-bound fraction were also higher than free fraction.

Key words : phenolic compounds, peroxide · TBA values, antioxidative effects

#### 서 론

식용유지나 유지를 함유한 식품이 가공 및 저장 중에 일으키는 산패를 억제하기 위한 방법들이 많이 연구되어 왔는데, 그중 하나가 항산화제를 사용하여 산화 유도기간을 연장시켜 주는 것이다. 산화를 억제하는 항산화제로는 합성 항산화제와 천연 항산화제가 있으며 허용된 합성 항산화제로는 BHA, BHT, TBHQ 등으로 이들을 단독 또는 혼용하여 사용하고 있다<sup>(1,2,3)</sup>. 그러나 이들은 이취가 있고 고온에서 불안정하며<sup>(4)</sup>, 기형발생인자 및 발암물질의 원인이 되고 간, 폐, 신장 및 장기 조직의 병리적인 해를 유발시키는 등<sup>(5,6)</sup> 문제점이 많아짐에 따라 천연 항산화제의 개발을 위한 많은 연구가 진행되고 있다. 일반적으로 천연물 중에 존재하는 항산화 물질로는 tocopherol<sup>(7)</sup>, lignan 유도체

<sup>(8)</sup>, 페놀성 물질<sup>(9)</sup>, flavone 유도체<sup>(10)</sup>, Maillard형 갈변반응 생성물<sup>(11)</sup>, 아미노산, peptide<sup>(12)</sup> 등이 알려져 있고 그 중에서도 페놀성 물질들은 식물의 종류 및 항산화 성분의 종류와 추출방법, 추출용매의 종류에 따라 차이가 나지만 항산화 작용을 가진 대표적인 물질로 보고되고 있다<sup>(13,14)</sup>. 이에 본 실험에서는 방아(*Isodon japonicus*, Hara)잎에 존재하는 페놀성 물질을 추출하여 항산화 효과를 검증하였다. 방아풀은 우리나라 산야에 자생 또는 재배되고 있으며, 꿀풀과(Labiata)에 속하는 다년초로서 전초, 연명초(Hikiokoshi)라고도 하며<sup>(15)</sup> 옛부터 관상용, 식용, 약취제로 이용되어 왔고<sup>(16)</sup> 개화기에 채취하여 소화불량, 식욕부진, 복통 등 민간약으로 이용되었으며<sup>(17,18,19)</sup> 학명은 *Isodon japonicus*, Hara<sup>(20)</sup>와 *Plectranthus japonicus*, Koidz<sup>(21)</sup>이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

재료로 사용된 방아잎은 전남 순천시 상사면 서정마을의 야산 밭에서 1994년 7월10일 엽폭 3.2cm×엽상 5.4cm를 기준으로 채취하여 즉시 페놀화합물의 추출 시료로 사용하였으며, 기타 분석에는 채취후 -40℃에서 동결 저장하면서 사용하였다.

### 2. 기질의 성상

산화 반응용 기질의 성상은 네가지 화학적 시험법으로 분석한 결과 Table 1과 같이 나타난 동방유량(주) 제품의 시판 대두유를 사용하였다.

### 3. 탈지시료의 조제

방아 시료중 페놀성 물질의 추출을 위한 탈지 과정은 Krygier<sup>(22)</sup>, 최 등<sup>(23)</sup>의 방법에 따라 시행하였다. 50℃에서 건조하여 시료중 수분을 제거하고 n-hexane에 침지하여 지질을 추출한 후 별도로 잔사를 석유 에테르로 재탈지하여 페놀성 물질의 추출 재료로 사용하였다.

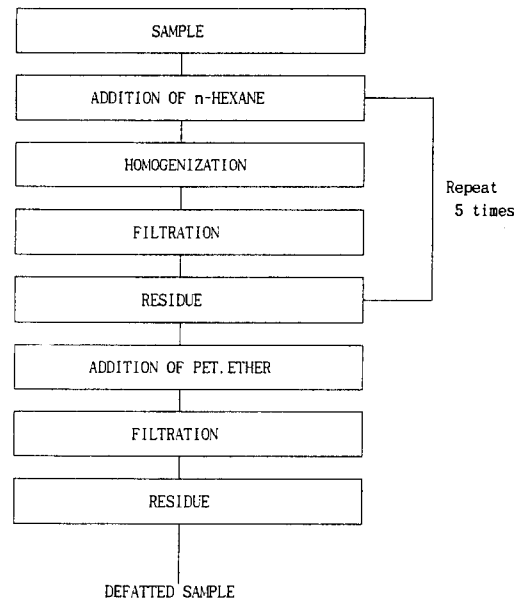
### 4. 페놀성 물질의 추출

페놀성 물질의 추출은 Krygier의 방법<sup>(22)</sup>과 최의 방법<sup>(23)</sup>을 혼용하여 Fig. 2와 같이 시행하였다. 즉, 50g의 탈지시료를 acetone:methanol(1:1, V/V)혼합용액 200ml로 5회 추출하고 6,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 상정액과 잔사로 분리하고 이것을

**Table 1. Chemical properties of the edible soybean oil used substrate.**

Peroxide value <sup>1</sup>	1.8
TBA-value <sup>2</sup>	0.03
Iodine value <sup>3</sup>	128
Saponification value <sup>4</sup>	190

1. Peroxide value was expressed as meq /kg.
2. Method by Sidewell *et al.*
3. AOAC-Wij's method.
4. AOAC method



**Fig. 1. Preparation of defatted sample of Isodon japonicus.**

감압 농축하여 유리형 페놀성 물질의 분석 시료로 하였으며 잔사는 불용성 페놀성 물질 분획에 사용하였다. 유리형 페놀성 물질은 농축액을 6N-HCl을 가하여 pH 2로 조절한 다음, 원심분리하여 부유물을 제거하고 hexane으로 추출하여 잔여 지질을 제거하였다. 수층을 DE/EA(diethyl ether/ethyl acetate 1:1, V/V)로 추출하였으며 sodium sulfide anhydrous로 잔여 수분을 제거하고 용매를 증발시켜 methanol 20 ml에 녹인 것을 유리형 획분으로 사용하였다. 불용성 페놀성 물질의 추출을 위해 methanol로 추출한 잔사를 알칼리로 가수분해하고 pH 2로 산성화 시켜 원심분리한 상정액을 hexane으로 3회 추출하여 잔여 지질을 제거하고, 수층을 DE/EA 혼합액으로 추출하여 농축한 후 추출물을 methanol 20ml에 녹여 불용성 페놀성 물질 분석용 획분으로 사용하였다.

### 5. 페놀성 물질의 검색

페놀성 물질의 확인을 위한 전개용매는 hexane과 ethyl acetate(1:1 V/V) 용액을 사용하여 TLC plate에 전개시킨 후 건조하여 254 nm 파장의 UV

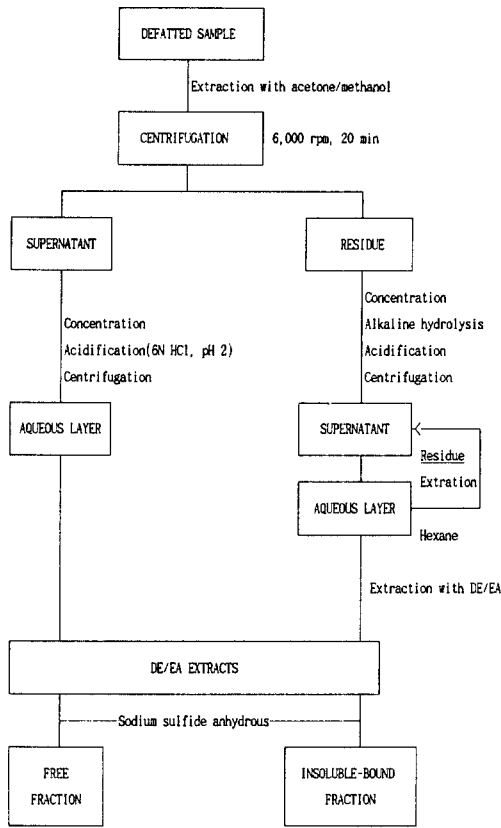


Fig. 2. Procedure for the extraction and fractionation of phenolic compounds.

lamp로 예비적으로 확인하였으며 3% ferric chloride 용액 (FeCl<sub>3</sub> 3g / 0.1N HCl, 100 ml)으로 발색시켜 나타난 spot를 확인하였다. 별도로 농축된 획분을 ethanol로 정용하고 UV spectrum을 측정한 결과 UV 흡수극대가 207 216 nm 사이에 나타나는 것으로 보아 페놀성 물질임을 확인하였다.

6. 항산화력의 측정

1) 시험구 및 대조구의 조제

페놀성물질 추출물을 첨가한 시험구를 만들기 위해 추출물을 각각 1ml씩 혼합하였으며, BHT 시험구는 0.02% 1 ml을 대두유 100 g에 잘 혼합한 후 잔여 용매는 60℃ 수욕조에서 제거하였다.

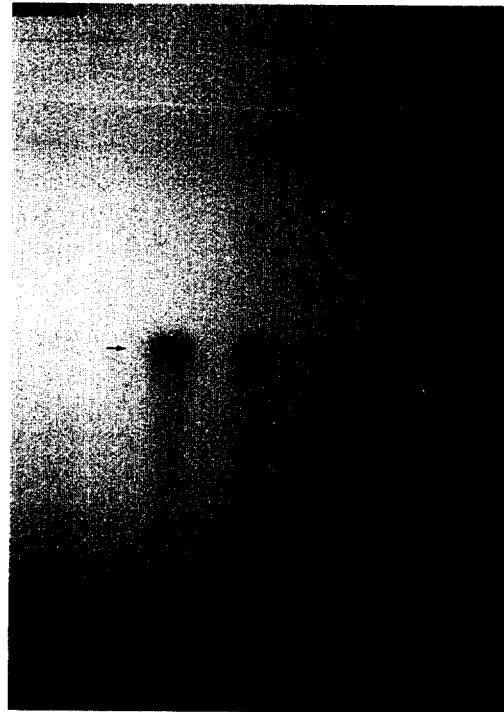
2) 항산화력의 측정

페놀성 물질 추출물과 합성 항산화제를 첨가한 시험구를 각각 petri-dish (직경: 9.2 cm, 높이: 1.6 cm)에 50 g씩 균등히 분배하여 45℃의 항온기에서 25일간 저장하였다. 저장 기간 동안 5일 간격으로 과산화물가는 AOAC방법으로 TBA값은 Sidewell 등의 방법으로 측정하여 항산화 효과를 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 페놀성 물질의 검색

방아잎으로 부터 추출한 페놀성 물질의 분석을 TLC로 확인한 결과는 Fig. 3 과 같다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 화살표로 표시한 부분에 3% ferric chloride 용액을 분무한 결과 spot에서 보라색 내지 진한 암적색으로 발현되는 것으로 보아 페놀화합물임



1 : control, 2 : bound fraction, 3 : free fraction

Fig. 3. TLC of phenolic extracts in *Isodon japonicus*.

을 예비적으로 확인하였으며, 이것의 UV spectrum에서 흡수 극대가 207 216 nm 범위인 것으로 보아 페놀성 물질임을 확인하였다.

## 2. 항산화 효과 비교

### 1) 과산화물가의 변화

전실험 기간을 통한 대조구와 시험구의 저장일수의 경과에 따른 과산화물가의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 모든 시험구의 과산화물가는 전저장기간 동안 대조구보다는 상당히 낮은 값을 나타냈으며, 대조구의 경우 저장 10일째 부터 과산화물가는 급격히 상승하면서 산패가 진행됨을 볼 수 있었다. 각 페놀성 물질의 과산화물가는 서로 다르게 나타났는데, BHT 첨가 시험구와 약간의 차이는 있지만 유리형과 결합형 시험구 모두 우수한 항산화 효과를 나타냈으며, 유리형보다는 결합형 첨가 시험구에서 더 낮은 과산화물가를 나타내었다. 이는 방아풀잎에 4가지 형태로 존재하는 페놀화합물 중에서 catechol, homogentisic acid, caffeic acid, syringic acid, ferulic acid의 5가지 종류

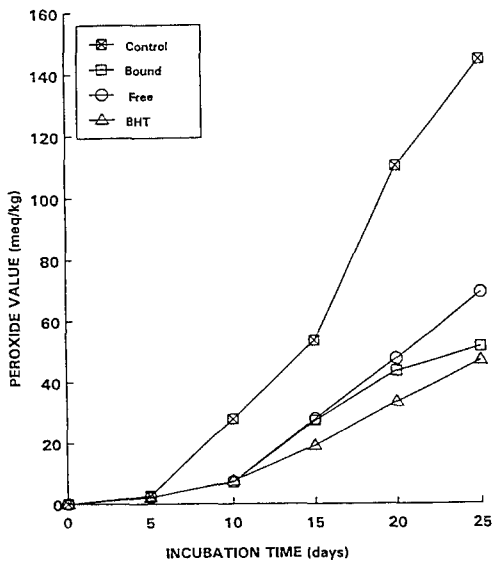


Fig. 4. Changes of Po.V of the soybean oil substrate containing BHT and free, bound phenolic compounds with storage time.

를 정량한 *李*<sup>(24)</sup>의 논문에서 방아잎의 페놀성 화합물은 alcohol에 불용이며 alkali에 불안정한 결합형태와 탄산나트륨에 녹고 alkali에 불안정한 결합형태로 대부분이 존재하고 유리형태는 그 함량이 적다는 결과와 일치함을 보여주고 있다. 한편, 본 실험에서 사용한 시료와 유사한 산쭉<sup>(25)</sup>과 들깨잎<sup>(26)</sup>에서도 유리형보다는 결합형이 항산화 효과가 높다고 보고된 바 있다.

### 2) TBA가의 변화

전산화 기간을 통한 시험구와 대조구의 저장 기간에 따른 TBA-value의 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 시험구의 과산화물가는 대조구보다 산화 기간 동안 낮은 TBA-value를 나타냈으며 결합형이 유리형보다 과산화물가에서의 변화와 같이 더 낮은 경향을 나타내었다. 즉, 처음 10일 동안은 전시험구에서 TBA-value의 변화는 적었으나 15일 부터 증가하기 시작하였고 BHT와 거의 같은 TBA-value를 나타냈다. 이는 들깨잎, 산쭉<sup>(27,28)</sup> 등과 추출물의 TBA-value를 비교해 볼때 유사한 결과를 나타내었다. 이상의 결과를 종합해보면 각종 용매와 추출조건에 따라 항산화력이 달라

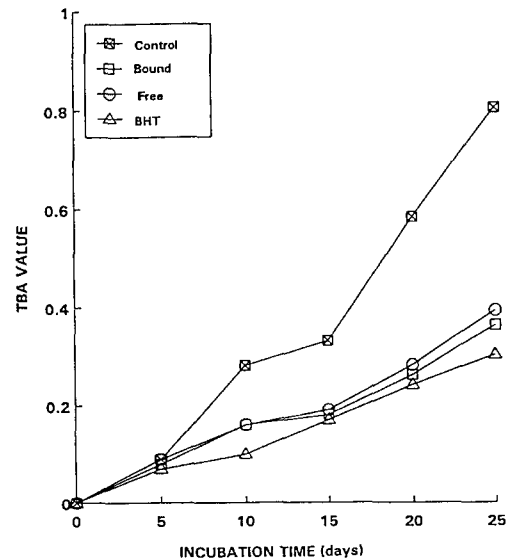


Fig. 5. Changes of TBA-value of the soybean-oil substrate containing BHT and free, bound phenolic compounds with storage time.

지겠지만, 방아잎의 acetone:methanol 추출물은 식용 대두유의 기질에서 높은 항산화 효과가 있는 것으로 평가되었다.

## 요 약

식물체로부터 항산화 물질을 개발하기 위하여 방아세포내 페놀화합물과 추출물의 항산화 효과를 조사하였다. 탈지된 방아 추출물로부터 항산화 효과를 검증하기 위해 acetone /methanol 추출물인 유리형 페놀산과 결합형인 불용성 페놀산을 추출, 확인하였다. 각 추출물들을 시판 대두유를 기질로 하여 45 °C 빛이 없는 산화 조건하에서 25일간 산화시키면서 매 5일 간격으로 과산화물가와 TBA 값을 측정하고 결과 추출물을 첨가한 시험구에서는 대조구보다 모두 항산화 효과가 높게 나타났으며 BHT 0.02 ppm 첨가 시료구와 유사한 효과를 나타내었다. 유리형 페놀산과 불용성 페놀산의 항산화 효과를 비교하면 불용성 페놀산의 항산화력이 높게 나타남을 보여주었는데 이것은 방아세포에서는 유리형태보다 결합형으로 페놀화합물이 더 존재한 결과로 입증된다.

## 참고문헌

- Privett, O.S. and blank, M.L. : The initial stage of autoxidation, *JAOS*, 3: 465-469 (1962).
- Choi, N.Y., Yang Y.H. : Toxicological studies of antioxidant, BHT and BHA, *Korea J. Food Sci. Tech.*, 14: 283-286(1982).
- Chang, S.S., Matijasevic, B.O., Hsieh, O.A. L. and Hwang, C.H. : Natural antioxidants rosemary and sage. *J. Food Sci.*, 42, 1102(1977).
- 이준식 : TBHQ, BHA/BHT 및 methyl silicone이 식용유의 저장성과 고온에서의 안정성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, 10, 250(1978).
- Branen, A.L. : Toxicology and biochemistry of BHA and BHT, *JAOS*, 52: 59-63(1975).
- Hayes, R.E., Bookwalter, G.N. and Bayley, E.B. : Antioxidant activity of soybean flour and derivative, *J. Food Sci.*, 42 (6):1527 (1977).
- Kajimoto, G., Yoshida, M. and Shibahra, A. : A role of tocopherol on the heat stability of vegetable oils. *Nippon Shokuhim Kogyo Gakkaishi*, 38, 301(1985).
- Fukuda, Y. and Nagata, M. : Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 857(1986).
- Wee, J.J. : Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of panax ginseng C.A. Mayer. 서울대학교 박사 학위논문(1989).
- Hudson, B. and Lewis, J. : Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oil phospholipid as synergist. *Food Chem.*, 10, 111(1983).
- Kim, S.D., Do, J.H. and Oh, H.I. : Antioxidant activity of panax ginseng browning products. *J. Agr. Food Chem.*, 24, 161(1981).
- Moon, K.S. and Choi, H.S. : Antioxidative characteristics of soybean sauce in lipid oxidation process. *J. Food Sci. Technol.* 19, 537 (1987).
- Shigezo, N. : Antioxidative activities of vegetables of Allium species, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 288 291-296(1981).
- Rhee, K.I., Yolanda, A.Z. and Rhee, K.C. : antioxidant activity of methanolic extracts various oilseed protein ingredients, *J. Food Sci.*, 46:75-77(1981).
- 정태현 : 한국식물도감 (草本部), 教育社(1972).
- 문교부 : 한국동식물도감 식물편 (유용식물) (1974).
- 金在佶 : 原色 天然藥物 大辭典 (上卷), 南山堂 (1984).
- 赤松金牙 : 新訂和漢藥, 醫菌藥出版社 (東京), p. 97-98(1980).
- 難波恒雄 : 原色和漢藥圖鑑(下), 保育社(1980).

20. 이창복 : 대한식물도감, 鄉文社(1980).
21. 약품식물학 연구회 : 개정판 약품식물학 개론, 한국학습교재사
22. Krigier, K.: Free, esterified and insoluble - bound phenolic acid extraction and purification procedure, *J. Agric. Food Chem.*, **30**:330(1982).
23. 최규홍 : 겨자 메탄올 추출물의 항산화효과. 경북대학교 석사학위논문(1990).
24. 이재근 : 방아풀 잎의 성분에 관한연구, 전남대학교 박사학위논문. p.36(1991).
25. 이기동, 김정숙, 배재오, 윤형식 : 산쑥의 물 추출물과 에테르 추출물의 항산화 효과. 한국영양식량학회지 **21**(1) 17(1992).
26. 이경임, 이숙희, 김정옥, 정해영, 박건영 : 들깨잎 추출물의 항돌연변이 및 항산화효과. 한국영양식량학회지, **22**, 175(1993).

---

(1996년 5월 16일 수리)