

제조방법별 솔잎추출물의 항산화성 검토

김수민 · 김은주 · 조영석 · 성삼경*

경산대학교 생명자원공학부, *영남대학교 식품가공학과

Antioxidants of Pine Needle Extracts According to Preparation Method

Soo-Min Kim, Eun-Ju Kim, Young-Suk Cho and Sam-Kyung Sung*

Faculty of Life Resources Science Engineering, Kyungsan University

*Department of Food Science & Technology, Yeungnam University

Abstract

This study was carried out to investigate the effects of pine needle extracts on lipid oxidation and free radical reaction in iron sources reacted with active oxygen species. The results were summarized as follow; the catalytic effects of active oxygen on lipid oxidation in oil emulsion tended to be showed $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 and KO_2 in order. At the same time, pine needle extracts itself were tended to be showed a little catalytic effects. Active oxygen scavenging ability of pine needle extracts didn't show, but pine needle extracts played role as a strong chelating agents to bind iron ion if Fe^{2+} ion exist in oil emulsion. The content of Fe^{2+} ion and total iron in CPNP were higher than those of HPNP and FPN. The content of ascorbic acid of FPN showed the highest (87.77 ppm) among several pine needle extracts. Electron donating ability of HPNP and CPNP were 81% and 78%, respectively, which were showed higher content than those of FPN. The SOD-like activity of HPNP showed 44.30%, compared to other pine needle extracts which means the most strong antioxidant reaction. The nitrite scavenging effects were tended to be different, depending on pH value as pH value was increased. Especially, they didn't show the nitrite scavenging effect in pH6.0.

Key words: lipid oxidation, free radical, active oxygen, pine needle

서 론

최근 국민들의 건강에 대한 관심이 증가함에 따른 건강 지향적인 식품개발이 활발히 진행되고 있으며, 기호식품에 있어서도 건강유지를 위한 기능성 제품이 상품화되어 왔다⁽¹⁻³⁾. 우리나라에서 자생하고 있는 소나무과 중에서 잣나무잎은 민간요법에서는 임질과 매독의 치료약으로 사용되고 있으며⁽⁴⁾, 국내부존자원 중 쉽게 얻을 수 있는 솔잎의 약리작용에 대해 한의서⁽⁵⁾와 민간요법⁽⁶⁾에 따르면 간장질환, 비뇨생식기계질환, 위장질환, 신경계질환, 순환기계질환, 피부질환 등에 효과가 있다고 보고되어 있고⁽⁷⁾, 성분분석결과 솔잎에는 엽록소, 비타민 A와 비타민 K가 함유되어 있고, 그 외에도 단백질, 지방, 인, 철, 효소, 정유(식물성 휘발류, 테르펜 계열), 미네랄, 비타민 C가 함유되어 있으며, 체내의 노폐물을 배출시켜 신진대사를 활발하게

하는 성분들이 함유되어 있다고 알려져 있다⁽⁸⁾. 솔잎은 예전부터 구황식물로 이용되어 온 점을 생각할 때 솔잎추출물은 혈청 콜레스테롤 저하효과를 갖고 있어 기능성 식품소재로 이용될 수 있다⁽⁹⁾. 이러한 솔잎의 약용효과에 관한 실험으로 강 등⁽¹⁰⁾은 솔잎추출물 급여가 고지방식이를 섭취한 흰쥐에서 혈청과 간장 지질조성에 미치는 영향을 검토한 결과, 간장 중성지방 및 총 콜레스테롤 함량은 솔잎추출물 급여군이 낮게 나타났고, 혈청 지질함량 및 동맥경화지수를 감소시켰으며 HDL-콜레스테롤을 증가시킴으로써 고지혈증 개선효과가 있고, 간장에서의 중성지방과 총 콜레스테롤 등 지질농도의 상승 억제효과가 있다고 보고하였다. 강 등⁽⁷⁾은 솔잎을 열수 및 70% acetone으로 처리하여 얻은 추출물로 기능성 검토를 수행하였는데, 솔잎의 열수 및 70% acetone 추출물 모두 polyphenol 성분 중 flavanol형 tannin의 함량이 60% 이상이었고, 항변이원성 실험에서는 70% acetone 추출물이 높은 억제 활성을 나타내었으나 angiotensin I converting enzyme (ACE) 저해작용은 열수추출물이 61%로 저해

Corresponding author: Soo-Min Kim, Faculty of Life Resources Science Engineering, Kyung-San University, Kyung-San, Kyungbuk 712-240, Korea.

능이 높았다고 보고하였다. 그러나, 솔잎추출물의 항산화성을 제조방법별로 검토한 보고는 없는 듯하여 여러 가지 약리작용이 있는 솔잎을 제조방법(열풍건조구, 시판분말구, 생솔잎구)에 따라 열수추출하여 그 추출물의 항산화성을 검토하고자 이 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

열풍건조분말과 생솔잎(*Pinus Densiflora*)은 경산대학교 인근야산에서 채취하여 사용하였으며, 시판분말은 경산시장내 농협에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 시약은 특급시약이고, trichloroacetic acid (TCA), grease reagent (sulfanilic acid, α -naphthylamine) 등은 Sigma chemical Co. (USA)에서 구입하였고, 2-thiobarbituric acid (TBA)는 Eastern Organic Chemicals (USA)에서 구입하였다.

시료제조와 추출

열풍건조분말은 세척·건조한 솔잎을 80°C의 열풍건조기에서 3시간 건조한 후 가정용 분쇄기(대우분쇄기 KMF-360)로 마쇄하여 분말화하였다. 준비된 열풍건조분말과 시판분말 50 g과 생솔잎 100 g에 각각 10, 5배의 증류수를 가하여 85°C에서 3시간 동안 2회 반복 추출하여 실험에 사용하였다.

시료 조제

Oil emulsion은 사용하기 전에 만들고 pH6.5로 보정한 maleic acid buffer, 8 mL를 넣은 다음 50 μ L의 Tween-20과 0.5 mL 정도의 아민유를 넣고 15분간 교반한 후 KOH 2~3조각을 넣고 교반하면서 0.1 N HCl로 pH 6.5가 되도록 제조하여 사용하였다. 항산화성 실험에 사용된 시료 조제는 oil emulsion 0.5 mL에 산소종{40 mM H₂O₂, potassium superoxide (KO₂), 40 mM H₂O₂+50 ppm Fe²⁺ (-OH)} 0.1 mL를 가하고, 50 ppm Fe²⁺, Fe³⁺ 이온 0.1 mL와 솔잎추출물을 각각 0.1 mL씩 첨가하여 전체 1 mL가 되도록 증류수로 조정하여 4회 반복 실시하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 분석

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)는 Buege 등의 방법⁽¹¹⁾에 따라 측정하였다. 1 mL 반응 혼합물이 채워진 시험관을 37°C water bath에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 50 μ L dibutylhy-

droxytoluene (BHT) 7.2%를 시료에 가하여 산화반응을 정지시켰다. 반응혼합물을 잘 섞은 다음 2 mL TCA/TBA 시약을 가하고 다시 혼합 후 끓는 물에서 15분간 가열시켰다. 가열 후 찬물에서 식힌 후 2,000 \times g의 속도로 15분간 원심분리시켰다. 상정액을 흡광도(HITACHI UV-2001) 531 nm에서 측정하였고, 공시료는 시료대신에 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다. TBARS값은 반응혼합물 mL에 대하여 생성되는 MDA μ g으로 표시하였다.

Nonheme iron (비헴철) 측정

Ferrozine iron 분석방법⁽¹²⁾을 변형하여 측정하였다. Total iron 분석을 위해서 1 mL시료를 사용하였고, 여기에 2% ascorbic acid (w/v) 0.1 mL를 가하여 혼합한 다음, 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응 후 11.3% TCA (w/v) 1 mL를 가하고 섞은 다음 반응물을 3,000 \times g에서 5분간 원심분리 시켰다. 상정액 2 mL를 시험관에 옮기고 0.8 mL의 10% ammonium acetate와 0.2 mL의 ferrozine color reagent (75 mg ferrozine+75 mg neocuproine+HCl 1 drop)를 가하여 섞는다. 그리고, 시료를 3,000 \times g에서 15분간 원심분리시킨 다음 5분 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferrous iron (Fe²⁺)분석은 ascorbic acid를 가하지 않고 TCA 0.1 mL를 가한 후 위의 방법과 같이 측정하였다.

Ascorbic acid 측정

Sikic 등⁽¹³⁾의 방법에 따라 시료를 10분 동안 10,000 \times g에서 원심분리시킨 후 상정액 0.5 mL를 취하여 5% TCA 2 mL로 단백질을 침전시켰다. 다시, 4°C에서 10분 동안 15,000 \times g에서 원심분리시켰다. 상정액 0.5 mL를 취하여 85% orthophosphoric acid 0.05 mL, 8% α , α' -dipyridyl 0.05 mL, 3% aqueous ferric chloride 0.05 mL를 가한 후 1시간 동안 ferrous dipyrindyl chromophore 물질이 생성되도록 실온에 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois⁽¹⁴⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 2 mL에 2 \times 10⁻⁴ M DPPH 1.0 mL를 넣고 vortex한 후 30분 동안 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 100-[(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도) \times 100]으로 나타내었다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund의 방

법⁽¹⁵⁾에 따라 각 시료 0.2 mL에 pH8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris+10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 다음 1 N HCl 1 mL로 반응을 정지시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하여 100-[(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100]으로 나타내었다.

아질산염 소거작용 측정

Kato⁽¹⁶⁾ 등의 방법으로 1 mM NaNO₂용액 2 mL에 각 시료 1 mL를 가하고, 0.1 N HCl (pH 1.2), 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 6.0)으로 각각 pH 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 각 반응액 1 mL를 취하여 2% 초산용액 2 mL와 30% 초산용액으로 용해한 griess reagent (1% sulfanilic acid : 1% naphthylamine= 1 : 1) 0.4 mL를 가한 다음 vortex하여 실온에서 15분간 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 griess reagent 대신 증류수를 가하여 측정하였으며, 아질산염 소거능은 100-[(시료첨가구의 흡광도/무첨가구의 흡광도)×100]으로 나타내었다.

결과 및 고찰

슬잎추출물이 iron관련 지방산화(TBARS)에 미치는 영향

지방산화를 촉진하는 Fe²⁺ 이온에 대한 각 추출물들의 지방산화 정도를 oil emulsion상태에서 TBARS (thiobarbituric acid reactive substances)를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. Fe²⁺ 이온첨가구가 2.28 MDAppm인 것에 비하여 HPNP와 FPN은 각각 1.50, 1.56 MDAppm으로 Fe²⁺ 이온에 대한 binding능력이 우수하였으나, CPNP는 2.82 MDAppm으로 지방산화를 오히려 촉진시켰다. 추출물에서 지방산화 촉진인자인 Fe²⁺ 이온의 함량(Fig. 3)은 CPNP, HPNP, FPN이 각각 77.7, 42.2, 4.4 mg/100 g으로 나타나 Fe²⁺ 이온이 지방산화에 미치는 영향을 알수 있었으며, Fe³⁺ 이온첨가구가 0.11 MDAppm인 것에 비하여 CPNP, HPNP, FPN은 각각 2.14, 1.08, 0.26 MDAppm순으로 나타나 Fe³⁺ 이온에 대한 제조방법별 추출물의 binding능력은 없는 것으로 나타났다. Kanner 등⁽¹⁷⁾은 육제품에서 지방산화를 일으키는 중요한 촉매제는 free ionic iron이라고 하였고, Ahn 등⁽¹⁸⁾도 칠면조육에서 지방산화를 촉진하는 iron은 저장된 iron이 아니라 free ionic iron이라고 하여 역시 본 실험의 결과를 뒷받침하였다.

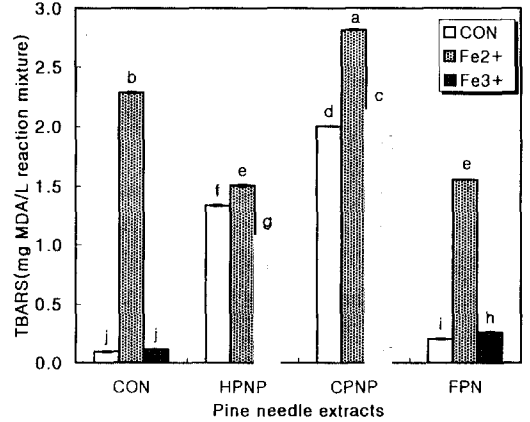


Fig. 1. Effects of pine needle extracts reacted with iron sources on lipid oxidation in oil emulsion. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. ^{a-i}: Means in the same column bearing different superscript are significantly different (P<0.05).

활성 산소종(H₂O₂, KO₂, ·OH)과 반응한 슬잎추출물이 지방산화에 미치는 영향

활성 산소종 존재 하에 슬잎추출물의 첨가가 지방산화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 oil emulsion상태에서 TBARS (thiobarbituric acid reactive substances)를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 부 등⁽¹⁹⁾은 지방산화를 억제하는 물질을 슬잎에서 구조 분석한 결과 4-hydroxy-5-

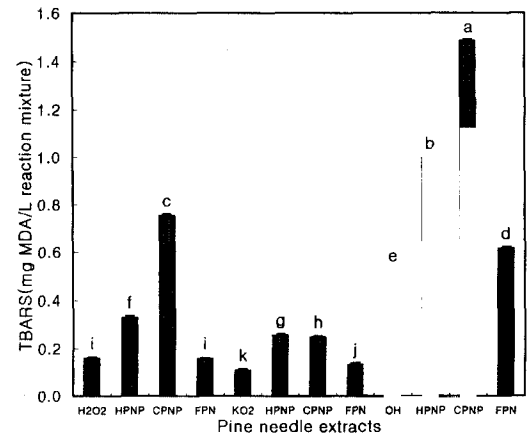


Fig. 2. Effects of pine needle extracts reacted with active oxygen on lipid oxidation in oil emulsion. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. H₂O₂, 4 mM; KO₂, 4 mM; ·OH, 5ppm Fe²⁺+4 mM H₂O₂ (final concentration). ^{a-k}Means in the same column bearing different superscript are significantly different (P<0.05).

methyl-3[2H]-furanone이라는 물질이라고 하였고, 이것은 280 μM 에서 지질과산화 반응을 90%이상 억제시킨다고 보고하였으나, 활성산소종과 반응한 추출물들은 활성 산소종 그 자체보다 지방산화도가 오히려 높게 나타났으며, 가장 낮은 값을 나타낸 FPN도 0.131 MDAppm으로 KO_2 보다 높게 나타나 활성산소종에 대한 포집능력은 없는 것으로 나타났다. 그리고, 40 mM의 KO_2 가 0.108 MDAppm으로 가장 낮게 나타났는데, 이는 superoxide 자체가 지방산화를 일으키는 데 직접 관여하는 것이 아니라 다른 지방산화 촉진인과 반응했을 때 지방산화를 일으키는 것을 간접적으로 증명하는 것이다.

Iron함량 측정

각 추출물들에 함유된 iron함량을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. Ferrous iron함량은 FPN 0.24, HPNP 4.24, CPNP 7.7 mg/100 g순이었으며, total iron함량은 FPN 0.50, HPNP 5.189, CPNP 10.862 mg/100 g순으로 나타났다. 이와 채⁽²⁰⁾의 실험결과 total iron 함량이 검은 참깨와 흰 참깨는 모두 16 mg/100 g, 상추 4.8 mg/100 g, 도라지 6.2 mg/100 g, 단김 17.6 mg/100 g, 두릅 7.4 mg/100 g, 청각 8.7 mg/100 g 등으로 나타나, 일상적으로 섭취하고 있는 식품에 많은 iron이 함유되어 있는 것을 알 수 있었다. 이는 본 실험에서 FPN의 total iron 함량보다는 약간 높았으나 HPNP와 CPNP보다는 total iron함량이 상당히 낮았다. 특히, CPNP의 total iron함량이 높은 것은 시판솔잎분말을 제조하는 과정

에서 iron의 혼입을 시사하는 것이다. Decker 등⁽²¹⁾은 iron이 결합된 ferritin의 농도를 분석물 1 mL당 ferritin에 결합한 iron의 농도를 0.5에서 3.0으로 증가시킴으로써 지방산화 촉매는 2.7배 증가하였다고 보고하였고, 이는 가열된 ferritin에 의한 TBARS의 증가는 ferritin 분자내 구조가 바뀜으로써 ascorbic acid의 접근이 쉬워져 상호작용이 용이하고 따라서, ferritin에 결합되어 있는 iron의 유리가 쉬워지기 때문이라고 보고하였다.

Ascorbic acid함량 측정

각 추출물에 함유된 ascorbic acid의 함량을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. HPNP 168.0 mg/100 g으로 가장 높았고, CPNP와 FPN은 각각 93.08 mg/100 g, 87.8 mg/100 g순으로 나타났다. 본 실험의 결과는 열수추출물의 ascorbic acid 함량을 측정한 결과로써 박 등⁽²²⁾이 감잎의 처리를 재래식, 증자법, 발효법으로 행하여 ascorbic acid 함량을 측정한 결과 각각 13.1, 70.0, 551.9 mg/100 g순으로 나타난 것에 비하여 함량에 차이가 있는 것으로 사료된다. 한편, 박과 김⁽²³⁾은 보관상 최적 온도인 4°C에서 24시간 동안 보관한 신선초 생즙의 ascorbic acid 함량이 44.5 mg/100 g으로 나타났다고 보고하였다. 그리고, 김 등⁽²⁴⁾은 명일엽에는 27.8 mg/100 g의 ascorbic acid가 함유되어 있다고 보고하였다. L-ascorbic acid는 항산화제 및 항갈변제로 인정되어 식품, 음료 및 과일쥬스 등에 첨가되고 있다⁽²⁵⁾. 또한 L-ascorbic acid유도체에는 강한 항산화제가 존재한다고 보고되고 있다^(26,27). 그리고 L-ascorbic acid 갈변반응

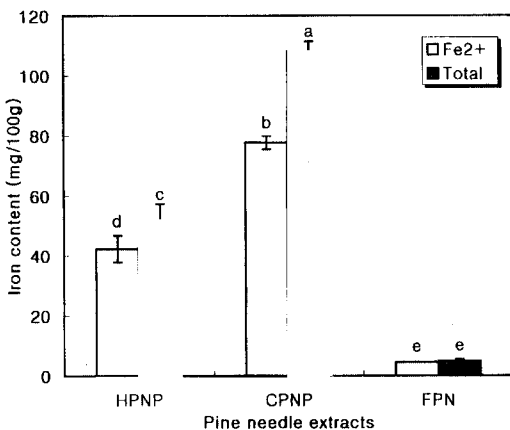


Fig. 3. The content of Fe^{2+} and total iron in pine needle extracts. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. *: Means in the same column bearing different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

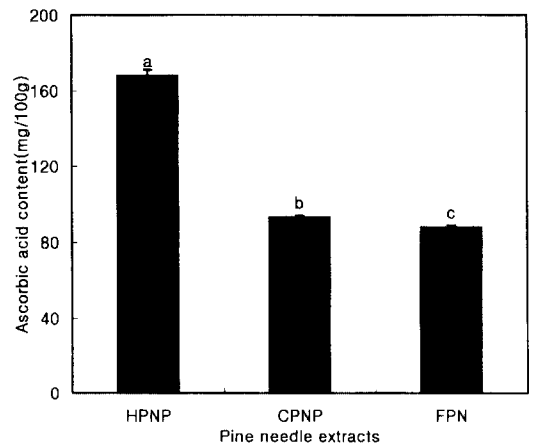


Fig. 4. The content of ascorbic acid in pine needle extracts. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. *: Means in the same column bearing different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

물질의 항산화성에 대한 반응기구에 대하여는 Namiki 등⁽²⁸⁾이 dehydro-L-ascorbic acid (DHA)와 tryptophan을 반응시켜 얻은 갈변반응물질 중에서 강한 항산화성의 주된 성분은 DHA와 tryptophan의 축합물로서 비교적 고분자물질이라고 발표한 것과 L-Ascorbic acid의 분해 물질의 일종인 2,3-diketo-L-glulonic acid의 분해산물이 산소를 포집하는 효과를 나타낸다고 보고하였다.

전자공여능 측정

지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도인 전자공여능을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)에 대한 솔잎추출물의 전자공여 효과는 HPNP 81%, CPNP 78%, FPN 69%의 순으로 HPNP가 가장 높은 전자공여능을 나타내었다. 강 등⁽⁷⁾은 솔잎 열수 추출물과 70% acetone 추출물의 전자공여능 효과는 각각 80.9, 82.6%로 나타나 큰 차이는 없었다고 보고하였다. 이와 같은 결과는 HPNP의 전자공여능 81%와 유사한 수치를 나타냄으로써 활성 free radical을 억제할 수 있는 항산화물질로 사료된다. 활성 free radical은 인체 내에서 각종 질병과 노화를 일으키므로 식물 추출물 등에서 산화성 free radical과 반응함으로써 항산화제로서 이용할 수 있는 가능성을 시사하는 것이다

Spueroxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

솔잎에 존재하는 polyphenol성 물질의 중요한 기능

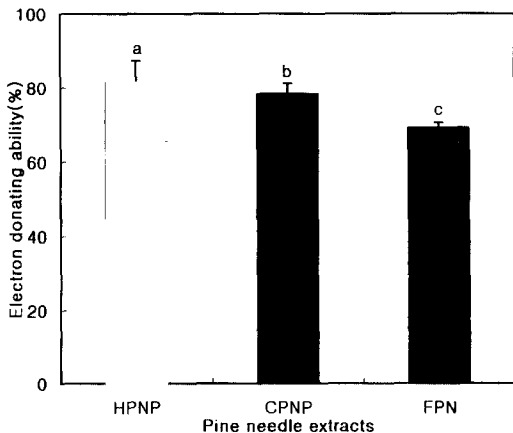


Fig. 5. Electron donating ability of pine needle extracts. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. ^{a,c}: Means in the same column bearing different superscript are significantly different (P<0.05).

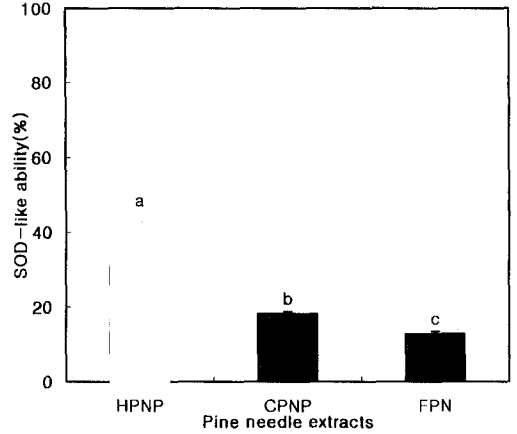


Fig. 6. Autoxidation of pyrogallol in pine needle extracts. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. ^{a,c}: Means in the same column bearing different superscript are significantly different (P<0.05).

인 SOD 유사활성을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. HPNP 44.30%, CPNP 18.14%, FPN 12.80% 순으로 SOD 유사활성능은 HPNP가 가장 우수하였다. 이와 같은 결과는 한국식품개발원⁽²⁹⁾에서 초파리를 이용하여 SOD 유사활성이 높다고 알려진 식물체 추출액 12종의 효능평가에서 초파리 배양시간에 따른 생존율 비교분석결과 상치, 키위, 팽이버섯, 양파, 감, 고사리, 콜리플라워 등의 첨가구의 초파리 생존율은 65~82%로 나타났으나 SOD 유사활성을 어느 정도 가지고 있는 것으로 사료되며, HPNP의 경우 44.30%의 SOD 유사활성능을 나타내어 효능에 대한 것은 좀 더 상세한 실험이 요구된다. 한과 김⁽³⁰⁾은 SOD 효능에 관한 보고에서 SOD는 진행성 전신경화증, 크론병, 레이노병 등의 여러 질병에 개선효과가 높은 편(70%)이었다고 하였으며, 노인성 검버섯 또는 여성의 기미에도 효과가 나타났는데 이는 인체의 멜라닌색소 생합성 과정 중 SOD 유사활성물질이 산화과정을 저해하여 색소합성이 억제되었기 때문인 것으로 보고한 바 있다.

아질산염 분해능 측정

아질산염은 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급아민 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하는 것으로 보고되고 있는데⁽³¹⁾, 이들 니트로사민은 동물실험결과 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐으로써 주목을 끌게 되었다. 솔잎추출물의 아질산염 소거능을 pH별로 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. 반응용액의 pH가 낮을수록 아질

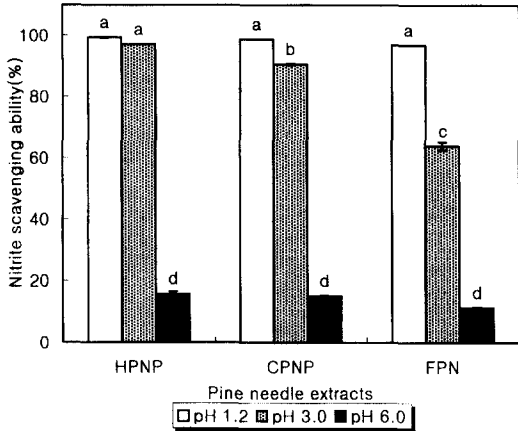


Fig. 7. Nitrite scavenging ability of pine needle extracts. CON: Control, HPNP: Hot air drying of pine needle powder, CPNP: Commercial pine needle powder, FPN: Fresh pine needle. ^{a-d}: Means in the same column bearing different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

산염 분해능이 높게 나타났고 특히, pH 3.0 이하에서 90%이상의 높은 분해능을 나타내었으나, pH가 증가할수록 분해능은 감소하여 pH 6.0에서는 11~15% 정도의 낮은 분해능을 나타내었다. 이것은 강 등⁽⁷⁾이 솔잎 추출물의 아질산염 소거능을 자기 다른 pH에서 조사한 결과 pH 3.0 이하에서 80%이상의 높은 분해능을 나타내었다는 보고와 일치한다. 그리고, 이 등⁽³²⁾은 버섯 추출물을 이용한 아질산염 소거작용을 실험한 결과 영지버섯의 diethylether 추출물 및 표고버섯의 butanol 추출물이 68.34% 및 68.23%로 높은 아질산염 소거작용을 나타내었다고 보고하였으나 본 실험의 pH 3.0 이하에서 80% 이상의 높은 아질산염 분해능보다는 다소 낮지만 pH에 따른 아질산염 소거능 차이는 나타내지 않았다. 아질산염은 일정 농도 이상을 섭취하게 되면 혈액 중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하여 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다⁽³³⁾. 니트로사민의 생성을 억제하기 위한 연구로는 ascorbic acid의 니트로사민 생성 억제능이 최초로 밝혀진 이래, 여러 연구자들에 의하여 ascorbic acid의 니트로사민의 생성 억제능이 보고되었다⁽³⁴⁻³⁶⁾. Cooney와 Ross⁽³⁷⁾는 페놀화합물의 니트로화 반응에 미치는 영향에 대하여 발표하였는데 phenol, guaiacol 그리고 resorcinol은 니트로산화 반응을 강력하게 억제한다고 하였다. 그리고, 천연물에 의한 아질산염 소거작용에 대한 연구로는 해조 추출물⁽³⁸⁾ 및 야채 추출물⁽³⁹⁾에 관한 보고가 있으며, Normington 등⁽⁴⁰⁾은 중국오얏에서 분리한 3-hydroxy-2-

pyranone이 아질산염을 분해함으로써 니트로산화 반응을 억제한다고 보고하였다.

요 약

솔잎의 제조방법별 열수추출물(HPNP, CPNP, FPN)의 항산화성을 검토하기 위하여 *in vitro*상에서 실험을 수행하였다. 각 추출물들의 지방산화 억제능을 측정 한 결과, Fe^{2+} 이온 첨가구에서는 HPNP와 FPN이 Fe^{2+} 이온 binding능력이 우수하였으나, CPNP는 오히려 지방산화를 촉진하였고, Fe^{3+} 이온 첨가구에서는 Fe^{3+} 이온 binding능력은 없는 것으로 나타났다. 활성 산소종 존재 하에서 솔잎추출물의 첨가가 지방산화에 미치는 영향은 활성산소종보다 지방산화도가 오히려 높게 나타났다으며, 가장 낮은 값을 나타낸 FPN도 KO_2 보다 높게 나타나 포집능력은 없는 것으로 나타났다. 지방산화를 촉진하는 iron 함량은 ferrous iron과 total iron 모두 CPNP가 가장 높게 나타났고, 다음으로 HPNP, FPN 순으로 나타났다. 항산화제인 ascorbic acid함량은 FPN, HPNP, CPNP 순으로 나타났다. 산화성 활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도인 전자공여능은 HPNP, CPNP, FPN순이었고, HPNP의 전자공여능이 가장 높은 것으로 나타났다. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성을 측정한 결과 HPNP, CPNP, FPN순으로 나타나 SOD 유사활성능은 HPNP가 가장 우수하였다. 솔잎추출물을 자기 다른 pH에서 측정한 아질산염 분해능은 반응용액의 pH가 낮을수록 아질산염 분해능이 높게 나타났고 특히, pH 1.2에서 높은 분해능을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 1998년도 농림부 현장으로 기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 연구의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Choi, D.S. and Ko, H.Y.: Food functional chemistry. Jigu Munhwasa, Seoul, p.235 (1995)
2. Gi, S.K.: Functional food, Kwangil Munhwasa, Seoul, p. 100 (1992)
3. Joung, Y.K.: Food industry faced with functional circumstance. Shinhan Institute, Seoul, p.7 (1991)
4. Ongkage, G.K., Lee, B.J., Park, J.H. and Nangha, S.U.: The research of oriental herb in korea (7th). Nippon oriental herb science, 45, p.336 (1991)

5. Park, J.K.: Hanbangdaeijun. Dongyang Communication press, Taegu, p.134 (1984)
6. MunHwa broadcasting Rearrangement: Hanguk traditional remedy. Kumbak press, Seoul, p.21 (1988)
7. Kang, Y.H., Park, Y.K., Oh, S.R. and Moon, K.D.: Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, p.978 (1995)
8. Joungeng, B.R.: The mysterious remedy for pine needle, Kukil media, Seoul, p.21 (1995)
9. Lee, Y.H., Shin, S.H., Choi, Y.S. and Lee, S.Y.: Development the health foods containing the extract from pinus strobus leave (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, p.379 (1996)
10. Kang, Y.H., Park, Y.K., Ha, T.Y. and Moon, K.D.: Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet (in Korean). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, p.367 (1996)
11. Buege, J.A. and Aust, S.D.: Microsomal lipid peroxidation. Method in enzymol, **105**, p.302 (1978)
12. Carter, P.: Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Anal. Biochem.*, **40**, p.450 (1971)
13. Sikic, B.I., Mimnaugh, E.G., Litterst, C.L., and Gram, T. E.: The effects of ascorbic acid deficiency and repletion on pulmonary, renal and hepatic drug metabolism in the guinea pig. *Arch. Biochem. and Biophys.*, **179**, p.663 (1977)
14. Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.*, **4617**, p.1198 (1958)
15. Marklund, S. and Marklund, G.: Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, p.468 (1974)
16. Kato, H., Lee., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F.: Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, **51**, p.1333 (1987)
17. Kanner, J., Hazen, B. and Doll, L.: Catalytic free iron ions in muscle foods. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, p.412 (1988)
18. Ahn, D.U., Wolfe, F.H. and Sim, J.S.: The effect of free and bound iron on lipid peroxidation in turkey meat. *Poultry Sci.*, **72**, p.209 (1993)
19. Bu, Y.C., Jeon, C.O. and Or, G.Y.: Separation of 4-hydroxy-5-methyl-3[2H]-furanone of antioxidants from pine needle. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **37**, p.312 (1994)
20. Lee, E.K. and Tchae, B.S.: A Study of Iron Contents of Blood-making Foodstuffs in Relation to Dietary Therapy in Tong-Eui-Bo-Gam (in Korean). *K. J. N.*, **10**, p.115 (1977)
21. Decker, E.A. and Welch, B.: Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, p.674 (1990)
22. Park, Y.J., Kang, M.H., Kim, J.I., Park, O.J., Lee, M.S. and Jang, H.D.: Changes of Vitamin C and Superoxide Dismutase(SOD)-like Activity of Persimmon Leaf Tea by Processing Method and Extraction Condition (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, p.282 (1995)
23. Park, W.B. and Kim, D.S.: Changes of Contents of β -Carotene and Vitamin C and Antioxidative Activities of Juice of *Angelica keiskei* Koidz stored at different conditions (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, p.377 (1995)
24. Kim, O.K., Kung, S.S., Park, W.B., Lee, M.W and Ham, S.S.: The Nutritional Components of Aerial Whole Plant and Juco of *Angelica keiskei* Koidz (in Korean). **24**, p. 594 (1992)
25. John, M.S. and Steven, N.: Effects of storage temperature and duration on total Vitamin C content of canned single-strength grapefruit juice. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, p. 417 (1980)
26. Takagi, M., Higahioka, H. and Morita, N.: Effects of liophillic derivatives of L-Ascorbic acid and Dehydro L-Ascorbic acid on the peroxidation of linoleic acid on the peroxidation of Linoleic acid in neutral phosphate buffer containing alcohol. *J. Nutr. Sci., Vitaminol.*, **32**, p.389 (1986)
27. Takagi, M. Miyamoto, I. and Morita, N.: Effects of active oxygen scavengers on the peroxidation of Linoleic acid catalyzed by Dehydro-L-Ascorbic acid or Its degradation products. *J. Nutr. Sci., Vitaminol.*, **34**, p.141 (1988)
28. Namiki, M., Shigeta, A. and Hayashi, T.: Antioxidant effect of the reaction mixture of dehydroascorbic acid with tryptophan. *Agric. Biol. Chem.*, **46**, p.1207 (1982a)
29. Screening for inhibiting material for lipid peroxidation : The development of functional food using these extracts and evaluation of effective component. KFRI, p.23 (1995)
30. Han, D.S. and Kim, S.J.: Development of functional food and SOD-like activity. *Food Technology*, **7**, p.41 (1994)
31. Crosby, N.T. and Sawyer, R.: N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. "Advances in food research" (C.O. Chichstered.), Academic press, **21**, p.1 (1976)
32. Lee, G.D., Chang, H.G. and Kim, H.K.: Antioxidative and nitrite-scavenging activities of edible mushrooms (in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, p.432 (1997)
33. Peter, F.S.: The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, p.1761 (1975)
34. Miirvish, S.S.: Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Cancer Inst.*, **44**, p.633 (1970)
35. Arche, M.C. and Weisman, M.: Reaction of nitrite with ascorbate and its relation to nitrosamine formation. *J. Nat. Cancer Inst.*, **54**, p.1203 (1975)
36. Katang, S.T., Sekitsiku, S.K. and Suck, K.J.: The effects of L-ascorbic acid addition on the formation of N-nitrosoamine. *Nippon Science*, **40**, p.1251 (1974)
37. Cooney, R.V. and Ross, P.D.: N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide phenols. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, p.789 (1987)
38. Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Park, Y.H. and Kim, D.S.: Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 2.Nitrite-scavenging effects of seaweed extracts (in Korean). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **20**, p.469 (1987)
39. Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Kim, S. B. and Park, Y.H.: Degradation of carcinogenic nitrosamine

- formation factor by natural food components. 1.nitrite-scavenging effects of vegetable extracts (in Korean). *Bull. Korean Fish. Soc.*, **20**, p.463 (1987)
40. Normington, K.W., Baker, I., Molina, M. Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R. and Paju, S.: Characterization of a nitrite scavenger 3-hydroxy-2-pyranone from chinese wild plum juice. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, p.215 (1986)
-
- (1998년 9월 10일 접수)