KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 17, *No.* 2 (1985)

Gingerol의 산화방지 효과

이인경 · 안승요
서울대학교 식품영양학과

The Antioxidant Activity of Gingerol

In-Kyung Lee and Seung-Yo Ahn
Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul

Abstract

Antioxidant activity of gingerol, a component of ginger, was studied in β-carotene-linoleic acid-water emulsion system. Crude gingerol extracted from ginger was separated and purified by thin-layer chromatography (TLC) into two bands. The two bands were identified as 6- and 10-gingerol by color reactions on TLC plate, acid dehydration reaction, infrared and nuclear magnetic resonance spectrometry. The antioxidant activity of gingerols (mixture of 6- and 10-gingerol) separated from ginger was remarkable, but lower than that of BHA or BHT.

서 론

최근에 합성 산화방지제들의 독성에 대한 논의가 많아짐에 따라[1~4] 천연 산화방지 물질에 대한 관심이 높아지고 있다.

Chipault[5] 등은 물-기름 에멀존 및 돼지기름에 대하여 clove, rosemary, sage등이 산화방지 효과가 있다고 보고하였으며, Kihara[6] 등은 생강, clove, thyme, pimento, laurel, mace, cinnamon들이 과자류와 고구마칩에서 산화방지 효과를 나타냈다고 보고하였다. Hideharu등[7] 은 생강, 고추, turmeric들의 알코올 및 에테르 추출물이 리노렌산 메틸에 대하여 산화방지 효과가 있음을 보고하였고, Saito등[8]은 생강, rosemary, sage, mace, thyme, marjoram, clove등의 석유에테르 가용분과 불용분은 모두 강한 산화방지 효과가 있음을 보고하였다. 또 Chang등[9]은 rosemary의 에테르 추출물이 BHA(butylated hydroxy anisole), BHT(butylated hydroxy toluene), PG(propyl gallate), 들보다 식물유에서 훨씬 더 강한 산화방지 효과를 나타냈음을 보고하였다. 이와같이 여러가지 향신료들의 산화방지 효과에 대한 보고는 많으나 그 효과를 나타내는 물질의 본체를 밝힌 연구는 드물다.

본 연구에서는 우리나라에서 많이 사용하는 향신료 생강에서 매운 성분인 gingerol를 분리하여 그 산화방지 효과를 실험하였다.

재료 및 방법

재 료

본실험에 사용한 생강은 1981년에 충남서산 산으로서 경동시장에서 구입하였다.

Gingerol의 추출

생강으로부터 gingerol의 추출은 Connell[10]의 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 껍질을 베낀 생강 500 *g*을 에탄올 1 *l*와 함께 homogeniger에서 10분간 마쇄하여 하루동안 방치하였다. 이것을 Büchner 깔대기에 Whatman No.42 여과지를 깔고 흡인여과하였다. 여과액을 회전 증발기로 40~50℃에서 농축하였다. 얻어진 유상의 농축물을 에테르 100 *ml*를 이용하여 분액깔대기로 옮기고 에테르 가용물질을 추출하였다. 회전증발기를 사용하여 에테르 추출액으로부터 에테르를 증발시켜 생강 특유의 냄새를 지닌 오레오레진(oleoresin)을 얻었다.

오레오레진을 헥산 10 *ml*를 이용하여 100 *ml* 비이커에 옮기고 자석교반기로 30분간 저은 후 헥산 부분만을 경사하여 제거하였다. 헥산 10 *ml*씩으로 이와같은 조작을 13회 반복하였다. 이어서 헥산과 에테르 동량 혼합용매 10 *ml* 씩을 이용하여 앞에서와 같은 조작을 10회 반복하여 헥산-에테르 추출액 100 *ml*를 얻었다. 이 추출액으로부터 용매를 증발시켜 갈색의 유상 crude gingerol을 얻었다. 여기에 다시 헥산 20 *ml*를 넣고 세게 흔들어 헥산 가용성 물질을 제거하였다.

Gingerol의 TLC분리

생강으로부터 추출하여 얻은 crude gingerol을 메탄올에 녹여 실리카 겔 G(Merck)를 입힌 TLC 판에 대상으로 도부하여 헥산-에테르(1 : 4, v/v)용매로 전개시켰다. 전개가 끝난 후 TLC판의 한쪽 약 1 *cm*

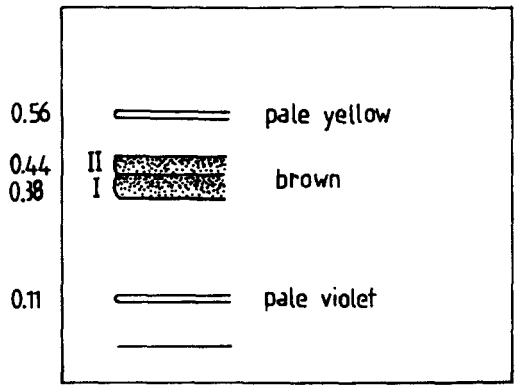

Fig. 1. Thin-layer chromatogram of crude gingerol
Developing solvent; Hexane:Ether(1:4) Spray reagent; conc-H_2SO_4

나비에만 진한 황산을 분무하고 가열하였다. Fig. 1과 같이 R_f0.4 부근에 갈색으로 나타난 두개의 밴드(band)를 각각 서로 섞이지않게 경계를 제외하고 조심스럽게 긁어내었다. 긁어낸 실리카겔에 각각 메탄올을 가하고 1시간동안 방치한 후 부크너 깔대기에 여과지를 깔고 흡인여과하여 밴드 I 및 II 물질을 얻었다.

Gingerol의 확인

발색반응 : 앞에서 얻은 밴드 I 및 II를 실리카겔 TLC 판에 도부하고 Table 1의 용매계들을 이용하여 전개시켰다. 전개가 끝나면 풍건하고 Table 1의 발색시약들을 분무하여 나타나는 색을 문헌에 발표된 결과들과 비교하였다.

Table 1. Solvent systems and spray reagents for the isolation and identification of gingerol

Solvent systems
Hexane—Ether 1:4[11]
Hexane—Ether 1:1[12]
Benzene—Methanol 80:5[13]
Benzene—Methanol 95:5[14]
Spray reagents
Diazotized sulfanilic acid[15]
Spray reagent I and then II
Reagent I : mix (a) and (b) 1:1 before use
(a):sulfanilic acid 1 *gm* in 8 *ml* HCl, made to 100 *ml* with water
(b):0.69% $NaNO_2$
Reagent II : 10% Na_2CO_3
3% Vanillin in conc—H_2SO_4[11]
0.4% 2, 4—Dinitrophenyl hydrazine in 2*N*—HCl[13), 15]
conc—H_2SO_4[11]

산 탈수반응 : 밴드 I, II의 메탄올 용액 0.1 *ml*에 진한 염산 3방울을 가하고 75℃의 수조에서 10분간 가온하였다. 이것을 TLC판에 염산 처리전의 I, II, 및 표준 6-Shogaol과함께 도부하고 헥산-에테르(1 : 4 v/v)용매계로 전개시켰다. 전개가 끝나면 건조후 진한 황산을 분무하여 100℃ 오븐에서 10분간 가열하였다. 그리고 나타난 반점의 색과 R_f값을 조사하여 산 탈수반응 생성물을 확인하였다.

스펙트로메트리 : 밴드 I 및 II의 자외선 흡수 스펙트럼을 메탄올 용액 중에서 220~320 *nm* 파장 범위에서 구하였다.

적외선 스펙트럼은 밴드 I 및 II의 메탄올용액으로부터 메탄올을 제거하고 감압건조장치에서 건조한 후 neat법에 의하여 구하였다.

밴드 I 및 II를 각각 감압건조시킨 후 $CDCl_3$와 CCl_4 혼합용매에 녹여 ^1H—NMR 스펙트럼을 구하였다.

Gingerol의 산화방지 효과 측정

분리 정제한 gingerol의 산화방지 효과측정은 Hammerschmidt와 Pratt[16]의 방법을 변경하여 다음과 같이 실시하였다.

300 *ml*의 둥근 플라스크에 리놀레산 120 *mg*, Tween 40 1.2 *g* 및 0.01% 베타 카로틴 클로로포름용액 9 *ml*를 첨가하고 40℃에서 감압농축하였다. 여기

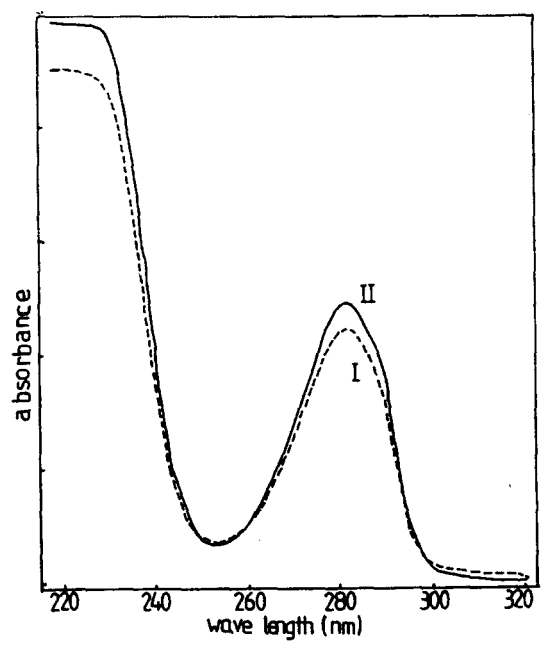

Fig. 2. UV absorption spectrum of band I and II

에 증류수 300 *ml*를 가하고 10분간 냉 수조 속에서 균질기(homogenizer)로 균질화시켜 에멀존을 만들었다.

얻어진 에멀존을 50 *ml*씩 나누어 담고 이것들에 각각 0.02%(w/v)[17,18]에 해당하는 gingerol, BHA 및 BHT의 메탄올 용액 1 *ml*를 첨가하였다. 이용액들을 마개있는 시험관 10개에 5 *ml*씩 나누어 담고 47~48℃의 항온기에 넣었다. 그리고 일정 시간 간격으로 각군에서 시험관 하나씩 꺼내어 아세톤 2 *ml*씩 첨가하고 흔들어 맑게한 후 450 *nm*에서 흡광도를 측정하였다. 대조로는 에멀존에 산화방지제 용액 대신 메탄올 1 *ml*를 첨가한 것을 사용하였다.

결과 및 고찰

Gingerol의 분리

생강에서 추출하여 분별 용매추출에 의하여 얻은 crude gingerol을 여러개의 실리카 겔 TLC판(20×20 *cm*)에 대상으로 도부한 후 헥산-에테르 혼합용매(1 : 4 v/v)로 전개시켜 Fig. 1과 같은 크로마토그램을 얻었다. TLC판에서 황산 분무에 의하여 R_f값 0.38(I)과 0.44(II)되는 두자리에 인접하여 두 gingerol이 검출되었다. 밴드 I과II는 본실험에서 사용한 Table 1의 다른 용매계에 의하여도 모두 인접하여 분리되었다. Gingerol 동족체들은 끓는점이 높은 유상의 물질로서 결정화하기 어렵고 크로마토그래피에 의하여도 분리하기 어렵다고 알려져 있다.[11,19]

Gingerol의 확인

1. 발색반응

TLC판 상에 분리된 밴드 I과 II는 모두 diazotiged sulfanilic acid 시약에 의하여 노란색, 2, 4-dinitrophenyl hydrazine 시약에 의하여 주황색, vanillin-sulfuric acid 시약에 의하여 짙은 청색을 나타내었다. 이와같은 색반응은 모두 Bhaya[13]가

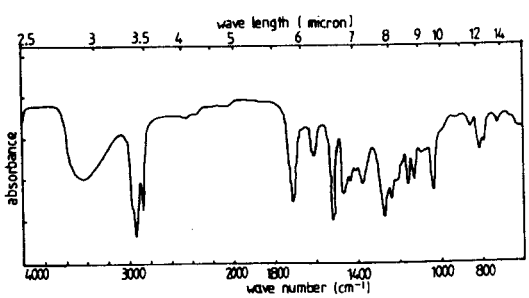

Fig. 3. IR spectrum of band I and II

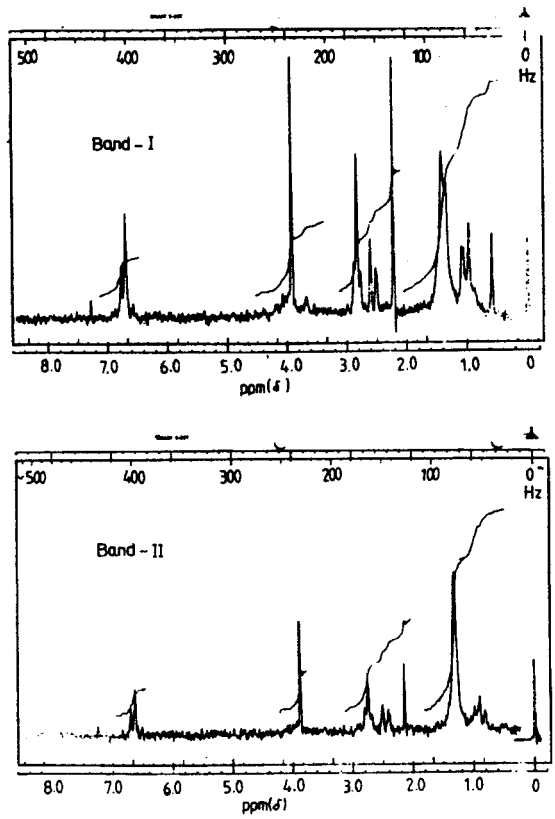

Fig. 4. NMR spectrum of band I and II

gingerol 실험에서 보고한 결과와 같다. 한편 진한 황산 분무에 의하여 갈색반응을 띠다가 점차로 녹갈색으로 변하였는데 이것은 Connell[11]이 보고한 gingerol이나 shogaol의 발색 반응과 같았다.

2. 분광학적 특성

밴드 I과 II의 UV흡수 스펙트럼은 Fig. 2와 같다. 두 스펙트럼 모두 282 *nm*에서 최대흡수를 보였는데 이결과는 문헌에 보고된 gingerol의 최대흡수파장과[12,20] 일치하였다.

밴드 I과 II의 IR 스펙트럼은 Fig. 3과 같으며 그 νmax는 모두 동일하였다. 2680 cm^{-1}의 방향족 methoxyl기, 1710 cm^{-1}의 carbonyl기, 1605 cm^{-1}와 1515 cm^{-1}의 페닐 기등의 흡수대들이 뚜렷하게 나타나 있는데, 이것들은 Connell[10,12]이 보고한 gingerol의 IR 스펙트럼의 νmax들과 일치하였다.

밴드 I과 II의 ^{1}H-NMR 스펙트럼은 Fig. 4와 같다. 밴드 I은 S 1.2~1.6 *ppm* 사이의 $-(CH_2)_2$ peak에서 수소수가 8개 즉 $-(CH_2)_4$ 이고, 밴드 II는 δ 1.1~1.5 *ppm* 사이의 $-(CH_2)_n$ peak에서 수소수가 16개 즉 $-(CH_2)_8$인 것으로 나타났다. 그러므로 밴드 I은 6-gingerol, 밴드 II는 10-gingerol임을

알 수 있다.

3. 산 탈수반응

밴드 I, II를 각각 산 처리한 후 표준 6-shogaol과 함께 TLC로 분리한 결과는 Fig. 5와 같다. 황산의 분무발색으로 산 처리한 I과 II는 모두 shogaol과 같은 색을 나타냈고, 그중 I은 표준 6-shogaol과 같은 R_f값 자리에, II는 그보다 조금 위 자리에 나타났다.

Gingerol은 retro-aldol 반응에 의하여 gingerone으로 변하고 탈수반응에 의하여 shogaol로 변한다는 사실은 잘 알려져 있다.[19,20] 그러므로 산 처리에 의하여 생성된 Fig. 5의 I'은 6-shogaol이고 II'는 8-또는 10-shogaol임을 알수있다. Connell[12]은 생강 중에서 6-, 8-, 및 10-gingerol등을 확인하고 그 함량비는 56 : 13 : 31 이었다고 보고 하였다. Fig. 5의 결과만으로는 II'를 표준 10-shogaol과 co-chromatography하지않았기 때문에 10'-shogaol이라고 단정할 수 없다. 그러나 gingerol의 결사슬의 길이가 길어짐에 따라 TLC의 R_f값이커진다는 Connell[11] 및 Narasimhan[21]의 보고와 앞의 NMR 스펙트로메트리의 결과로 밀우어 보면 II'은 10-shogaol이라는 것을 알수있다.

Gingerol의 산화방지 효과

본실험에서 사용한 생강에는 6-과 10-gingerol이 함유되어 있는데 이것들은 실리카 겔 TLC판 위에서 매우 인접하여 행동하기 때문에 분리하기가 어려웠다. 따라서 6-gingerol(밴드 I)과 10-gingerol(밴드 II)을 TLC 판으로부터 함께 긁어내어 혼합물로서 그 산화방지효과를 시험하였다.

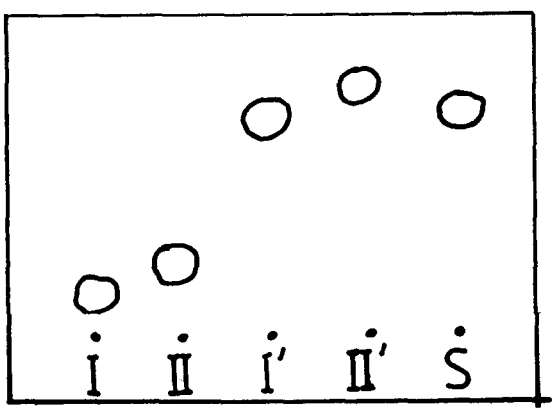

Fig. 5. Thin-layer chromatogram of band I, II, acid treated band I(I') and II(II') with standard 6-shoggaol(S)
Developing solvent: Hexane-Ether 1:4
Spray reagent: conc-H_2SO_4

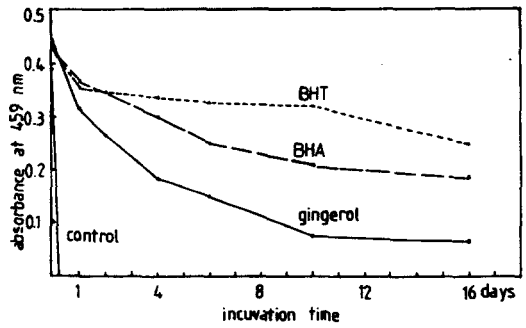

Fig. 6. Destruction of β-carotene in linoleic acid emulsions containing gingerol, BHA and BHT

Fig. 6에서와 같이 gingerol은 리노레산-β-카로틴-물의 에멀존 내에서 β-카로틴의 산화를 크게 억제시켰다. 그러나 같은 조건에서 합성 산화방지제 BHA 및 BHT보다는 그 효과가 떨어졌었다.

Fvjio등[22]은 생강으로부터 분리한 shogaol과 zingerone도 유지의 산화를 억제하는 효과가 있다고 보고한바 있는데 Connell[20]에 의하면 이것들은 추출분리조작 중에 gingerol로 부터 생성된 artifact라고 하였다.

요 약

생강으로부터 분리한 gingerol의 산화방지 효과에 대하여 시험하였다. 생강의 에탄올 추출물로부터 헥산-에테르 혼합용매를 이용하여 crude gingerol을 얻어 TLC에 의하여 gingerol을 분리·정제하였다. 분리한 gingerol은 발색반응, 산탈수반응, UV, IR 및 NMR 스펙트로메트리등을 거쳐 6-및 10-gingerol임을 동정하였다. Gingerol은 리노레산-β-카로틴-물의 메멀존에 0.02%(w/v)농도로 첨가되었을 때 대조구에서보다 β-카로틴을 크게 안정화시켰다. 그러나 BHA 및 BHT보다는 그 효과가 약간 낮았다.

문 헌

1. Johnson, A.B. and Hewgill, F.R.: *Aust. Exp. Biol. Med. Sci.*, **39**, 353(1961)
2. Branen, A.L.: *J. Am. Oil Chem's Soc.*, **52**, 59(1975)
3. Allen, J.R. and Engblom, J.F.: *Food Cosmet. Toxicol.*, **10**, 769(1972)
4. Surak, J.G., Bradley, R.L., Branen, A.L. and Shrago, E.: *Food Cosmet. Toxicol.*, **14**, 227 (1976)

5. Chipault, J.R., Mizuno, G.R. and Lundberg, W.O.: *Food Technol.*, **10**, 209 (1956)
6. Kihara, Y. and Inoue, T.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakaishi*, **9**, 290 (1962)
7. Hideharu, F., Takai, Y. and Iwao, H.: *Eiyogaku Zasshi*, **32**(1), 1 (1974)
8. Saito, Y., Kimura, Y. and Sakamoto, T.: *Eiyo To Shokuryo*, **29**, 505 (1976)
9. Chang. S.S., Matijasevic, B.D., Hsieh, O.A.L. and Huang, C.L.: *J. Food Sci.*, **42**, 1102 (1977)
10. Connell, D.W.: *Aust. J. Chem.*, **23**, 369 (1970)
11. Connell, D.W. and Mclachlan, R.: *J. Chromatog.*, **67**, 29 (1972)
12. Connell, D.W. and Sutherland, M.D.: *Aust. J. Chem.*, **22**, **1033 (1969)**
13. **Bhaya**: *J. Food Sci. Tech.*, **14**(4), 176 (1977)
14. Osisiogu, I.V.W.: *J. Chromatog.*, **84**, 200 (1973)
15. Stahl, E.: ***Thin Layer Chromatography***, 2nd ed., George Allen and Unwin Springer-Verlag (1973)
16. Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E.: *J. Food Sci.*, **43**, 556 (1978)
17. Berner, D.L., Conte, J.A. and Jacobson, G.A.: *J. Am. Oil Chem's Soc.*, **51** 292 (1974)
18. Cort, W.M.: *Food Technol.*, **28**, 60 (1974)
19. Connell, D.W.: *Food Tech. Aust.*, **21**, 570 (1969)
20. Connell, D.W.: *The Flavour Industry*, **1**, 677 (1970)
21. Narasimhan, S. and Govindarajan, V. S.: *J. Food Tech.*, **13**, 31 (1978)
22. Fujio, H., Hiyoshi, A. and Suminoe, K.: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **16** (6), 241 (1969)

(1984년 7월 9일 접수)