

工學碩士 學位論文

指導教授 孫 鍾 然

녹차와 로즈마리 추출물의 항산화 및 상승효과

Antioxidant and Synergist Effect of Green Tea and
Rosemary Extract

2007年 2月

韓京大學校 産業大學院

食品生物工學科

李 浩 連

工學碩士學位論文

녹차와 로즈마리 추출물의 항산화
및 상승효과

Antioxidant and Synergistic Effects of Green Tea and
Rosemary Extract

2007年 2月

韓京大學校 産業大學院

食品生物工學科

李 浩 連

녹차와 로즈마리 추출물의 항산화 및 상승효과

Antioxidant and Synergistic Effects of Green Tea and
Rosemary Extract

指導教授 孫 鍾 然

이 論文을 工學碩士論文으로 提出함

2006年 12月

韓京大學校 産業大學院

食品生物工學科

李 浩 連

李 浩 連의 碩士學位 論文을 認准함

2006年 12月

審査委員長 黃 聖 淵 印

審査委員 金 永 萬 印

審査委員 孫 鍾 然 印

ABSTRACT

Antioxidant and Synergistic Effects of Green Tea and Rosemary Extract

Lee, Ho Yeoun

Department of Food and Biotechnology

The Graduate School of Technology

Hankyong National University

In the present study, antioxidant and synergistic effects of green tea and rosemary extract was investigated. The green tea and rosemary extract were added to linoleic acid substrate at concentration of 0.02%, respectively. Also the synergistic effects of green tea or rosemary extract(at 0.01%) with commercial antioxidant(BHT, BHA and tocopherol at 0.01%) were also studied, and antioxidant activities were monitored by measuring peroxides value.

The results were as follows :

1. Total phenolic contents of green tea extract and rosemary extract were 87.2% and 4.8%, respectively. And total flavonoid contents of

green tea extract and rosemary extract were 40.6% and 4.5%, respectively.

2. Electron donating abilities of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol at concentration of 1000ppm were 71.1%, 27.9% and 78.5%, respectively.

3. Antioxidant activities in linoleic acid substrates were in order of BHA > BHT > mixed tocopherol > green tea extract > rosemary extract .

4. The green tea extract showed very strong synergistic effect mixed tocopherol . The rosemary extract showed synergistic effect with mixed tocopherol, BHA and BHT., but not showed with green tea extract.

5. The nitrite scavenging abilities of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol were 82.9% 1.0 % and 3.1%, respectively. The nitrite scavenging ability of green tea extract was very potent as compared with that of rosemary extract or mixed tocopherol.

목 차

ABSTRACT(영문요약)

List of Figures(그림목차) i

I. 서 론 1

II. 재료 및 방법 5

1. 실험재료 5

2. 실험방법 5

(1) 총페놀 함량 5

(2) 총 플라보노이드 함량 5

(3) DPPH radical 소거효과 측정 6

(4) 리놀레인산기질에서의 녹차 추출물 및 로즈마리 추출물의 항산화
효과 측정 6

(5) 리놀레인산 기질에서의 녹차 추출물 및 로즈마리 추출물의 상승
효과 측정 7

(6) 과산화물가의 측정 7

(7) 아질산염 소거능 8

III. 결과 및 고찰 9

1. 녹차 및 로즈마리 추출물의 총페놀 및 총 플라보노이드 함량 9

2. 녹차, 로즈마리 추출물의 DPPH radical 소거능 측정 9

3. 리놀레인산 기질에 대한 녹차 추출물의 항산화효과 13

4. 로즈마리 추출물의 항산화효과	15
5. Mixed tocopherol의 항산화효과	17
6. BHA의 항산화효과	19
7. BHT의 항산화효과	21
8. 녹차추출물에 대한 일부 항산화제의 상승효과	24
9. 로즈마리 추출물에 대한 일부 항산화제의 상승효과	26
10. 녹차, 로즈마리 추출물의 아질산염 소거능	29
 IV. 요약 및 결론	 31
 V. 참고문헌	 33

List of Figures

Fig. 1. Total phenol and flavonoid content of green tea and rosemary extract	11
Fig. 2. Electron donating ability of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol	12
Fig. 3. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing green tea extract during autoxidation period at 40°C	14
Fig. 4. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing rosemary during autoxidation period at 40°C	16
Fig. 5. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing mixed tocopherol during autoxidation period at 40°C	18
Fig. 6. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing BHA during autoxidation period at 40°C	20
Fig. 7. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing BHT during autoxidation period at 40°C	22

Fig. 8. Induction periods of linoleic acid substrate containing green tea, rosemary extract and commercial antioxidants during autoxidation period at 40°C	23
Fig. 9. Changes of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing green tea extract and commercial antioxidants during autoxidation period at 40°C	25
Fig. 10. Changes of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing rosemary and commercial antioxidants during autoxidation period at 40°C	27
Fig. 11. Induction periods of linoleic acid substrate containing green tea and rosemary extract with commercial antioxidants at 40°C	28
Fig. 12. Nitrite scavenging ability of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol	30

I. 서론

지질의 산화는 식품품질저하의 중요한 화학적 요인의 하나이다. 특히 불포화지방을 다량 함유하고 있는 식품은 쉽게 산화되어 과산화물을 형성하고, 산화분해와 중합반응에 의해 산패취의 발생과 독성을 나타낸다⁽¹⁻³⁾.

또한 생체 내에서는 지질의 과산화에 관여하는 활성 라디칼과 활성 카아보닐 화합물들로부터 유래된 라디칼이 DNA의 손상과 돌연변이, 발암, 노화 등에 관여한다⁽⁴⁻⁶⁾.

식품의 저장, 보존의 측면에서 산화방지 수단은 다양하게 시도되고 있지만 항산화제의 사용이 가장 일반적이다.

식물체에 일반적으로 함유되어 있는 토코페롤류는 천연 항산화제로 널리 이용되고 있으나, 합성 항산화제들에 비해 항산화 효과가 상당히 떨어져 식용유지의 산화안정성을 크게 향상시키지 못하며 가격이 비싸기 때문에 단독으로 사용하기 어렵다는 단점을 가지고 있다. 더욱이 대부분의 천연 항산화물질은 합성 항산화제에 비해 그 항산화 효과가 상당히 떨어지기 때문에 tocopherol를 제외하고 실용적으로 사용되는 경우는 별로 없는 실정이다. 1950년대 부터 항산화 효과가 우수한 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene) 등의 항산화제가 개발되어 많은 나라에서 사용되어 왔다.

그러나 최근에 BHT나 BHA 등의 합성 항산화제는 실험동물에 암이나 기형을 유발한다는 연구 결과들이 보고되면서 합성 항산화제의 안전성에 대한 법적 사용규제가 더욱 강화됨에 따라 안전성이 확보된 식품재료로부터의 천연 항산화제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다⁽⁷⁻⁹⁾.

토코페롤류는 식물체 특히 유지의 함량이 많은 종자에 다량 존재하는 대표적인 천연 항산화제이다. 토코페롤은 식용유지, 지방질 식품의 자동산화에서 활성 유리 라디칼 제거제로서 작용하여 유지의 산화를 억제한다. 토코페롤은 α -, β -, γ -, δ -토코페롤을 비롯한 7개의 동족체가 있으며 그의 항산화력은 α - < β - < γ - < δ -토코페롤의 순서로 증가하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁰⁾.

그러나 천연 항산화제로서의 인체에 대한 안전성은 있으나 합성 항산화제에 비해 그 효과가 떨어지고, 가격이 높아 단독으로 사용이 어렵다. 따라서 다른 상승제와의 병용에 의해 항산화 효과를 높일 수 있다.

차잎 중에는 폴리페놀 성분이 10-25%로 비교적 많이 함유되어 있으며, 식용유지에 대한 항산화 작용 이외에 고혈압과 동맥경화의 억제 작용, 과산화지질의 생성 억제에 의한 노화예방, 중성지질의 생성억제에 따른 비만 방지, 수은이나 카드뮴과 같은 유독성의 중금속과 결합과 쉽게 결합하거나 담배의 니코틴과 같은 알칼로이드 성분과 쉽게 결합하여 해독작용을 나타내는 등 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다⁽¹¹⁻²⁰⁾.

차 중에 함유되어 있는 대표적인 생리활성 물질인 카테킨류는 차잎 중에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물의 75% 이상을 차지하고 있는 중요성분이며, 주요 카테킨류로는 EC ((-)-Epicatechin), ECg ((-)-Epicatechin gallate), EGC ((-)-Epigallocatechin), EGCg ((-)-Epigallocatechin gallate), GC (gallocatechin)가 있다⁽²¹⁻²³⁾.

일반적으로 카테킨류는 3위의 갈레이트기(gallate group) 및 B환의 5위의 수산기가 항산화력 발현에 관여하는 것으로 알려져 있다. 특히 B환의 5위에 수산기가 붙어 있는 EGC, EGCg는 B환의 5위의 수산기

가 없는 EC, ECg에 비하여 3배 정도 강한 것에서 B환의 수산기의 수가 항산화 활성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁽²⁴⁾.

카테킨류의 주요한 항산화작용은 라디칼의 포획, 즉 수소를 공여해주는 것에서 기인한다. 즉 카테킨류의 B환의 수산기가 수소원자를 라디칼에 공여하여 라디칼의 연쇄반응을 정지시키고 그 자신은 활성이 없는 라디칼이 되어 다른 라디칼과 상호반응에 의해 안정한 화합물이 되는 것으로 알려져 있다. 또한 과산화물 촉진제인 구리, 철 등의 금속과 킬레이트(chelate)를 형성하여 라디칼 발생원인 금속을 제거하므로 라디칼 발생을 억제시키는 항산화작용이 있다⁽²⁵⁾.

향신료는 식품에 향기와 매운맛을 부여하는 이외에 항균성, 방부성 및 항산화성이 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 로즈마리의 중요성분인 carnosic acid와 carosol은 다른 향신료나 약초의 추출물과는 달리 향이나 색이 거의 없고 맛도 거의 없기 때문에 각종 식품 항산화제로 사용하기 쉽다⁽²⁶⁻³⁵⁾.

로즈마리(*Rosemarinus officinalis* L.)는 보라색 꽃을 피며 지중해 연안에서 자생하는 잡목의 일종으로 소나무 잎처럼 뽀족한 잎에 장뇌와 비슷한 강한 향을 갖는 허브이다. 잎을 그대로 쓰거나 말려서, 또는 말린 것을 갈아서 사용하며 말린 것은 대부분 육류요리에서 향을 내기 위해 사용하며 특히 양고기와 돼지고기를 굽거나 졸이는데 많이 쓰인다.

로즈마리는 예로부터 향수, 약으로 사용되어 왔으며 역한 냄새를 제거하는 소취제의 역할, 상큼한 향을 내는 부향제 역할, 살균작용과 항균작용 및 항산화 기능 등이 있어 식품의 보존성을 높이는 것으로 알려져 있다⁽³⁶⁾.

이상의 차류의 카테킨이나 로즈마리와 같은 향신료에 유기산, 토코

페롤 및 아스כול빈산 등을 참가할 경우 항산화효과가 상승된다고 보고되고 있다. 특히 아스כול빈산과 병용시 유지의 자동산화에서 토코페롤은 peroxide radical을 제거하고 아스כול빈산은 토코페롤의 수소공여에 의해 생성된 tocopherol radical을 다시 환원 재생시키는 작용을 함으로서 항산화 효과를 높이는 작용이 있다^(37,38).

한⁽³⁹⁾은 어유의 산화안정성을 높이기 위해 아스כול빈산, 토코페롤, 레시틴 등 세가지 성분을 함께 사용하여 이들에 의한 유도기간의 연장 즉, 항산화 효과가 각각 단독으로 사용되었을 경우 또는 2성분 항산화제 시스템의 경우보다 3성분 항산화제 시스템(ternary antioxidant system)에서 더 좋은 항산화 효과를 나타냈다고 보고하였다.

Rosemary, sage, oregano와 ginger의 헥산 추출물에 카테킨 첨가시 oregano와 ginger에서 강한 상승효과를 보였으며, ascorbic acid 첨가시에는, rosemary와 sage에서 상승효과가 강하게 나타났다⁽⁴⁰⁾.

Banias 등⁽⁴¹⁾은 돼지기름에 oregano, thyme, marjoram, dittany, rosemary, sage 같은 향신료와 BHA, BHT, 구연산 α -토코페롤을 혼합하여 첨가하였을 때, α -토코페롤과는 항산화 상승효과가 없으나, 구연산과 marjoram은 항산화 상승효과를 보인다고 하였다.

따라서 본 연구에서는 현재 천연 항산화제로써 시판되고 있는 녹차 및 로즈마리 추출물의 농도별 항산화 효과를 조사하고 기존의 천연 항산화제인 tocopherol 및 합성항산화제인 BHA, BHT 등과 병용하여 첨가하였을 때의 상승효과를 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 항산화제로는 현재 시판되고 있는 녹차추출물 (Assay 98%, SDBNI Co, Korea), 로즈마리추출물 (Assay 18%, Naturex Co, USA) 및 mixed tocopherol (Assay 70%, Cognis Co, USA) 이었으며, 항산화 효과에 대한 기질로서는 리놀레인산(Sigma Co, USA)을 사용하였다. 합성 항산화제는 BHT (Sigma Co, USA) 및 BHA (Sigma Co, USA)를 사용하였다.

2. 실험방법

(1) 총페놀 함량

총페놀 함량은 Folin-Dennis법⁽⁴²⁾에 의하여 분석하였다. 즉, 캡튜브에 증류수 7 mL씩 넣고 시료를 1 mL 넣은 후 Folin-Dennis 시약 0.5 mL를 첨가 후 정확히 3분 후에 sodium carbonate anhydrous 포화용액 1 mL 넣는다. 그리고 증류수 0.5 mL를 넣은 후 UV-spectrophotometer 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액과 비교하여 총페놀 함량을 구하였다. 표준용액으로는 tannic acid(Sigma, USA)를 사용하였으며, 각각 25, 50, 75 및 100 ppm농도로 표준곡선을 만들었다.

(2) 총 플라보노이드 함량⁽⁴³⁾

총 플라보노이드 함량은 시료를 일정량 취한 후 50% methanol용액 5 mL로 정용한 시료 용액 1 mL와 diethylene glycol 10 mL를 혼합하고

여기에 1 N-NaOH용액 1 mL 가하여 잘 혼합한 후 37℃에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 naringin (Sigma co., St. Louis, USA)을 이용하여 작성하였다.

(3) 전자공여능 측정(electron donating ability, EDA)

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 각 시료의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical에 대한 소거효과 측정하였다⁽⁴⁴⁾. 즉, 흡광도 값이 0.95~0.99의 DPPH solution 3 mL과 시료 0.15 mL 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 516 nm에서 UV/Vis spectrophotometer (TU-1800, U.S.A)로 흡광도를 측정하여, DPPH radical 소거효과를 다음 식에 의하여 측정하였다.

$$DPPH \text{ 라디칼 소거능} = [1 - \frac{SA}{CA}]$$

SA : Sample absorbance

CA : Control absorbance

(4) 리놀레인산기질에서의 녹차추출물 및 로즈마리추출물의 항산화 효과 측정

녹차추출물, 로즈마린 추출물을 소량의 메탄올에 녹인 후 linoleic acid (Sigma Co. Ltd., U.S.A.)에 0.005%, 0.01% 및 0.02% 농도로 각각 첨가하였다. 각각의 항산화제가 농도별로 첨가된 기질은 각각 100 mL의 비이커에 50 g씩 분취하여 40±1℃를 유지하는 항온기에 저장하면서 일정간격으로 과산화물가(AOCS Official Method 8-58)를 측정하였다. 또한 기존의 천연 항산화제 중 천연 토코페롤 (mixed tocopherol), BHA 및 BHT의 항산화효과도 위와 동일한

방법을 사용하여 비교 조사하였다. 유도기간은 과산화물가 30 meq/kg oil 이 될 때까지 요구되는 시간으로 정하였다.

(5) 리놀레인산기질에서의 녹차추출물 및 로즈마리추출물의 상승효과 측정

리놀레인산기질에서의 일부 페놀성 화합물들에 대한 기존 항산화제와의 상승효과를 비교하기 위해 녹차추출물 또는 로즈마리 추출물 (0.01%)에 대한 0.01% 토코페롤, BHA 및 BHT의 상승효과를 비교하였다. 상승효과는 Economou 등⁽⁴⁵⁾이 보고한 다음 식에 의해 계산하였다. 계산된 수치가 0보다 크면 상승효과가 있는 것이고, 0보다 작으면 없는 것으로 계산하였다.

$$(IP_M - IP_C) - (IP_1 - IP_C) - (IP_2 - IP_C)$$

IP_M : 항산화제, 1과 2를 병용 첨가구의 유도기간

IP_1 : 항산화제 1를 병용 첨가구의 유도기간

IP_2 : 항산화제 2를 병용 첨가구의 유도기간

IP_C : 대조구의 유도기간

(6) 과산화물가의 측정

과산화물가는 AOCS 방법⁽⁴⁶⁾으로 측정하여 meq/kg oil로 나타냈다. 즉, 시료 용액에 KI (potassium iodide)를 가하여 I_2 를 유리시켜 I_2 의 농도를 알고 있는 $Na_2S_2O_3$ 표준 용액으로 적정한 후 과산화물의 양을 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{POV}(\text{meq/kg oil}) = \frac{(A - B) \times F \times N}{S} \times 100$$

A : 본 실험의 0.01N Na₂S₂O₃ 표준 용액의 소비량 적정치(mL)

B : 바탕 실험의 0.01N Na₂S₂O₃ 표준 용액의 소비량 적정치(mL)

F : 0.01N Na₂S₂O₃ 표준 용액의 농도 계수

S : 시료 채취량(g)

N : Na₂S₂O₃ 표준 용액의 규정 농도

(7) 아질산염 소거능

아질산염 소거작용은 Gray와 Dugan의 방법⁽⁴⁷⁾에 의하여 측정하였다. 즉 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 일정농도의 시료 1 mL를 가하고 0.1N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정하여 다음 총량을 10 mL로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간반응시킨 후 각 반응용액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid 와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용직전에 조제) 0.4 mL 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광 광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산량을 구하였다. 공 시험은 Griess시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 상기와 동일하게 행하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{a - c}{b} \right) \times 100$$

N : 아질산염 소거율

a : 1mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후의 흡광도

b : 1mM NaNO₂ 용액의 흡광도

c : 시료의 흡광도

III. 결과 및 고찰

1. 녹차와 로즈마리 추출물의 총페놀 및 총 플라보노이드 함량

녹차와 로즈마리 추출물의 총페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같았다. 녹차 추출물과 로즈마리 추출물의 총페놀 함량은 각각 87.2% 및 4.8%으로, 녹차추출물의 총페놀 함량은 로즈마리추출물의 약 18.2 배 높은 것으로 나타났다. 한편 녹차와 로즈마리 추출물의 총 플라보노이드 함량은 각각 40.6% 및 4.5%으로 나타났다.

이상의 결과에서 녹차추출물의 경우, 총페놀성 물질 중의 약 0.5% 정도가 플라보노이드 성분이며, 로즈마리 추출물의 경우, 총페놀성 물질 중의 약 0.9 % 정도가 플라보노이드 성분으로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

2. 녹차와 로즈마리 추출물의 DPPH radical 소거능 측정

항산화물질의 가장 특징적인 역할이 oxidative free radical과 반응하는 점을 이용하여 항산화능을 측정할 수 있다. DPPH는 안정한 free radical로 cysteine, glutathione과 같은 함황 아미노산과 ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy aromatic compound, aromatic amines 등에 의해서 환원되어 탈색되므로 항산화물질의 항산화능을 측정할 때 이 DPPH법이 편리한 방법으로 알려져 있다.

녹차, 로즈마리 추출물의 DPPH radical 소거능을 mixed tocopherol 과 비교하여 radical 소거능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같았다.

Fig 2에서 보는 바와 같이, 녹차 추출물 및 mixed tocopherol의 DPPH radical 소거능은 각각 1000ppm에서 각각 71.1%, 및 78.5%으로 강한 소거능을 보인 반면, 로즈마리 추출물은 27.9%로 매우 약한 소거

능을 보였다. 그러나 10,000ppm의 농도에서의 녹차 추출물, 로즈마리 추출물 및 mixed tocopherol의 DPPH radical 소거능은 각각 83.2%, 83.2% 및 81.5% 으로 모든 시료에서 강한 소거 작용을 나타냈다.

이상의 결과에서 녹차추출물의 라디칼 소거능은 mixed tocopherol 과 비슷한 강한 소거능을 갖고 있으며 로즈마리 추출물보다 상대적으로 높은 것을 알 수 있었다.

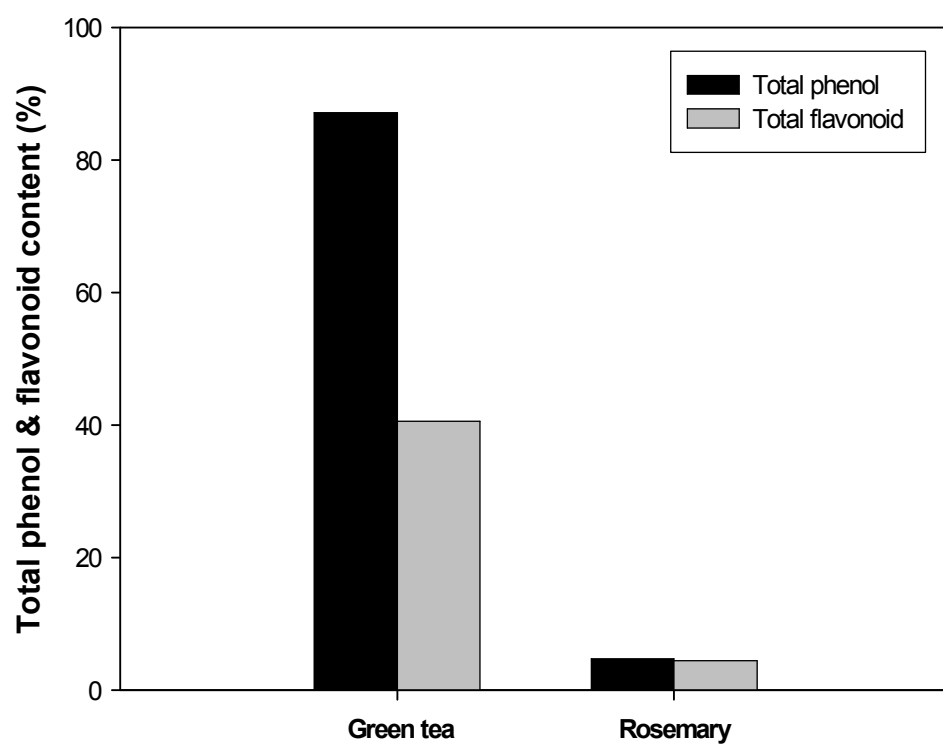


Fig. 1. Total phenol and flavonoid content of green tea and rosemary extract

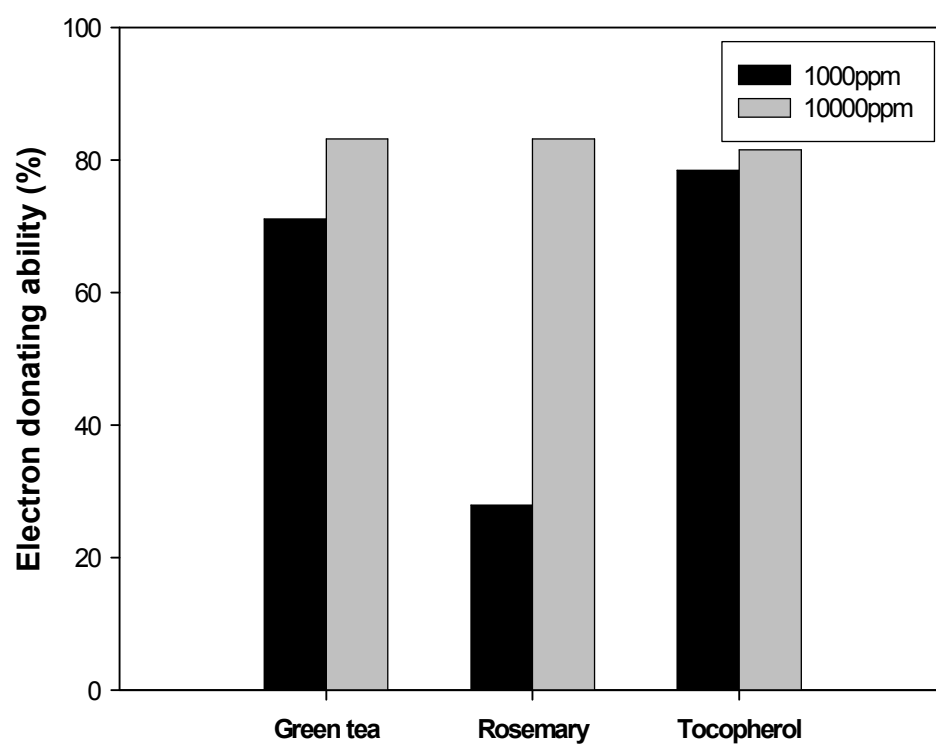


Fig. 2. Electron donating ability of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol

3. 리놀레인산기질에 대한 녹차 추출물의 항산화효과

녹차추출물을 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 3과 같았다. Fig. 3에서 보는 바와 같이, 녹차추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도 첨가구 및 대조구의 저장 72시간째의 과산화물가를 보면, 각각 63.2 meq/kg oil, 35.4 meq/kg oil, 6.4 meq/kg oil 및 100.7meq/kg oil로 첨가농도가 증가함에 따라 항산화효과도 증가되는 것으로 나타났다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간으로 설정하였을 때의 대조구 및 녹차추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02% 농도의 첨가구의 유도기간은 각각 25.6시간, 46.2시간, 65.1시간 및 123.1시간이었다.

녹차추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02%농도의 첨가구의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 1.8배, 2.5배 및 4.8배으로 산화안정성은 첨가농도가 증가함에 따라 증가되는 것으로 나타났다.

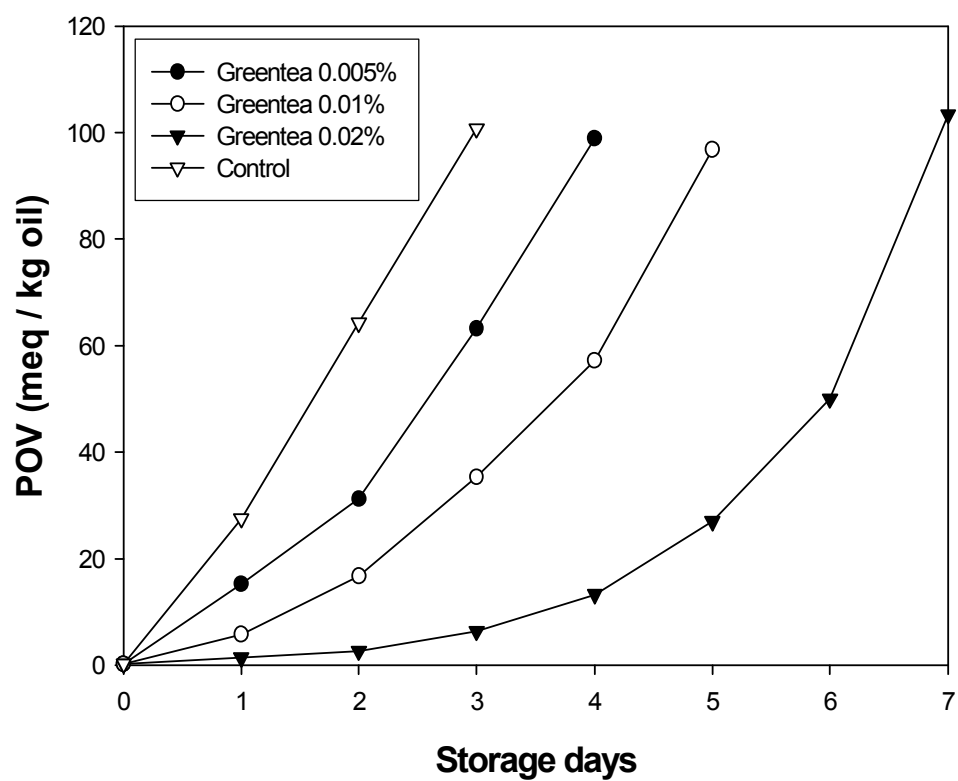


Fig. 3. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing green tea extract during autoxidation period at 40°C

4. 로즈마리 추출물의 항산화효과

로즈마리추출물을 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 4와 같았다. Fig. 4에서 보는 바와 같이, 로즈마리 추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도 첨가구 및 대조구의 저장 3일째의 과산화물가를 보면 각각 86.6 meq/kg oil, 89.9 meq/kg oil, 80.2 meq/kg oil 및 100.7meq/kg oil로 첨가농도가 증가함에 따른 항산화효과의 증가는 보이지 않았으며 로즈마리추출물의 항산화효과는 녹차추출물에 비해 약한 것으로 나타났다.

유효기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 설정하였을 때의 대조구 및 로즈마리 추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02%농도의 첨가구의 유효기간은 각각 25.6시간, 32.8 시간, 31.9 시간 및 35.0 시간이었다.

로즈마리 추출물 0.005%, 0.01% 및 0.02%농도의 첨가구의 유효기간의 비율은 대조구의 유효기간을 1로 하였을 때 각각 1.3배, 1.2배 및 1.4배 증가하였다.

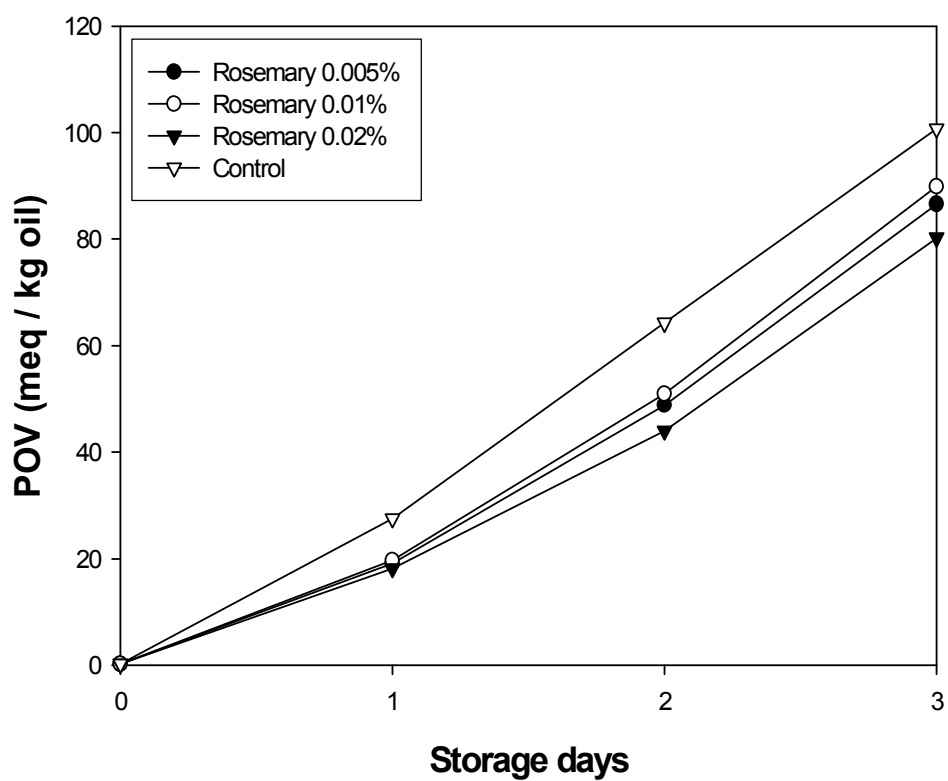


Fig. 4. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing rosemary extract during autoxidation period at 40°C

5. Mixed tocopherol의 항산화효과

Mixed tocopherol 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 5와 같았다.

Fig. 5에서 보는 바와 같이, mixed tocopherol 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도 첨가구 및 대조구의 저장 3일째의 과산화물가를 보면 각각 24.3 meq/kg oil, 14.8 meq/kg oil, 9.3 meq/kg oil 및 100.7meq/kg oil로 첨가농도가 증가함에 따라 항산화효과도 증가하였으며 로즈마리 추출물이나 녹차추출물보다 항산화효과가 우수한 것으로 나타났다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간으로 설정하였을 때의 대조구 및 mixed tocopherol 0.005%, 0.01% 및 0.02%농도의 첨가구의 유도기간은 각각 25.6 시간, 77.7시간, 94.5시간 및 145.9시간이었다.

Mixed tocopherol 0.005%, 0.01% 및 0.02%농도의 첨가구의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 3.0배, 3.7배 및 5.7배 증가하였다.

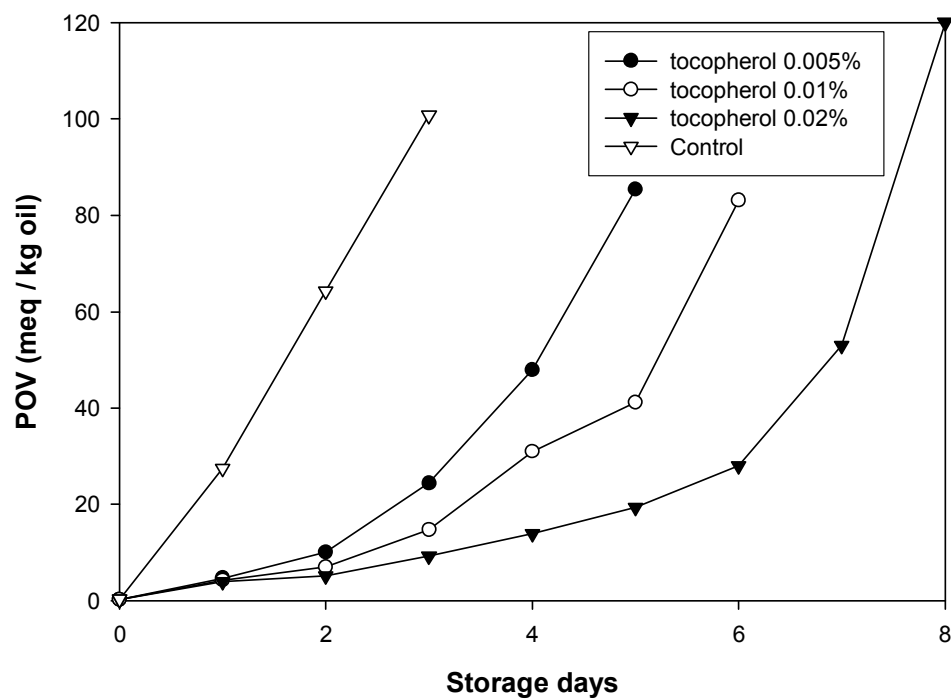


Fig. 5. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing mixed tocopherol during autoxidation period at 40°C

6. BHA의 항산화효과

BHA 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 6와 같았다. Fig. 6에서 보는 바와 같이, BHA 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도 첨가구 및 대조구의 저장 3일째의 과산화물가를 보면 각각 9.5 meq/kg oil, 5.4 meq/kg oil, 6.0 meq/kg oil 및 100.7 meq/kg oil로 첨가농도가 증가함에 따른 항산화효과의 증가는 보이지 않았으며 로즈마리추출물의 항산화효과는 녹차추출물에 비해 약한 것으로 나타났다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 설정하였을 때의 대조구 및 BHA 0.005% 및 0.01% 농도의 첨가구의 유도기간은 각각 25.6시간, 157.8시간 및 245.5시간이었다.

BHA 0.005% 및 0.01%의 첨가구의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 6.2배 및 9.6배 증가하였다.

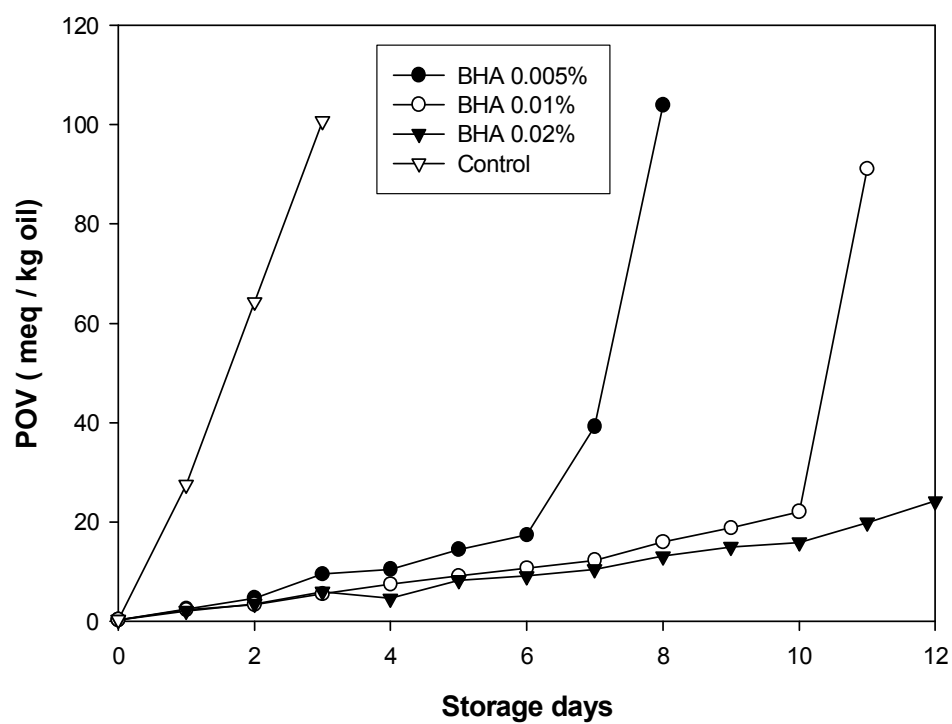


Fig. 6. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing BHA during autoxidation period at 40°C

7. BHT의 항산화효과

BHT 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도로 각각 첨가된 linoleic acid의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 7와 같았다. Fig. 7에서 보는 바와 같이, BHT 0.005%, 0.01% 및 0.02%의 농도 첨가구 및 대조구의 저장 3일째의 과산화물가를 보면 각각 86.6 meq/kg oil, 89.9 meq/kg oil, 80.2 meq/kg oil 및 100.7 meq/kg oil로 첨가농도가 증가함에 따른 항산화효과의 증가는 보이지 않았으며 로즈마리추출물의 항산화효과는 녹차추출물에 비해 약한 것으로 나타났다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 설정하였을 때의 대조구 및 BHT 0.005% 및 0.01% 농도의 첨가구의 유도기간은 각각 25.6시간, 108.8시간 및 184.6시간이었다.

BHT 0.005% 및 0.01% 농도의 첨가구의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 4.3배 및 7.2배 증가하였다.

이들 결과에서 첨가농도에 따른 항산화효과는 BHA의 경우 BHT보다 좋은 것을 알 수 있었다.

전체적인 항산화효과를 비교해 볼 때, 리놀레인산 기질에서의 항산화효과는 mixed tocopherol > 녹차 추출물 > 로즈마리 추출물의 순이었다. Mixed tocopherol, 녹차추출물 및 로즈마리 추출물의 항산화효과는 BHT 및 BHA보다 약한 것으로 나타났다.

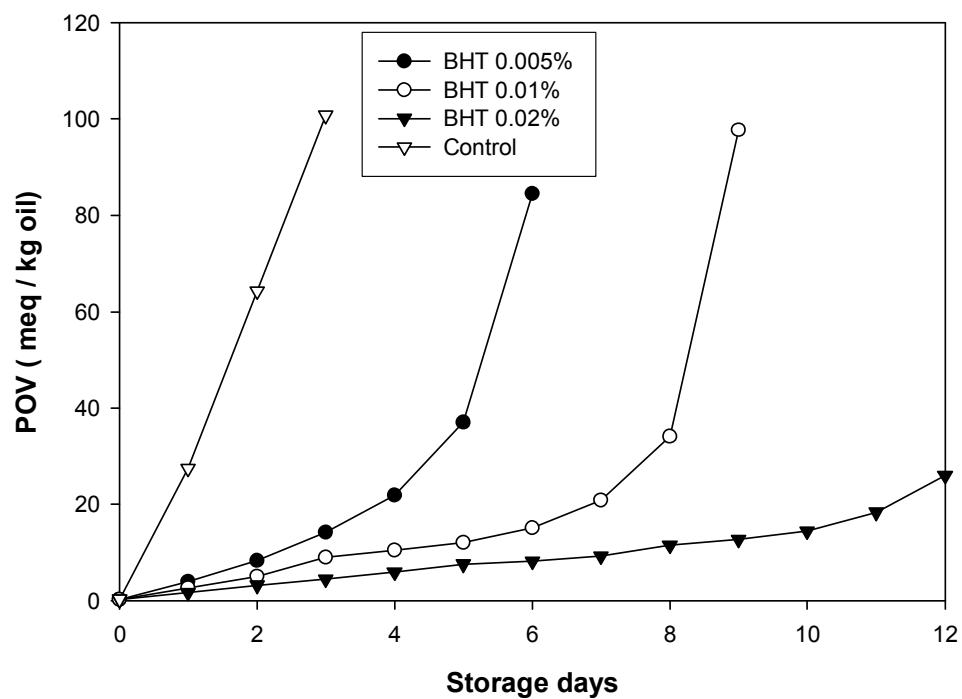


Fig. 7. Change of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing BHT during autoxidation period at 40°C

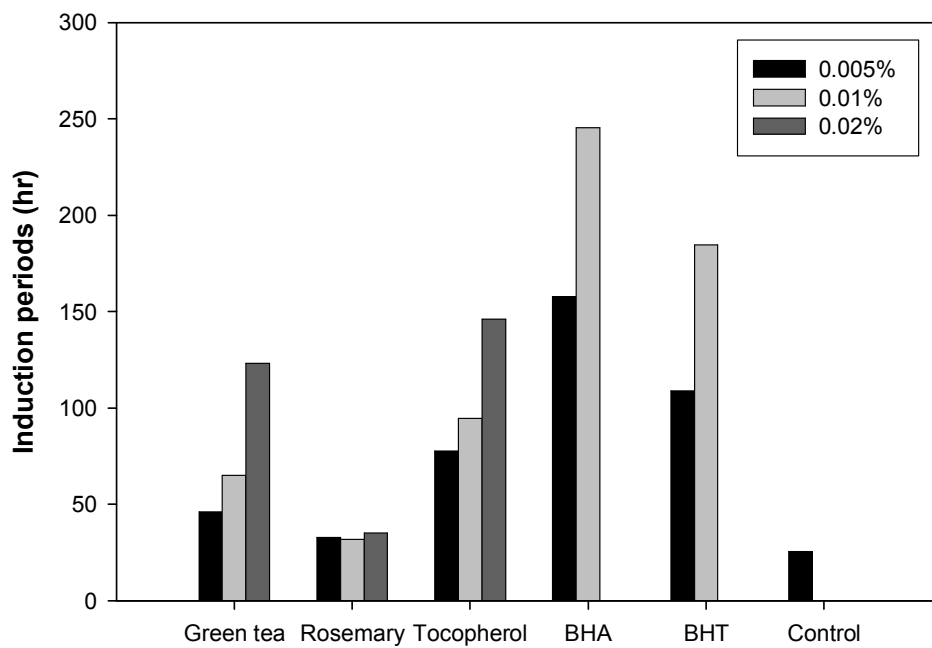


Fig. 8. Induction periods of linoleic acid substrate containing green tea, rosemary and commercial antioxidants during autoxidation period at 40°C

8. 녹차추출물에 대한 일부 항산화제의 상승효과

녹차추출물(0.01%)에 로즈마리추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT 0.01%를 병행하여 각각 첨가한 linoleic acid 기질의 과산화물가의 변화를 측정한 결과는 Fig. 9와 같았다. 저장 3일째의 대조구 및 녹차추출물에 로즈마리 추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT를 병행 첨가한 기질의 과산화물가는 각각 100.7 meq/kg oil, 37.0 meq/kg oil, 8.5 meq/kg oil, 3.4 meq/kg oil 및 9.4 meq/kg oil이었다.

이상의 결과에서, 녹차추출물(0.01%)에 로즈마리추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT 0.01%를 병행하여 각각 첨가한 경우, 녹차추출물 200 ppm만을 첨가한 경우보다 모두 강한 항산화효과를 보였다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 설정하였을 때의 대조구 및 녹차추출물에 로즈마리추출물, mixed tocopherol, BHT를 병행 첨가한 기질의 유도기간은 각각 25.6시간, 61.1시간, 195.1시간 및 206.2시간이었다.

녹차추출물에 로즈마리추출물, mixed tocopherol 및 BHT를 병행 첨가한 기질의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 2.4, 7.6 및 8.1이었다.

상승효과는 Economou 등이 보고한 식에 의해 계산한 결과, 녹차추출물에 로즈마리추출물, mixed tocopherol 및 BHT를 각각 병행 첨가한 기질의 값은 각각 -10.3, 61.2 및 -17.9이었다. 즉, 녹차추출물은 로즈마리추출물이나 BHT는 상승효과를 보이지 않았으나 mixed tocopherol과는 높은 상승작용을 갖는 것으로 나타났다.

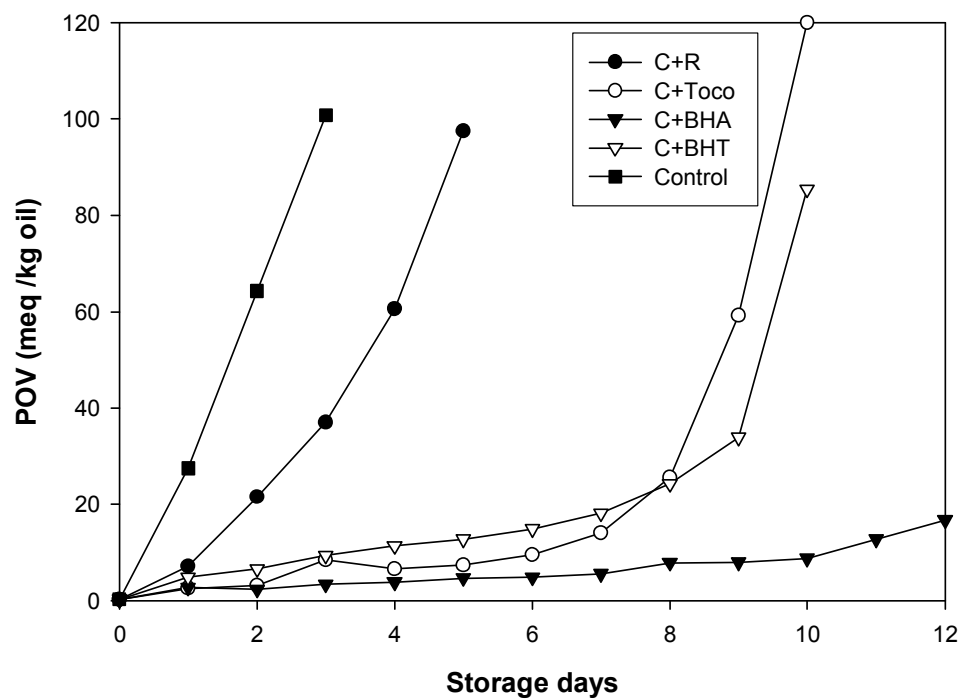


Fig. 9. Changes of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing catechin and commercial antioxidants during autoxidation period at 40 °C

9. 로즈마리 추출물에 대한 일부 항산화제의 상승효과

로즈마리 추출물(0.01%)에 녹차추출물, 토코페롤, BHA, BHT 0.01%를 병행하여 각각 첨가한 linoleic acid 기질의 과산화물가의 변화를 측정된 결과는 Fig. 10과 같았다. 저장 3일째의 대조구 및 로즈마리 추출물에 녹차추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT를 병행 첨가한 기질의 과산화물가를 보면 각각 100.7 meq/kg oil, 37.0 meq/kg oil, 14.4 meq/kg oil, 5.8 meq/kg oil 및 7.8 meq/kg oil이었다.

유도기간을 과산화물가가 30 meq/kg oil에 도달하는데 걸리는 시간(일)으로 설정하였을 때의 대조구 및 로즈마리 추출물에 녹차추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT를 병행 첨가한 기질의 유도기간은 각각 25.6시간, 61.1시간, 111.3시간, 255.1시간 및 194.0시간이었다.

로즈마리 추출물에 녹차추출물, mixed tocopherol, BHA, BHT를 병행 첨가한 기질의 유도기간의 비율은 대조구의 유도기간을 1로 하였을 때 각각 2.4, 4.3, 10.0 및 7.6이었다.

상승효과는 Economou 등이 보고한 식에 의해 계산한 결과, 로즈마리추출물에 녹차추출물, mixed tocopherol, BHA 및 BHT를 병행 첨가한 기질의 값은 각각 -10.3, 10.5, 3.3 및 3.1이었다. 즉, 로즈마리 추출물은 mixed tocopherol, BHT 및 BHA에 대해 상승효과를 나타냈으며, 특히 mixed tocopherol에 대해 가장 강한 상승작용을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 로즈마리 추출물은 녹차추출물에 대해서는 상승효과를 보이지 않았다.

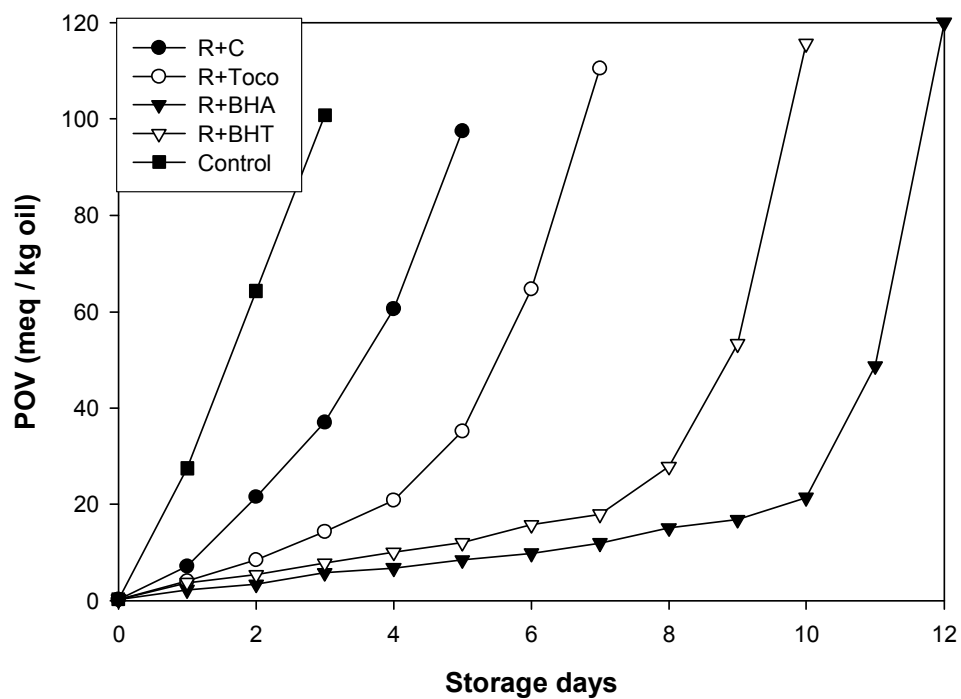


Fig. 10. Changes of the peroxide content of the linoleic acid substrates containing rosemary and commercial antioxidants during autoxidation period at 40°C

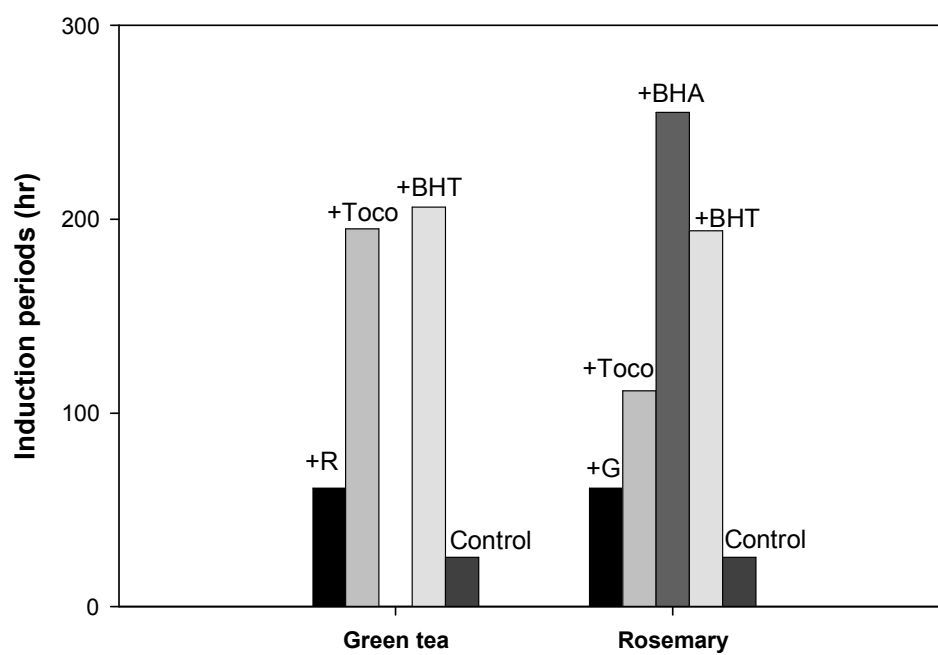


Fig. 11. Induction periods of linoleic acid substrate containing green tea and rosemary extract with commercial antioxidants at 40°C

10. 녹차, 로즈마리 추출물의 아질산염 소거능

발암에 관련된 물질로 알려진 nitrite는 독성을 가지고 있으며 nitrate도 체내 및 체외에서 효소작용에 의해 nitrite로 환원되기 때문에 일정 농도 이상 섭취할 경우 식품내의 amine류와 반응하여 발암물질인 nitrosamine을 생성하고 또한 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다^(62,63). Nitroso화 반응을 억제하거나 아질산염을 소거하는 물질은 일반적으로 아질산염의 소거에는 ascorbic acid, α -tocopherol, sulfur dioxide, maillard반응 생성물, 페놀성 화합물들이 이용된다^(64,65).

녹차, 로즈마리 추출물의 아질산염 소거능을 측정한 결과는 Fig. 12와 같았다.

Fig. 12에서 보는 바와 같이, 2500ppm에서 로즈마리 추출물 및 혼합 토코페놀의 아질산염 소거능은 각각 1.0% 및 3.1%인 반면, 녹차 추출물은 82.9%로 매우 높은 활성을 나타냈다. 10000ppm에서도 로즈마리 추출물 및 혼합 토코페놀의 아질산염 소거능은 각각 30.6% 및 28.7%인 반면, 녹차 추출물은 91.7%로 강한 활성을 나타냈다.

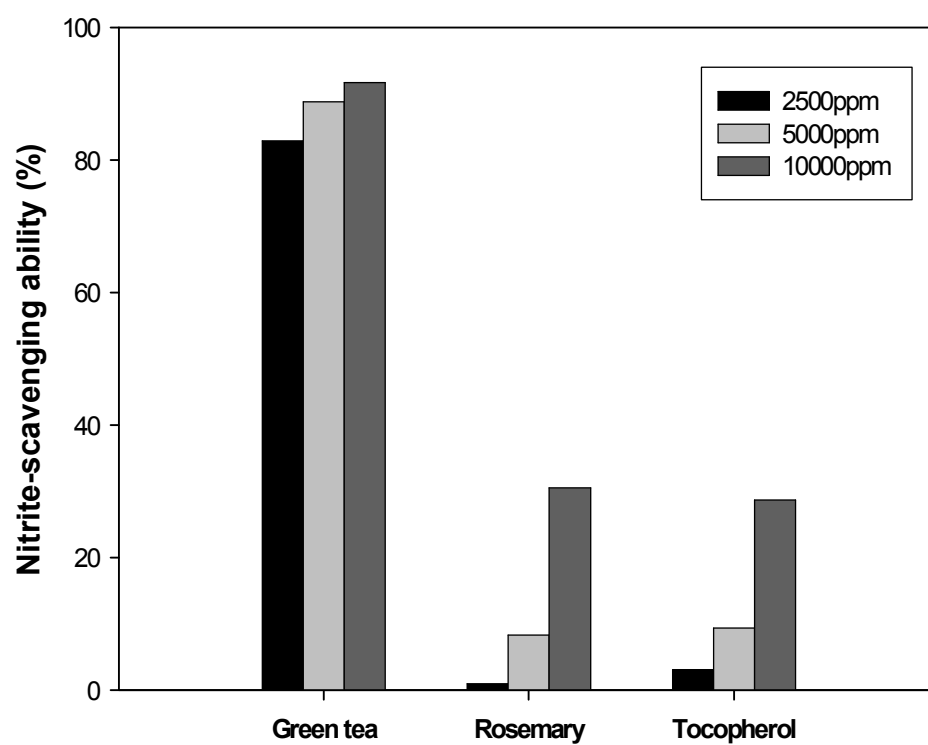


Fig. 12. Nitrite scavenging ability of green tea, rosemary extract and mixed tocopherol

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 현재 천연 항산화제로 시판되고 있는 녹차 및 로즈마리 추출물의 농도별 항산화 효과를 조사하고, 기존의 천연 항산화제인 mixed tocopherol 및 합성 항산화제인 BHA, BHT 등과 병용하여 첨가하였을 때의 상승효과를 조사하고자 하였다.

그 결과는 다음과 같았다.

1. 녹차 및 로즈마리 추출물의 총페놀 함량은 각각 87.2% 및 4.8%이었으며, 총 플라보노이드 함량은 각각 40.6% 및 4.5%이었다.
2. 녹차추출물, 로즈마리 추출물, mixed tocopherol, BHA 및 BHT의 DPPH radical 소거능은 각각 1000ppm에서 각각 71.1%, 27.9% 및 78.5%로 나타났고, 10000ppm에서 각각 83.2%, 83.2% 및 81.5%이었다.
3. 리놀레인산 기질에서의 항산화 효과는 mixed tocopherol > 녹차추출물 > 로즈마리 추출물의 순이었다. mixed tocopherol, 녹차추출물 및 로즈마리 추출물의 항산화효과는 BHT 및 BHA보다 약했다.
4. 녹차 추출물은 BHA, mixed tocopherol과 상승작용을 보여주었으며, 특히 토코페롤과 가장 강한 상승효과를 보였다. 한편 로즈마리 추출물은 mixed tocopherol, BHA 및 BHT에서 상승효과를 보였으며, mixed tocopherol에서 가장 강한 상승효과를 보였다. 그러나 녹차추출물과 로즈마리 추출물사이에서는 상승효과를 보이지 않았다.

5. 녹차추출물, 로즈마리 추출물 및 mixed tocopherol의 아질산염 소거능은 2500ppm에서 각각 82.9%, 1.0% 및 3.1%로 녹차추출물에서 강한 아질산염 소거능을 보였으며, 로즈마리 추출물 및 mixed tocopherol의 경우는 약한 아질산염 소거능이 보였다.

V. 참 고 문 헌

1. 秋谷年見 : 食品の酸化とその防止 1章 脂質の酸化, 光琳書院, 1 (1968)
2. Alexander, J. C. : Biological effects due to changes in fats during heating, Symposium. J. Am. Oil Chem. Soc., 50, 711. (1978)
3. Augustin, M. A. : Efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying, J. Am. Oil Chem. Soc., 60. (1983)
4. Fridorich I. The biological activity of oxygen radical. Science 201: 875-881 (1978)
5. Garden DR, Fridorich I. Superoxide sensitivity of Escherichia coli 6-phospho gluconate dehydratase. J Biol. chem. 266: 1478-1483 (1991)
6. Imlay IA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. Science 240: 1302-1309 (1986)
7. Branen, A.L. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisol and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil. Chem. Soc. 52:59-62(1972)

8. Thompson D and Moldeus, P. Citotoxicity of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in isolated rat hepatocytes, *Biochem Pharmacol*, 37, 2201-2207 (1988)
9. Valenzuela A B and Nieto SK, synthetic and natural antioxidants : food quality protectors, *Grasay Aceites* , 47: 186-196 (1996)
10. 김동훈, 식용유지의 산패, 고려대학교 출판부, pp.312~316 (1994)
11. Chu, D.C. : Chemistry and applications of green tea, CRC press. pp. 13-22 (1997)
12. 한명규, 녹차의 화학적 성분에 관한 연구, 龍仁大學校論文輯 第10輯, 299, (1994)
13. 이주원, 신호선, 녹차물추출물의 항산화효과, 한국식품과학회지, 25(6), 759 (1993)
14. 최성인, 이정희, 이서래, 막투과법에 의한 녹차음료의 카드름 및 납 제거 효과, 한국식품과학회지, 26(6), 740 (1994)
15. 최성인, 이정희, 이서래, 동물시험에 의한 녹차음료의 카드름 및 납 제거 효과, 한국식품과학회지, 26(6), 745 (1994)

16. 조영제, 안봉진, 최청, 한국산 녹차로부터 분리한 Flavan-3-ol화합물의 Angiotensin conveting enzyme저해효과, 한국식품과학회지, 25(3), 38 (1993)
17. 최돈하, 일본의 녹차를 이용한 생리활성 물질 개발, 임업정보, 제78호, 11 (1997)
18. Amarowicz, R., Shahidi, F., Antioxidant activity of green tea catechins in a beta-carotene-linoleate model system. *J. Food Lipids*, 2, 47-56 (1995)
19. Ito, N., Hirose, M., Shirai, T.: Carcinogenicity and modification of carcinogenic response by plant phenols. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effect on Health II*; Huang, M-T., C-T., Lee, C. Y., Eds., ACS Symposium Series 507; American Chemical Society, Washington, D. C., pp269-281. (1992)
20. Price, W. E.: Green tea flavanols and cancer. *Agro-Food Industry Hi-Tech*, Sept/Oct, pp.18-20. (1994)
21. Henry, J. P.: Stephens-Larson, P. Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension* 6, pp.437-444.
22. Chen, Z. Y., Zhu, Q. Y., Wong, F. Y., Zhang, Z., Chung, H. Y.:

- Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.* 46, pp.2512-2516(1998)
23. Chen, Z. Y., Wang, L. Y., Chan, P. T., Zhang, Z., Chung, H. Y.: Antioxidative activity of green tea catechin extract compared with that of rosemary extract. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75(9), 1141 (1998)
24. 白城 總, 原 征彦, 茶カテキンの抗酸化作用とその利用, 食品工業, 35(8), 34 (1992)
25. 佐野 満昭, 富田 勲, 茶の 抗酸化性, 月刊フードケミカル, 1993年 7 月, 24 (1993)
26. Su8eno, N. and Nitta, Y.: The antioxidative effect of spices on ground pork (in Japanese). *Sci. Cookery*, 11(2), 134-138 (1978)
27. Nitta, Y.: The antioxidative effect of various spices on oils and fats (in Japanese). *Sci. Cookery*, 10(4), 254-257 (1977)
28. Yamamoto, Y. and Miyamoto, T.: Changes in antioxidative effects of commercial spices during cooking of foods (in Japanese). *Sci. Cookery*, 23(3), 307-310 (1990)
29. Lee, Y.K. and Lee, H.s.: Effects of onion and ginger on the lipid

- peroxidation and fatty acid composition of mackerel during frozen storage (in Korean). J. Korean Soc. Food Nutr., 19, 321-329 (1990)
30. Byun, H.S., Youn, H.D., Kim, S.B. and Park, Y.H.: Antioxidative effect of ginger extracts on fish oil (in Korean). Bull. Korean Fish, Soc., 19, 327-332 (1986)
31. Murphy, A., Kerry, J.P., Buckley, J. and Gray, I.: The antioxidative properties of rosemary oleoresin and inhibition of off-flavours in precooked roast beef slices. J. Sci. Food Agric., 77, 235-243 (1998)
32. Shelef, L.A., Naglik, O.A. and Bogen, D.W.: Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. J. Food Sci., 45, 1042-1044 (1980)
33. Nozaki, L: Antioxidative activity of rosemary (in Japanese). New Food Industry, 31(8), 27-31 (1990)
34. Elena I, Alejandro, C, Antonio LC, Francisco, JS, Sofia C, Guillermo R, Combined use of supercritical fluid extraction, micella electrokinetic chromatography, and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from rosemary(*Rosemarinus officinalis*), J. Agric.

Food Chem, 48:4060-4065(2000)

35. Choi HR, Choi EH. Screening of antimicrobial and antioxidative herbs, J. Nat. Sci. Institute of Natural Science, Seoul Women's University 15: 123-131(2003)
36. Elena I, Alejandro C, Antonio LC, Francisco JS, Sofia C, Guillermo R. Combined use of supercritical fluid extraction, micellar electrokinetic chromatography, and reverse phase high performance liquid chromatography, for the analysis of antioxidants from rosemary (*Rosemarinus officinalis*). J. Agric. Food Chem. 48:4060-4065 (2000)
37. Loliger, J. Chapt.17 Natural Antioxidant for the stabilization of foods in "Flavor chemistry Lipid foods" Edited by Min, D.B. and Smouse, T. H., American Oil Chemists' Society, Champaign, Ill., U.S.A. (1989)
38. Bemond, P. Chapt.6 Biological Effects of Food Antioxidants in food antioxidants, Edited by Hudson, B. J. F., Elsevier Applied Science, London. (1990)
39. 한 대석: W/O microemulsion을 이용하여 용해된 아스코르브산이 여유 의 산화안정성에 미치는 영향. 식품기술. 3. 3. (1990)

40. 안채경, 한대석, 이영경, 이영철 : Rosemary, Sage, Oregano와 Ginger의 메탄올과 헥산 추출물의 항산화 작용에 대한 카테킨과 아스코르브산의 상승 효과 J Korean Soc Food Sci Nutr 34(5), 586~592 (2005)
41. Banias C, Oreopoulou V, Thomopoulos CD. 1992. The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. JAOCS 69: 520-524
42. A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 14th ed. Method 9.110. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA. USA.(1984).
43. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28(1) : 232-239 (1996).
44. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1200 (1958).
45. Economou, K. D., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C. D., Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiate. (1991)
46. A.O.A.C. Official methods of analysis. 15th ed., Association of

official analytical chemists. Washington, D.C., Cd 8-35 (1990).

47. Gray, J.I. and Dugan, J.L.R. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. J. Food Sci., 40(4): 981-985 (1975).