

초피 용매 추출물의 항산화성 및 항균성에 관한 연구

안명수 · 원종숙 · 김현정 · 한미남
성신여자대학교 식품영양학과
(2004년 2월 4일 접수)

A Study on the Antioxidative and Antimicrobial Activities of the Chopi(*Zanthoxylum Pipperitum DC.*) Solvent Extracts

Myung-Soo Ahn, Jong-Sook Won, Hyun-Jeung Kim, and Mi-Nam Han

Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

(Received February 4, 2004)

Abstract

The antioxidative and antimicrobial activity were carried on the Chopi(*Zanthoxylum pipperitum*) extracts by six kinds of solvents in order to find out new natural food additives. Six solvents were used methanol(MeOH), n-hexane(hexane), chloroform(CHCl₃), ethylacetate(EtOAc), butanol(BuOH), and water(water) and methanol extract(MEEx), hexane extract(HEEx), chloroform extract(CHex), ethylacetate extract(EAEx), and butanol extract(BUEx), water extract(WAEx).

The antioxidative activities of them extracts were determined by peroxide value(POV), conjugated diene value(CDV) of corn germ oil storaged for 30 days at 60±2°C. These extracts were added as 0.02, 0.1, 0.2% of each extracts and compared with α-tocopherol, and BHT. The antioxidative activities of 0.02% extract were as follows in decreasing order BUEx > WAEx, BHT, MEEx > HEEx, EAEx, CHex > TOC, and control. While, BUEx and CHex among these extracts were shown to be had antimicrobial effects on the microorganism such as *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*. Finally to find out the preference of chopi we had made Yugwanzageon (a kind of shallow fried meat ball)by adding chopi powder. The result were similar to control(not added chopi powder) in case of 0.1% chopi adding Yugwanzageon.(p<0.05)

Therefore it was thought to be possible that chopi powder was used Yugwanzageon preperation.

Key Words : chopi, solvent extract, antioxidative activity, antimicrobial effect

I. 서 론

식품 첨가물은 식품공업에서 풍미의 향상 뿐 만 아니라 품질향상, 보존 기간 연장 등 여러 가지 목

적으로 사용되며 일반적으로 경제적이고 안정성이 뛰어난 합성첨가물이 사용되어왔다. 최근에는 합성 첨가물들의 부작용이 보고되어짐에 따라, 소비자들이 식품의 안전성에 대한 관심이 고조되고 있는 실

정이다. 따라서 합성 첨가물 대신 비교적 부작용이 적고 안전성이 높은 천연첨가물에 대한 많은 연구와 개발이 시도되고 있다.¹⁻⁵⁾

초피(川椒, *Zanthoxylum piperitum*)는 우리나라를 비롯하여 중국, 일본, 동북아시아에 널리 자생하는 운향과(Rutaceae)의 산초나무(*Zanthoxylum*)에 속하는 낙엽과목으로 향신료나 약용, 제유용으로 널리 사용되어 왔다. 산초와 초피는 구충제, 식욕증진 및 치통, 신경통 등의 여러 질병의 예방 및 치료제로도 사용되어졌다.^{6,7)} 그러나 초피는 산초(山椒, *Zanthoxylum schinifolium*)와 그 형태가 비슷하고 학명조차 혼돈 사용되어와서 소비자에게 잘못 알려져 있는 경우가 많다. 일반적으로 산초는 씨앗만으로 산초유를 제조하여 민간요법에 주로 사용되는 한편, 초피는 천초, 제피라고도 불리워지며 예전에는 고추가 사용되기 전에는 김치류의 향신료로 사용되었으며⁸⁾, 현재는 씨앗과 과피를 함께 갈아서 추어탕, 감자탕, 보신탕 등의 식품의 냄새를 약화 또는 제거하기 위하여 향신료로써 다방면에 사용되고 있다. 초피에 관한 연구·보고는 정⁹⁾ 등은 초피 추출물이 식품 저장에 있어서 항균제로 사용 가능성을 제시하였고, 김¹⁰⁾ 등은 초피 추출물의 항균성의 안정성에 대하여 보고하였다. 그 밖에도 초피의 수확시기, 장소, 부위별에 관한 향기성분분석이 많이 보고되고 있다.^{11,12,13)}

따라서 본 연구에서는 초피를 천연 첨가물의 일환으로 사용가능성을 검토하기 위하여 초피 용매 추출물의 유지에 대한 항산화성과 항균성 등을 실험하고, 초피를 첨가한 육완자전을 제조하여 관능검사를 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 초피(*Zanthoxylum piperitum* DC.)는 2002년 경북 안동지역에서 채취한 것을 경동시장에서 구입하여 전조 시킨 후 blender로 마쇄하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 초피의 일반성분 분석

초피의 일반성분 분석은 A.O.A.C.법¹⁴⁾에 의하여 측정하였다.

2) 초피의 용매 추출물

초피의 각 용매 추출물은 김^{15,16)}의 방법을 응용하여 초피의 무게에 대해 부피의 비로 각 10배씩을 첨가한 후 각 30분씩을 sonicator(BRANSONIC 5510R-DTH, U.S.A.)로 용출 시킨 후 여과하고 잔사들을 다시 10배의 용매로 용출 시켜 2회 반복하여 추출하였다. 추출물은 rotary vacum evaporater로 농축하여 사용하였으며 추출용매로는 methanol (MeOH), n-hexane(hexane), chloroform(CHCl₃), ethyl acetate(EtOAc), butanol(BuOH), water(water) 등 6가지를 사용하였으며 각 추출물은 메탄올 추출물을 MEEx, 혼산 추출물을 HEEx, 클로로포름 추출물 CHEx, 에틸아세테이트 EAEx, 부탄을 추출물 BUEx, 물 추출물을 WAEx로 표기하였다. 각 용매의 추출물의 수율은 w/w으로 산출하였다.

3) 각 추출물의 항산화 효과 측정

각 추출물을 소량의 EtOH에 녹인 후 각각 0.02, 0.1 및 0.2%의 농도로 기질 대두유에 첨가하였다. 실험 대조군으로는 추출물을 일체 첨가하지 않은 옥배유를 사용했으며, 천연 항산화제로 tocopherol과 합성 항산화제 BHT를 각각 0.02%씩 첨가하여 사용하였다.

각 시료들은 60±2°C에서 저장하면서 과산화물가(peroxide value, POV)와 공액이중산가(conjugated dienoic acid, CDA)의 변화를 측정하였다. POV는 A.O.C.S. Cd-8-53¹⁷⁾ 방법에 의해 구하였으며, CDA도 전술한 바 있는 A.O.C.S Ti la-64의 방법¹⁷⁾에 의하여 UV-Vis spetrophotometer(Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech)를 사용하여 233nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

또한 항산화 효과를 상호비교하기 위하여 Ahn¹⁸⁾이 사용한 방법에 따라 상대적 항산화 효과를 산출

하였다. 즉, 기질 대두유의 과산화물가가 100meq/kg oil에 도달하는 기간(day)을 유도기간(induction period, IP)으로 임의적으로 설정한 다음, control의 유도기간에 대한 각 용매별 추출물이 첨가된 대두유의 유도기간으로부터 다음 식에 의하여 상대적 항산화 효과(relative antioxidant effectiveness, RAE)를 구하였다.

$$RAE = \frac{IP \text{ of antioxidant added substrate}}{IP \text{ of the control}} \times 100$$

4) 항균성 검색

초피의 항균성 검색은 paper disc agar diffusion법^{19,20)}을 이용하여 용매별 추출물을 5%로 희석하여 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Listeria monocytogenes*에 항균성을 측정하였다.

항생제로는 Penicillin, Streptomycin, Tetracycline (sigma Chemical Co. U.S.A)을 사용하였으며 paper disc는 ADVANTEC 8mm(TOYO RoshiKaisha, Japan)를 배지는 tryptic soy bean agar를 사용하였다.

5) 관능 검사

초피가루를 각각 0.1, 0.2, 0.3%로 육완자전에 첨가하여 제조하고, 초피 가루를 첨가하지 않은 육완자전과의 기호도 검사를 7점을 “대단히 좋다”, 1점을 “대단히 나쁘다”로 한 7점 척도법을 사용하였다. 검사 요원으로는 훈련되지 않은 식품영양학과 대학생 15명으로 기호 척도 법으로 실시하였다.²¹⁾ 통계 처리는SAS program을 이용하여 ANOVA법으로 처리하였고, 그 유의차는 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 초피의 일반 성분

실험에 사용 된 초피의 일반 성분은

초피의 과피와 종실을 함께 시료로 사용하여 지방 함량이 약 29%로 고¹³⁾ 등이 초피 종실만의 지

<Table 1> Proximate composition of Chopi used in this study

Sample	Moisture	Composition(%)			
		crude protein	crude fat	crude ash	crude fiber
Chopi	12.39	10.50	29.39	5.45	10.98

방 함량을 13.65로 보고한 것보다도 월등히 높게 나타났다. 이는 수확시기에 따른 변화도 있겠지만 본 실험에 사용한 초피가 과피에 비해 유난히 종실이 많았던 것으로 사료된다.

2. 각 용매 별 추출물의 수율

각 용매 별 추출물의 수율은

<Table 2> Yield of the Chopi solvent extracts

Solvents	MeOH	Hexane	CHCl ₃	EtOAc	BuOH	Water
Yields (%, w/w)	13.6	17.8	19.1	18.0	18.5	8.0

MeOH : methanol

EtoAc : ethylacetate

BuOH : butanol

3. 초피 추출물의 항산화 효과

초피의 용매 별 추출물의 항산화성을 검토하기 위하여 옥배유에 각 농도별로 첨가하여 60±2°C에서 저장하면서 3일 간격으로 과산화물가(POV)를 측정한 결과는

<Table 3> Induction period(IP) and relative antioxidant effectiveness(RAE) of the corn germ oils containing various concentrations of the Chopi extracts and other antioxidants being stored at 60±2°C for 30 days

Sample	Concentration(%)	IP(days)	RAE
Control		9.4	100
TOC	0.02	11.4	121.2
BHT	0.02	13.2	140.4
MEex	0.02	13	138.3
	0.1	13.3	141.5
	0.2	12.9	137.2
HEex	0.02	12.8	136.2
	0.1	12.4	131.9
	0.2	11.9	126.6
CHex	0.02	12.2	129.8
	0.1	12.5	133.0
	0.2	11.4	121.3
EAex	0.02	12.4	131.9
	0.1	13.7	145.7
	0.2	13.1	139.4
BUex	0.02	14.2	151.1
	0.1	13.7	145.7
	0.2	12.5	133.0
WAex	0.02	13.2	140.4
	0.1	12.8	127.7
	0.2	12.1	128.7

TOC : tocopherol, MEex : methanol extract, HEex : hexane extract

CHex : chloroform extract, EAex : ethylacetate extract,

BUex : butanol extract, WAex : water extract

IP는 MEex 13.3일, EAex 13.7일, BUex 13.7일로 합성 항산화제 보다 그 효과가 높았으며 각 추출물들에서는 첨가량이 많아짐에 따라 반드시 항산화 효과가 높아지는 것은 아니였다. 또한 <Table 4>는 용매 추출물의 항산화 효과를 비교하기 위하여 공액 이중산 함량을 각 시료 별로 측정한 결과이며 각 추출물의 항산화 효과는 과산화물기와 유사한 경향으로 나타났다. 위의 결과를 통하여 초피의 추출물은 유지에 대하여 항산화 효과가 있음이 인정되었으며 천연물의 추출물이라는 점에서 그 의의가 있

다고 사료된다.

4. 항균성 검색

초피의 용매별 추출물을 5%로 희석하여 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Listeria monocytogenes*에 paper disc agar diffusion법을 이용하여 항균성을 측정한 결과는 MEex 추출물은 *Staphylococcus*와 *Listeria*에서, EAex은 *Salmonella*와 *Pseudomonas*에서 slight inhibition의 항균력을 나타내었다. MEex은 Gram 양성균, EA ex은 Gram 음성균에서만 항균 효과를 보여주었다. 또한 HE과 WAex은 *Pseudomonas*에서 약한 항균력을 나타내었고 WAex의 경우 *Listeria*에서도 유사한 경향을 보여주었다. CHex은 6가지 균주 모두에서 moderate inhibition의 항균력을 나타내었으며 그 중에서도 *Salmonella*, *Pseudomonas*에 효과적이고 Bu추출물은 *Staphylococcus*를 제외한 모든 균주에서 heavy inhibition의 항균력을 나타내었다.<Table 5>

초피 추출물의 항균력 측정 결과, CHex와 BU ex는 Gram 음성과 양성균 모두에서 효과가 나타났으며, 다른 추출물에 비하여 항균효과도 우수하였으므로 이 두 추출물의 식품 보존제로써의 유용성이 충분하다고 사료된다.

5. 관능검사

초피가 식품 첨가물로써 사용 가능성을 검토하기 위하여 육완자전에 각각 0.1, 0.2, 0.3%를 첨가하여 제조 후 관능검사를 실시한 결과는 <Table 6>과 같다. 초피를 넣은 육완자전은 돼지 고기 냄새가 좀 덜 나는 것으로 평가되었으나, 유의적이지 못했으며, 전체적인 기호도는 초피를 넣지 않은 것과 초피를 0.1% 첨가한 것이 점수의 차이를 나타내지 않아 ($P<0.05$) 초피를 사용하여도 기호도에 악 영향을 미치지 않는 것으로 보아 육완자전 제조시 초피의 사용 가능성을 시사하였다.

<Table 4> Conjugated dienoic acid contents(%) of the corn germ oils containing various concentrations of the Chopi extracts and other antioxidants being stored at 60±2°C for 30 days

Sample	Concentration(%)	Storage periods(days)									
		3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control		0.53	0.7	1.23	1.27	2.02	2.44	2.91	3.71	4.29	6.38
TOC	0.02	0.31	0.49	1.04	1.14	1.41	1.84	5.24	7.53	8.40	14.41
BHT	0.02	0.24	0.39	0.82	0.83	1.04	0.82	3.67	4.94	6.67	8.82
MEex	0.02	0.26	0.42	0.85	0.87	1.11	1.47	3.79	5.06	9.97	16.64
	0.1	0.18	0.29	0.81	0.71	1.03	1.48	3.31	3.64	4.85	10.33
	0.2	0.2	0.39	0.88	0.86	1.14	1.51	3.58	6.25	8.83	11.88
HEex	0.02	0.24	0.46	0.86	1.04	1.09	1.5	3.3	4.79	6.44	13.90
	0.1	0.26	0.45	0.89	0.79	1.08	1.54	3.13	4.99	5.01	7.61
	0.2	0.26	0.50	0.95	1.00	1.09	1.60	3.32	4.25	4.71	5.41
CHex	0.02	0.3	0.36	0.91	0.87	1.17	1.62	4.11	6.75	8.66	16.49
	0.1	0.26	0.45	0.91	1.13	1.13	1.52	3.74	5.68	7.35	12.73
	0.2	0.28	0.48	0.96	0.87	1.22	1.68	3.73	4.55	5.83	12.12
EAex	0.02	0.24	0.44	0.90	0.87	1.17	1.52	4.16	5.85	7.92	14.30
	0.1	0.28	0.51	0.83	0.85	1.05	1.40	3.08	4.25	4.69	6.48
	0.2	0.31	0.51	0.89	0.78	1.14	1.56	3.06	4.11	4.70	6.63
BUex	0.02	0.25	0.45	0.77	0.76	0.98	1.43	3.10	4.50	6.33	12.95
	0.1	0.25	0.45	0.81	0.84	1.04	1.41	3.62	5.57	4.89	8.24
	0.2	0.30	0.46	0.97	0.95	1.19	1.59	4.00	6.30	6.10	11.93
WAex	0.02	0.26	0.49	0.91	1.05	1.31	1.50	3.31	5.04	7.11	12.52
	0.1	0.27	0.52	0.89	0.92	1.04	1.58	3.71	4.65	6.14	9.93
	0.2	0.28	0.48	0.98	1.09	1.09	1.70	4.22	7.92	7.46	16.36

<Table 5> Antimicrobial activity of the extracts of Chopi on several microorganisms

microorganisms	Extracts	MEex	HEex	CHex	EAex	BUex	WAex	CA
<i>Eschria coli</i> (-)	-	-	+	-	+++	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	++	+	+++	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	++	+	+++	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	+	-	+	-	+++	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-	+	-	+++	+	-	-

- : no inhibition (- 8mm)

+ : slight inhibition (8-10mm)

++ : moderate inhibition (10-12mm)

+++ : heavy inhibition (12mm -)

IV. 요 약

천연첨가물검색의 일환으로 초피의 용매 추출물의 항산화성과 항균성을 실험하고, 소비자의 수용도를 검토하기 위하여 초피를 첨가한 육원전의 관능검사를 실시한 결과는 다음과 같았다.

1. 초피 용매 추출물들의 옥수수유에 대한 항산화

효과는 가장 많이 사용되는 합성항산화제인 BHT과 같은 농도에서 BUex는 월등히 높았으며, MEex, EAex는 유사한 경향을 나타냈다.

2. 초피의 용매 추출물의 종 CHex와 BUex가 *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* 및 *Listeria monocytogenes* 모두에 대하여 항균효과를

<Table 6> Result of the preference test for the yugwanzageon made with Cophi powder

Character	Sample	CP0	CP1	CP2	CP3
Smell		4.133	4.533	4.000	3.880
Chewiness		4.866 ^a	4.533 ^{ab}	3.333 ^{bc}	3.866 ^c
Overall quality		5.133 ^a	4.933 ^{ab}	4.067 ^{bc}	3.533 ^c

Mean with the same letters are not significantly different ($P<0.05$)
abc mean Duncan's multiple range test

CP0 : Yugwanzageon with no cophi powder.

CP1 : Yugwanzageon with 1% cophi powder.

CP2 : Yugwanzageon with 2% cophi powder.

CP3 : Yugwanzageon with 3% cophi powder.

보였다.

3. 초피 가루를 식품에 첨가하여 제조한 육완자전에 대한 소비자의 기호도를 검사한 결과는 0.1%를 첨가한 경우는 초피를 첨가하지 않은 본래의 육완자전과 같은 수준의 기호도를 나타내므로써 ($P<0.05$) 초피 가루에 의한 이미(異味)가 없어 육완자전 제조에 초피가루를 사용 할 수 있을 것으로 사료된다.

■ 참고문헌

- Beuchut, L.R. and Golden, D.A. : Antimicrobial occurring naturally in food. Food Technol, 43: 134, (1989)
- Kye Taek Lim, Jae Han ShimAntioxidative Effects of Ethanol Extracts from Rhus Verniciflua Stokes (RVS) on Mouse Whole Brain Cells Korean J. Food Sci. Technol., 29(6): 1248-1254, (1997)
- Jang, E. H., Pyo, Y. H. and Ahn, M.S. : Antioxidant effect of omija(Schizandra chinesis Baillon)extracts. Kor J. Soc. Food Sci., 12(3): 372-376, (1996)
- In Chang Jung , Shin Park , Kyung Sook Park , Hyo Cheol Ha , Seon Hee Kim , Yong Il Kwon and Jae Sung Lee Antioxidative Effect of Fruit Body and Mycelial Extracts of Pleurotus ostreatus. Korean J. Food Sci. Technol., 28(3): 464-469, (1996)
- Cho S. Y., You B. J., Chang M. H. , Lee S. J., Sung N. J. and Lee E. H. :Screening for Antimicrobial Compounds in Unused Marine Resources by the Paper Disk Method. Korean J. Food Sci. Technol., 26(3): 26-165, (1994)
- Lee S. W. : Korean food in history, Gyomoonsa, Seoul, p60, (1984)
- Yoon S. S. : The history and cooking in Korean foods, Soohagsa. Seoul, p59, (1986)
- Lee, S.I. : Bonchohak, Sooseowon, p 255, (1981)
- Chung, S.K., Jung, J.D. and Cho, S.H. Antimicrobial activity of Chopi(*Zanthoxylum piperitum* DC.) extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28(2): 371-377, (1999)
- Kim, Y.D., Kang, S.K., Choi, O.J., Lee, H.C., Jang, M.J. and Shin, S.C.: Screening of antimicrobial activity of Chopi(*Zanthoxylum piperitum* A.P. DC.)extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 29(6): 1116-1122, (2000)
- Park, J.H. Cha, W.S., Oh, S.L., Cho, Y. J., Lee, W.Y. Hur, H.O. Yang, J.M. and Cho, S.G. : Volatile flavor components of Wild Chopi(*Zanthoxylum piperitum* DC.) leaf. Korean J. Food and Nutr., 13(5): 483-489, (2000)
- Kim, Y.D., Kang, S.K. Choi, O.J. Jung, H.S., Jang, M.J. Seo, J.S. and Ko, M.S.: Change in the chemical compositions of chopi(*Zanthoxylum piperitum* DC.) according to varieties and picking date. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30(2): 199-203, (2001)
- Ko, Y.S. and Han, H.J. :Chemical constituents of Korean chopi(*Zanthoxylum piperitum* DC.) and sancho(*Zanthoxylum schinifolium*). Korean J. Food Sci. Technol, 28(1): 19-27, (1996)
- A.O.A.C. : Official methods of analysis, 15th ed., Assosiation of official analytical chemists Society, Washington,D.C., 994, (1990)
- Kim, W. J. : Extraction and Identification of functional compounds, Korean J. Food Sci. Technol, 34(4): 22-28, (2001)
- Charles R. Caldwell., Oxygen Radical Absorbance Capacity of the Phenolic Compounds in Plant Extracts Fractionated by High-Performance Liquid Chromatography, Analytical Biochemistry, 293: 232-238, (2001)
- A.O.C.S. : Official and tentative methods, 3rd ed. American oil chemists Society Illinois, (1978)
- Ahn, M.S. : Effects of reaction temperature, time and persence of organic acids or their salts on the antioxidants activity of caramelization mixture, Ph.

- D. thesis, Korea University, (1984)
- 19) davisdon, P.M and Parish, M.E. : Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. Food Techonol., 1: 148, (1989)
- 20) Judie, D.D. : Antimicrobial agents. Food Technol. 40: 104-110, (1986)
- 21) Kim G.O. and Lee Y.C. : The evaluation of food Hagyeonsa, p353, (1995)