

용매에 따른 카레 향신료 추출물의 항산화 효과 및 혼합효과

안채경 · 이영철 · 염초애*
한국식품개발연구원, *숙명여자대학교

Antioxidant and Mixture Effects of Curry Spices Extracts Obtained by Solvent Extraction

Chae-Kyung Ahn, Young-Chul Lee and *Cho-Ae Yeom

Korea Food Research Institute,

*Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University

Abstract

This study was performed to investigate the antioxidative effects of solvent extracts of eighteen curry spices. Yields of the curry spices extracted by methanol, ethylacetate and hexane were 6.4~42.9%, 3.9~26.2% and 1.6~29.2%, respectively. Methanol, ethylacetate and hexane extracts of spices were added up to 1,500 ppm in the rice bran oil and antioxidative effects of extracts were tested by Rancimat. Induction periods of spices extracted by methanol were in the order of rosemary(33.5hr)>sage(29.1hr)>ginger(28.6hr)>turmeric(26.9hr)>nutmeg(25.8hr)>oregano(25.6hr)>thyme(25.3hr)>BHT(24.5hr)>control(22.6hr). Those of ethylacetate extracts were as follows: rosemary(43.9hr)>sage(30.9hr)>oregano(29.0hr)>thyme(27.5hr)>ginger(27.1hr)>BHT(24.5hr)>control(22.6hr). Those of hexane extracts were in the order of rosemary(47.4hr)>sage(31.4hr)>oregano(27.3hr)>ginger(25.5hr)>thyme(25.1hr)>control(22.6hr). Solvent extracts of rosemary, sage, oregano, ginger and thyme showed significant antioxidative effects. Two thousands ppm hexane-extract of rosemary was the most effective. Addition of hexane-extracts of rosemary didn't show any synergism with the hexane extracts of sage, oregano, ginger, and thyme.

Key words : curry spices, antioxidative effect, synergism

서 론

합성 항산화제인 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), TBHQ(tertiary butylhydroquinone)는 많은 나라에서 식품에 사용하여 왔다. 그러나 근래에 와서 전세계적으로 합성 식품첨가물에 대해서 재검토가 이루어 지고 있고⁽¹⁾, 그 일환으로 합성항산화제의 독성과 안전성, 그리고 사용규정들이 다시 검토되면서 천연항산화제에 대한 관심이 새롭게 대두되고 있다⁽²⁾. 따라서 소비자들은 이상적인 항산화제로 천연 항산화제에 대한 인식을 하게 되었다. 이상적인 항산화제란 항산화 효과가 요구되는 여러 제품이나 분야에서 첨가효과와 안정성이 입증될 수 있

어야 하며 인체에 무해한 것이어야 한다.

카레분(curry powder)은 열대식물의 껍질, 뿌리, 잎, 꽃봉우리, 과일 및 종자 등을 분말화한 향신료를 혼합한 2차적인 제품⁽³⁾으로 배합원료로 사용되는 향신료는 약 40여종이지만 일반적으로 시판 카레분은 20~25종 정도 사용하며 나머지 15~20여종은 특별한 풍미를 내기 위한 것으로 사용되고 있다⁽⁴⁾. 향신료가 주원료인 인스턴트 카레는 1996년 5,400톤이 생산되어 소비되고 있으며⁽⁵⁾ 이의 항산화 작용에 대한 연구는 국내에서 미비한 실정이나, 최근 카레 향신료 정유성분의 항균성⁽⁶⁾, 카레분 단품향신료의 성분분석^(7,9)과 숙성 또는 유통기간중 향기 성분의 변화 및 분리 동정에 대하여 관심이 고조되고 있다^(4,10,11).

본 연구에서는 우리나라에서 카레분 제조시 구성 원료로 주로 사용되는 18종의 단품 향신료와 카레분을 메탄올, 에틸아세테이트 및 헥산으로 추출하여, 미강유에 대한 항산화작용을 살펴보고자 하였다. 또한 일부 식품의 가공에 혼합향신료를 사용한다는 점에서 향신

Corresponding author : Young-Chul Lee, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Songnam-city, Kyonggi-do, 463-420, Korea
Tel : 82-342-780-9071
Fax : 82-342-780-9234
E-mail : ycllee@KFRI.re.kr

료간의 조합에 따른 항산화성과 상승효과를 조사하는 것은 식품의 가공 및 저장에 중요한 요인을 연구하는 것이라 할 수 있다. 따라서 항산화성이 우수하게 나타난 향신료의 복합사용에 따른 상승 효과를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 향신료는 오투기 중앙연구소에서 제공받은 것으로 후추(black pepper, *Piper nigrum* L.), 소도구(cardamon, *Elettaria cardamomum* M.), 계피(cassia, *Cinnamum cassia* B.), 셀러리 시드(celery seed, *Apium graveolens* L.), 정향(clove, *Eugenia caryophyllata* T.), 고수(coriander, *Coriandrum sativum* L.), 쿠민(cumin, *Cuminum cyminum* L.), 회향(fennel, *Foeniculum vulgare* M.), 웨누그릭(Fenugreek, *Trigonella foenumgraecum* L.), 월계수잎(Laurel, *Laurus nobilis* L.), 마조람(marjoram, *Origanum majorana* L.), 생강(ginger, *Zingiber officinale* Rosc.), 육두구(nutmeg, *Myristica fragrans* Houttuyn), 오레가노(oregano, *Origanum vulgare* L.), 미질향(rosemary, *Rosmarinus officinalis* L.), 실비아(sage, *Salvia officinalis* L.), 심황(turmeric, *Curcuma longa* L.), 백리향(thyme, *Thymus vulgaris* L.) 등의 단품 향신료와 카레분(curry powder)을 cutting mill(킹스톤 기전, 후드믹서 KEM-400S)로 25 mesh 이하로 분쇄하여 추출 시료로 사용하였다.

항산화 효과 측정에 기질로 사용한 유지는 합성항산화제가 첨가되지 않은 미강유(상품명 : 현미유, 주식회사 신양, 전북 정읍)를 구입하여 사용하였다.

향신료의 메탄올, 에틸아세테이트, hexan 추출물의 항산화 효과

25 mesh 이하의 향신료를 메탄올, 에틸아세테이트, hexan에 1:10, 1:5, 1:5(w/v) 비율로 실온에서 12시간 동안 각각 3회 반복 추출한 후 상등액을 Whatman(No. 44) 여과지로 여과하였다. 여액을 sodium sulfate로 탈수시켜 여과하여 40°C에서 rotary evaporator(BÜCHI Rotavapor R-124, Switzerland)로 농축하였다. 원재료에 대한 추출물의 무게 백분율로 수율을 측정된 후 질소를 충전, 밀봉하여 -60°C 냉동고에 저장하면서 실험에 사용하였다. 항산화 효과 측정을 위하여 향신료의 용매 추출물을 용매에 다시 녹여 1,500 ppm씩 미강유에 첨가하여 질소 기류 하에서 40°C에서 10분간

evaporator로 용매를 제거하여 시료로 사용하였다. Rancimat(Model 679, Metrohm, Switzerland)으로 98°C에서 산화시키면서 conductivity가 급격하게 증가하는 시점을 유도기간으로 결정하였다. 시료량은 4.0 g이었으며 유속은 20 L/hr로 유지하였다.

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 농도별 항산화 효과

본 연구에 사용된 19가지 향신료중 항산화력이 우수한 향신료를 5가지 선정하여 200, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm에서 농도에 따른 항산화 효과의 변화를 Rancimat로 측정하였다.

Sage, oregano, ginger, thyme의 hexan 추출물과 rosemary의 hexan 추출물의 혼합에 의한 항산화 효과

Sage, oregano, ginger, thyme의 hexan 추출물에 항산화 효과가 가장 우수한 rosemary의 hexan 추출물을 1:1, 1:2, 1:3의 비율로 조합하여 두가지 추출물의 합이 200, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm이 되도록 미강유에 첨가하여 질소 기류 하에서 40°C에서 10분간 evaporator로 용매를 제거하여 시료로 사용하였다. 유도기간은 Rancimat로 항산화 효과의 변화를 측정하였다.

Sage, oregano, ginger, thyme의 hexan 추출물의 혼합에 의한 항산화 효과

Sage, oregano, ginger, thyme의 hexan 추출물을 1:1의 비율로 조합하여 200 ppm과 1,500 ppm이 되도록 미강유에 첨가한 뒤 Rancimat로 항산화 효과의 변화를 측정하였다.

총페놀 함량 측정

각 용매 추출물의 총페놀 함량은 Gutfinger⁽¹²⁾의 방법으로 측정하였다. 요약하면 추출물을 50 mL hexan에 녹인 뒤 60% 메탄올에 20 mL씩 3번 추출하여 합쳐진 여액을 40°C에서 농축하였다. 농축물을 1 mL 메탄올에 다시 녹여 10 mL volumetric flask에 0.1 mL에서 0.4 mL 취하고 증류수 5 mL과 Folin ciocalteau 시약 0.5 mL을 가하여 3분 후 포화 Na₂CO₃ 용액 1 mL을 가하고 증류수를 채운 뒤 1시간 후 725 nm에서 측정하였다.

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 hexan 추출물의 총토코페롤 함량

시료의 토코페롤함량은 A.O.C.S.⁽¹³⁾의 방법에 따라 HPLC로 분석하였다. 시료는 전처리 과정 중 발생할 수 있는 토코페롤의 손실을 최소화하고자 각 시료를

Table 1. Yields of the curry spices extracted by methanol, ethylacetate and hexane (unit: %)

Curry spices	Methanol	Ethylacetate	Hexane
Black pepper	12.7 ¹⁾	10.7	4.0
Cardamon	9.7	5.1	4.8
Cassia	31.1	5.1	2.1
Celery seed	11.9	22.4	21.8
Clove	42.9	22.6	17.0
Coriander	6.4	17.9	18.1
Cumin	12.9	19.7	19.6
Curry powder	12.2	15.2	11.5
Fennel	15.7	16.2	17.0
Fenugreek	13.9	5.1	4.6
Ginger	7.2	3.9	3.1
Laurel	29.4	7.9	4.0
Marjoram	19.8	7.6	2.5
Nutmeg	15.0	26.2	29.2
Oregano	24.3	9.2	4.0
Rosemary	26.0	14.9	5.0
Sage	14.4	16.1	3.7
Thyme	20.8	7.1	2.8
Turmeric	10.5	5.9	1.6

¹⁾Values are mean of triplications.

hexan에 용해시켜 Milipore membrane filter(0.2 μm)로 여과하여 분석에 사용하였다. 토크페롤 표준품(Merck 사)은 α-토크페롤(99.9%), β-토크페롤(98.3%), γ-토크페롤(99.8%), δ-토크페롤(99.8%)을 구입하여 사용하였다. 이 때 토크페롤 분석을 위한 HPLC는 JASCO(MODEL PU-980, Japan)를, column은 μ-porasil(Waters No. 027477)을, 이동상은 hexan : 아이소프로필알콜(99.5 : 0.5, v/v)을, 유속은 1 mL/min으로 UV 292 nm(MODEL UV-975)에서 검출하였다.

결과 및 고찰

향신료의 용매 추출수율

19가지 카레 향신료의 메탄올, 에틸아세테이트, hexan 추출물의 평균 수율은 Table 1과 같다. 추출수율은 각각 6.4~42.9%, 3.9~26.2%, 1.6~29.2%로 메탄올 추출물의 경우 clove의 수율이 42.9%로 가장 높았고 에틸아세테이트와 hexan의 경우 nutmeg가 26.2%와 29.2%로 가장 높게 나타나 추출 용매에 따라 수율의 차이가 있었으나 극성이 높아질수록 수율이 증가하였다.

향신료의 메탄올, 에틸아세테이트, hexan 추출물의 항산화 효과

메탄올, 에틸아세테이트, hexan으로 추출한 19가지의 향신료 추출물을 미강유에 1,500 ppm 농도로 첨가하여 Rancimat으로 유도기간을 측정한 결과는 Table 2와 같

Table 2. Induction periods of rice bran oils containing methanol, ethylacetate and hexane extracts (1,500 ppm) of the spices

Curry spices	Methanol	Ethylacetate	Hexane
Control	22.6 ^{1,2)} (1.00)	22.6(1.00)	22.6(1.00)
Black pepper	23.3(1.03) ³⁾	23.3(1.03)	22.8(1.01)
Cardamon	24.1(1.07)	22.5(1.00)	22.9(1.01)
Cassia	23.9(1.06)	24.8(1.10)	23.1(1.02)
Celery seed	24.2(1.07)	22.7(1.00)	23.6(1.04)
Clove	24.2(1.07)	23.3(1.03)	23.5(1.04)
Coriander	24.3(1.08)	22.2(0.98)	23.6(1.04)
Cumin	24.1(1.07)	22.8(1.01)	23.4(1.04)
Curry powder	24.3(1.08)	23.5(1.04)	23.2(1.03)
Fennel	23.7(1.05)	22.6(1.00)	23.0(1.02)
Fenugreek	25.0(1.11)	22.5(1.00)	23.0(1.02)
Ginger	28.6(1.27)	27.1(1.20)	25.5(1.13)
Laurel	23.5(1.04)	21.5(0.95)	22.3(0.99)
Marjoram	23.8(1.05)	24.2(1.07)	21.9(0.99)
Nutmeg	25.8(1.14)	25.0(1.11)	23.2(1.03)
Oregano	25.6(1.13)	29.0(1.28)	27.3(1.21)
Rosemary	33.5(1.48)	43.9(1.94)	47.4(2.10)
Sage	29.1(1.29)	30.9(1.37)	31.4(1.39)
Thyme	25.3(1.12)	27.5(1.22)	25.1(1.11)
Turmeric	26.9(1.19)	25.6(1.13)	22.7(1.00)

¹⁾Values are mean of triplications.

²⁾Induction period(IP, hr) of rice bran oil was determined by Rancimat method.

³⁾AI(Antioxidant index) was expressed as IP of spices extract/IP of control.

다. 대조구의 유도기간이 22.6시간으로, 향신료의 메탄올 추출물을 미강유에 첨가하였을 때 유도기간이 0.7~10.9시간 증가하여, 모든 메탄올 추출물은 항산화 효과를 보였다. 메탄올 추출물 중 항산화 효과가 가장 강한 향신료는 rosemary로 대조구에 비해 유도기간이 10.9시간 증가하였으며, 항산화 효과를 보인 sage, ginger, turmeric, nutmeg, oregano, thyme의 유도기간은 대조구에 비해 2.7~6.5시간 증가하였다. 그러나 laurel과 black pepper는 0.7~0.9시간의 증가에 그쳐 미약한 항산화 효과를 보였다. 에틸아세테이트 추출물에서도 rosemary를 첨가한 미강유의 유도기간이 43.9시간으로 대조구에 비해 21.3시간 증가하여 가장 강한 항산화 효과를 보였으며, sage, oregano, thyme, ginger는 대조구에 비해 유도기간이 4.5~8.3시간 증가하는 항산화 효과를 나타내었다. 그러나 메탄올 추출물과는 달리 coriander와 laurel의 유도기간은 대조구에 비해 0.4~1.1시간 짧아져 산화촉진제로 작용하였으며, fenugreek, celery seed, cardamon, cumin, fennel은 대조구와 유도기간이 유사하여 아무런 효과를 보이지 않았다.

hexan 추출물의 경우도 rosemary가 가장 강한 항산화 효과를 보여 대조구에 비하여 24.8시간 증가하였으며

sage, oregano, ginger, thyme의 추출물 첨가구는 대조구에 비해 유도기간이 2.5~8.8시간 증가하는 항산화 효과를 보였다. 그러나 marjoram과 laurel은 산화촉진 작용을 하여 유도기간이 0.3~0.7시간 짧아졌다.

3가지 용매 추출물에서 가장 강한 항산화 효과를 보인 것은 rosemary였으며 sage, ginger, oregano, thyme은 3가지 용매 추출물 모두 좋은 항산화 효과를 보였다. 그러나 메탄올 추출물에서 미약한 항산화 효과를 나타낸 laurel은 비극성 용매인 헥산과 에틸아세테이트로 추출하였을 때 산화촉진 작용을 하는 것으로 나타났다.

한편 합성항산화제인 BHT를 200 ppm 첨가한 미강유의 유도기간은 24.5시간으로 향신료 추출물 1,500 ppm을 사용하였을 때 BHT보다 유도기간이 길게 나타난 향신료는 3가지 용매 추출물에서 공통적으로 rosemary, sage, ginger, oregano, thyme이었다. 이러한 결과는 Chipault 등⁽¹⁴⁾이 각종 향신료들을 0.02% 농도로 98°C로 가열된 돼지기름에 첨가하였을 때, rosemary와 sage가 매우 강한 항산화성을 보였다는 결과와 유사하였다.

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 농도별 항산화 효과

19가지 향신료의 추출물 중 1,500 ppm을 미강유에 첨가하였을 때 BHT보다 유도기간이 길게 나타난 향신료는 3가지 용매 추출물에서 공통적으로 rosemary, sage, ginger, oregano, thyme이었다. 따라서, 이들 향신료의 농도가 항산화효과에 미치는 영향을 연구하기 위하여, 200, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm의 농도로 미강유에 첨가한 후 같은 방법으로 유도기간을 측정된 결과는 Fig. 1~3과 같다.

메탄올 추출물의 경우 rosemary, sage와 ginger는 농도가 증가함에 따라 유도기간이 계속 증가하여 각각 24.9~34.5시간, 23.5~32.5시간, 23.2~29.2시간으로 나타났다. 그러나 oregano와 thyme은 완만히 증가하는 경향을 보였다.

에틸아세테이트 추출물의 경우, rosemary 27.6~44.4, sage 24.5~31.0, oregano 23.3~29.3, ginger 23.9~27.3, thyme 23.9~28.2시간이었으며 첨가 농도 1,500 ppm까지는 유도기간이 길어졌으나, 2,000 ppm에서는 유도기간이 증가하지 않아 1,500 ppm 첨가 효과와 유사하였다.

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물을 각 농도별로 첨가하였을 때 rosemary 29.3~52.0, sage 25.2~33.9, oregano 24.0~28.4, ginger 23.8~25.4, thyme 23.4~25.6시간으로 rosemary와 sage의 경우 첨

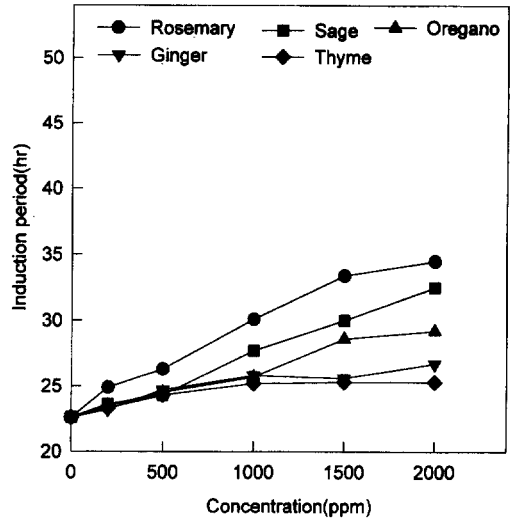


Fig. 1. Changes of induction period of rice bran oil according to the concentration of methanol extracts of rosemary, sage, oregano, ginger and thyme.

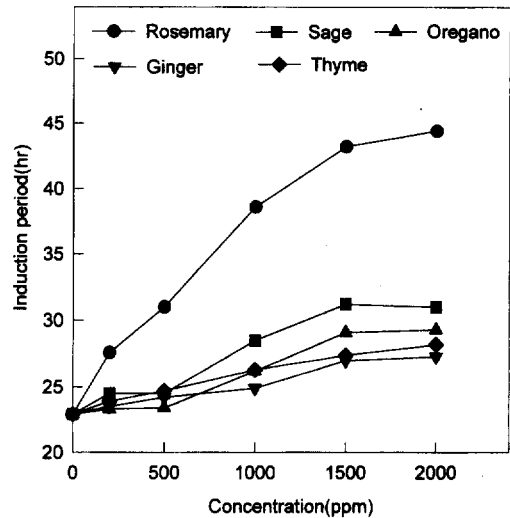


Fig. 2. Changes of induction period of rice bran oil according to the concentration of ethylacetate extracts of rosemary, sage, oregano, ginger and thyme.

가 농도가 증가하면서 유도기간의 증가폭이 큰 반면, oregano, ginger, thyme은 증가경향이 작았다. 용매별 항산화 효과 측정 결과 rosemary와 sage는 헥산 추출물이 2,000 ppm에서 우수한 효과를 나타내었으며, ginger는 메탄올 추출물이 2,000 ppm에서 우수한 효과를, oregano와 thyme은 에틸아세테이트 추출물이 1,500 ppm과 2,000 ppm에서 큰 차이 없이 우수한 효과를 나타내었다. 이들 5가지의 향신료는 추출하는 용매에 따

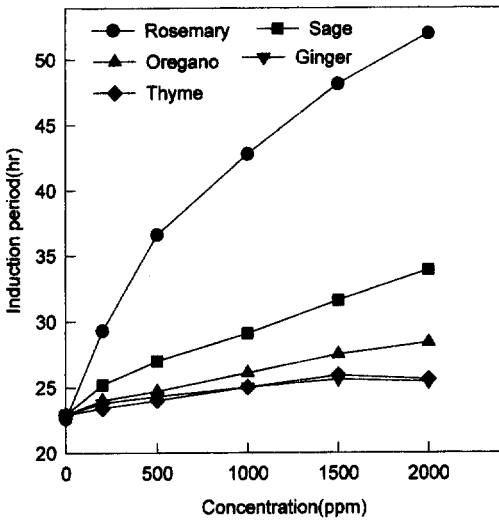


Fig. 3. Changes of induction period of rice bran oil according to the concentration of hexane extracts of rosemary, sage, oregano, ginger and thyme.

라 항산화 효과의 크기가 달라졌다. 이러한 결과로써 Saito 등⁽¹⁵⁾의 oregano, allspices, cinnamon, anise seed, celery seed, black pepper의 petroleum ether soluble fraction과 insoluble fraction의 항산화 효과는 다르다는 보고와, 변 등⁽¹⁶⁾의 80% 에탄올, 헥산과 물로 생강을 추출하여 어유에 대해 항산화 효과를 비교해 본 결과 모든 추출물은 항산화 효과가 있으나 물 추출물이 가장 강하다는 보고에 비추어 향신료의 항산화 효과의 크기는 추출용매에 따라 달라진다는 결론을 도출할 수 있었다. 한편 5가지의 향신료는 추출물의 농도에 따른 항산화 효과의 크기는 달랐으나 rosemary와 sage는 첨가 농도 2,000 ppm까지 항산화 효과가 증가하였으며 oregano, ginger, thyme은 농도가 증가함에 따라 항산화 효과의 증가 정도는 미약하였다. 농도에 따른 항산화 효과는 rosemary의 헥산 추출물이 가장 우수하였다. 이러한 결과는 Chang 등⁽¹⁷⁾의 라드, 대두유, 감자 칩에서 rosemary가 항산화 활성이 강하였다는 보고와 유사하였다.

Rosemary의 여러 항산화 성분 가운데 carnosic acid와 carnosol의 항산화 효과가 가장 우수하며⁽¹⁸⁾ 추출 용매에 따른 항산화 성분의 이행을 연구한 결과 항산화 효과가 가장 우수한 carnosic acid의 경우 헥산 추출물에서 100.3±2.4 mg/g으로 가장 높았으며 아세톤 추출물에서는 58.4±2.1 mg/g이었고 메탄올 추출물에서는 없었다. 그러나 다른 항산화 성분인 carnosol과 ursolic acid의 함량이 헥산 추출물에 비해 메탄올 추출물에서

높았다⁽¹⁹⁾. 따라서, rosemary는 메탄올, 에틸아세테이트, 헥산 추출물에서 모두 우수한 항산화 효과를 나타내었지만 주요 항산화 성분은 다르다는 것을 알 수 있었다. 또한 Cuvelier 등⁽²⁰⁾은 sage의 주요 항산화 성분이 carnosol, carnosic acid, rosmardial, rosmanol, epirosmanol, methyl carnosate라고 밝혔으며, 따라서 rosemary와 sage의 우수한 항산화 효과는 같은 성분에 의한 것임을 시사하고 있다.

Sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물과 rosemary의 헥산 추출물의 혼합에 의한 항산화 효과

최근 향신료의 맛을 향상시키기 위해 각종 식품에 혼합 향신료를 사용하고 있다. 대표적인 혼합 향신료⁽³⁾로는 chili powder, curry powder, pickling spices로, 이러한 혼합 향신료들은 맛의 개선과 보존성의 향상 및 이취 제거 등의 역할 때문에 다양하게 이용되고 있다. 따라서 일부 식품의 가공에 혼합 향신료를 사용한다는 점에서 향신료간의 조합에 따른 항산화성의 상승 효과를 조사하는 것은 중요한 것이라 할 수 있다. 따라서 앞의 실험 결과 항산화 효과가 가장 우수하게 나타난 rosemary의 헥산 추출물에 sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물을 혼합하여 항산화 상승 효과를 조사하였다. 즉 각각의 sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물에 항산화 효과가 가장 우수한 rosemary의 헥산 추출물을 1:1, 1:2, 1:3의 비율로 두 가지 추출물의 합이 200, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppm의 농도가 되도록 제조한 후 Rancimat으로 유도기간을 측정된 결과는 Table 3과 같다. Sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물에 rosemary의 헥산 추출물을 첨가한 경우 유도기간은 증가하였으나 같은 농도에서 rosemary의 헥산 추출물만을 사용한 것보다는 모두 유도기간이 짧았다. 즉 향신료의 조합은 항산화 효과가 우수한 rosemary의 첨가로 sage, oregano, ginger, thyme의 유도기간을 많이 연장시켰으나, 이의 연장효과는 상승효과라기 보다 항산화성이 강한 rosemary의 첨가에 의한 것이라고 판단되었다. Ginger와 thyme의 경우 단독으로 미강유에 첨가하였을 때 oregano보다 항산화 효과가 낮았으나, oregano와 rosemary를 혼합한 것보다 ginger와 thyme에 rosemary를 혼합한 것이 유도기간이 증가하여, rosemary의 혼합에 따라 ginger와 thyme의 항산화 효과가 크게 증가함을 알 수 있었다. 향신료를 혼합한 처리구 중 ginger와 rosemary의 조합을 첨가한 미강유의 유도기간이 가장 많이 증가하였으므로 sage, oregano, ginger, thyme 중 rosemary 첨가시 항산화 효과가 크게 향상되는 것

Table 3. Combined effects of hexane extract of rosemary with sage, oregano, ginger and thyme on the induction period of rice bran oil determined by Rancimat

Spices ¹⁾	200 ppm	500 ppm	1,000 ppm	1,500 ppm	2,000 ppm
RS	29.3 ^{2,3)}	36.6	42.8	47.4	52.0
SG	25.2	27.0	29.1	31.4	33.9
OR	24.0	24.7	26.1	27.3	28.4
GN	23.8	24.3	25.0	25.5	25.4
TH	23.4	24.0	25.0	25.1	25.6
SG ⁴⁾ +RS	1:1 27.5(0) ⁵⁾	33.0(-0.05)	39.2(-0.07)	43.6(1.93)	46.4(-0.11)
	1:2 28.4(+0.01)	34.6(-0.02)	40.5(-0.07)	43.8(-0.14)	48.0(-0.14)
	1:3 29.5(+0.05)	35.5(-0.02)	42.4(-0.01)	47.6(0)	47.9(-0.19)
OR+RS	1:1 26.3(0)	31.4(-0.05)	36.6(-0.08)	40.8(-0.07)	44.4(-0.07)
	1:2 29.5(-)	33.7(-)	40.1(0)	43.2(-0.06)	47.0(-0.08)
	1:3 30.0(-)	34.4(-)	41.2(+0.01)	45.8(+0.01)	47.5(-0.11)
GN+RS	1:1 26.8(-)	31.4(-0.04)	37.3(-0.03)	41.5(-0.01)	46.0(+0.05)
	1:2 28.2(-)	33.2(-)	40.5(+0.03)	44.2(0)	48.0(0)
	1:3 28.9(-)	34.8(-)	41.9(+0.05)	45.8(+0.02)	49.5(0)
TH+RS	1:1 26.1(-)	30.0(-0.09)	36.2(-0.07)	39.0(-0.06)	44.7(-0.01)
	1:2 29.1(-)	33.0(-)	39.0(-0.15)	42.0(-0.09)	45.8(-0.09)
	1:3 28.4(-)	34.4(-)	41.2(+0.03)	45.8(+0.03)	46.2(-0.13)

¹⁾RS=Rosemary, SG=Sage, OR=Oregano, GN=Ginger, TH=Thyme

²⁾See foot note No.1 of Table 2.

³⁾See foot note No.2 of Table 2.

⁴⁾SG+RS(1 : 1, w/w, 200 ppm)=Sage 100 ppm+Rosemary 100 ppm

⁵⁾Synergistic effect calculated from Economou's equation

은 ginger였다.

Sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물의 혼합에 의한 항산화 효과

항산화 효과가 강한 rosemary를 혼합할 경우 sage, oregano, ginger, thyme의 유도기간은 증가하였으나, 상승효과라기보다 rosemary의 항산화 효과에 의한 것이라 판단되어 rosemary보다 항산화 효과가 낮은 향신료들을 혼합하여 상승효과를 조사하였다.

Rosemary보다 항산화 효과가 낮은 sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물을 1:1 비율로 조합하여 두 가지 추출물의 합이 500 ppm과 1,500 ppm이 되도록 혼합한 뒤 Rancimat으로 유도기간을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 위의 4가지 향신료 중 sage의 항산화 효과가 우수하여 sage의 혼합시 유도기간이 증가하였고, 이는 Table 3에서 나타난 rosemary의 혼합효과와 유사하였다. 또한 1500 ppm 농도에서 단독으로는 ginger나 thyme보다 oregano가 우수하나, sage에 oregano, ginger, thyme을 조합한 경우 항산화 효과가 비슷하였고, 항산화 상승효과는 보이지 않았다. 그러므로 항산화 효과가 우수한 rosemary나 sage을 첨가할 경우에는 첨가한 비율만큼 항산화 효과가 증가하였으며, 항산화 효과가 낮은 oregano, ginger, thyme간의 혼합에서는 항산화 효과가 약하였다.

따라서 향신료간의 혼합에서는 항산화 효과가 우수

한 향신료의 조합뿐만 아니라 항산화 효과가 낮은 조합에서 농도와 혼합비율에 상관없이 상승효과를 발견할 수 없었다.

본 실험 결과 항산화성이 있는 향신료 추출물들의 조합에 따른 상승효과를 유도하여 항산화성 증진을 통한 향신료의 부가적인 효과를 보고자 하였으나, 향신료의 조합 결과 항산화 효과가 우수한 rosemary의 첨가로 sage, oregano, ginger, thyme의 유도기간이 상당히 많이 연장된 것은 상승효과라기보다 항산화성이 강한 rosemary의 첨가에 의한 것이라고 판단되었다. 또한 rosemary보다 항산화 효과가 낮은 향신료인 sage, oregano, ginger, thyme을 혼합하여 상승효과를 조사한 결과 상승효과를 발견할 수 없었다. 이러한 결론은 rosemary와 sage를 단독으로 사용한 농도보다 항산화 효과가 적었기 때문이었다. 그러나 향신료의 혼합에 따른 상승효과를 보고한 Economou 등⁽²¹⁾의 연구에서 이들은 항산화제의 상승효과를 다음과 같은 식으로 계산하였다.

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

$$(IP_M - IP_C) - (IP_1 - IP_C) - (IP_2 - IP_C) > 0$$

$$\text{or } IP_M/IP_C - IP_1/IP_C - IP_2/IP_C + 1 > 0$$

$$PF_M - PF_1 - PF_2 + 1 > 0$$

IP_M : 추출물 1과 2를 혼합하여 첨가한 시료의 유도기간

IP_1 : 추출물 1을 첨가한 시료의 유도기간

IP₂: 추출물 2를 첨가한 시료의 유도기간
 IP_c: 대조구의 유도기간(control sample)
 PF: 방어인자(Protection factor)
 = 추출물을 함유한 시료의 유도기간/대조구의 유도기간

위의 식에서 계산된 수치가 0보다 크면 상승효과가 있는 것이고, 0보다 작으면 상승효과가 없는 것이다. Table 3의 유도기간을 기준으로 하여 위의 식에 따라 상승효과를 계산한 결과 SA+RO는 200 ppm 농도에서 +synergism을 보이나 농도가 증가함에 따라 -synergism을 나타내었고, OR+RO와 TH+RO는 1,000과 1,500 ppm 1:3 비율에서 +synergism을 나타내어 rosemary의 첨가량이 증가할수록 +synergism을 나타내었다. GN+RO의 경우 1:1 비율에서 2,000 ppm을 제외하고는 -synergism을 보이나, 1:2와 1:3 비율에서는 1,000과 1,500 ppm사이에 +synergism을 보여 여기에서도 rosemary의 첨가량이 증가할수록 +synergism을 나타낸 것이었다. 향신료의 항산화 효과가 우수한 rosemary와 sage의 혼합은 -synergism의 정도가 크게 나타났다. Table 4의 유도기간을 기준으로 하여 위의 식에 따라 1:1 비율에서 상승효과를 계산한 결과는 ginger와 sage의 혼합을 제외하고 -synergism을 나타내었다. 위의 결과는 일부 향신료들이 위의 식으로 계산시 적절한 조합을 하면 +synergism을 나타낼 수 있다는 것을 보여주는 것이지만 상승효과라 함은 다른 항산화제와 함께 사용할 때 항산화제의 효과가 크게 증진하는 것을 말하며, 또한 혼합하기 전 단일물을 각각 측정하여 나타나는 항산화 효과의 합보다 혼합하였을때 더 뛰어난 항산화 효과가 있다면 향상된 만큼의 항산화 효과가 상승했다고 말할 수 있다. 따라서 Economou 등⁽²¹⁾의 상승효과 계산식을 적용한 결과에서 일부+synergism을 보였지만 이는 상승효과라기 보다 항산화성이 강한 rosemary의 첨가로 유도기간이 증가한 것이므로, 항산화 효과가 있는 것과 없는 것들을 혼합하여 상승효과를 조사하여야 할 것으로 사료되었다.

총페놀함량측정

Phenolic acid가 항산화 효과를 보인다는 보고⁽²²⁾가 있어 19가지 향신료 추출물의 총페놀함량을 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다.

메탄을 추출물의 경우 801~17,924 mg%로 cassia 17,924 mg%, thyme 17,163 mg%, turmeric 16,969 mg%, rosemary 14,492 mg% 였으며 대부분 총페놀 함량이 높은 것이 항산화 효과도 우수하였으나 cassia,

Table 4. Combined effect of hexane extract of sage, oregano, ginger and thyme on the induction period of rice bran oil determined by Rancimat

Spices ¹⁾	500 ppm	1,500 ppm
SG	27.0 ^(2,3)	31.4
OR	24.7	27.3
GN	24.3	25.5
TH	24.0	25.1
OR+SG ⁴⁾	25.6(-0.05) ⁵⁾	30.0(-0.03)
GN+SG	24.3(-0.08)	30.0(0)
TH+SG	25.0(-0.06)	28.9(-0.04)
GN+OR	23.8(-0.05)	25.2(-0.09)
TH+OR	23.6(-0.05)	25.6(-0.06)
TH+GN	23.1(-0.06)	24.3(-0.09)

¹⁾See foot note No.1 of Table 3.

²⁾See foot note No.1 of Table 2.

³⁾See foot note No.2 of Table 2.

⁴⁾OR+SG(1:1, w/w, 500 ppm = Oregano 250 ppm+Sage 250 ppm

⁵⁾See foot note No.5 of Table 3.

Table 5. Total phenolic content of the curry spices extracted by methanol, ethylacetate and hexane

(unit: mg%)

Curry spices	Methanol	Ethylacetate	Hexane
Black pepper	4,482	2,371	1,670
Cardamon	801	483	128
Cassia	17,924	13,150	244
Celery seed	4,769	478	126
Clove	3,545	1,354	360
Coriander	2,287	57	12
Cumin	1,015	137	73
Curry powder	4,902	1,972	394
Fennel	1,928	141	21
Fenugreek	1,488	187	19
Ginger	9,996	10,850	6,864
Laurel	12,849	2,641	264
Marjoram	11,648	5,304	306
Nutmeg	7,143	2,339	1,842
Oregano	11,471	13,893	1,483
Rosemary	14,492	9,241	6,246
Sage	9,853	4,757	3,510
Thyme	17,163	10,329	1,358
Turmeric	16,969	13,890	859

¹⁾Values are mean of triplications.

marjoram, laurel의 경우는 총페놀 함량이 높는데 비해 항산화 효과는 우수하지 않았다.

에틸아세테이트 추출물의 경우 57~13,893 mg%로 oregano 13,893 mg%, turmeric 13,890 mg%, cassia 13,150 mg%, ginger 10,850 mg%, rosemary 9,241 mg%로 전반적으로 총페놀 함량이 높은 향신료가 항산화 효과도 우수하였다.

헥산 추출물의 경우 12~6,864 mg%로 ginger 6,864 mg%, rosemary 6,246 mg%, nutmeg 1,842 mg%,

Table 6. Total tocopherol content in hexane extracts of the rosemary, sage, oregano, ginger and thyme
(unit: mg%)

Spices	Total tocopherol content
Rosemary	571.1
Sage	1014.8
Oregano	3194.8
Ginger	N.D.*
Thyme	187.0

*N.D. = Not Detected

black pepper 1,670 mg%, oregano 1,483 mg%로 rosemary, sage, oregano, ginger, thyme 등 총페놀함량이 높은 시료의 항산화 효과가 우수하였으나 페놀함량과 항산화 효과의 경향이 일치하지는 않았다. 이는 향신료의 항산화 효과가 총페놀함량보다는 특정 페놀성분에 기인하는 것으로 생각되며 black pepper의 경우 19가지 향신료중 총 페놀함량이 중간 정도이나 미강유 자체보다 유효기간이 짧았다.

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물의 총토코페롤 함량

Rosemary, sage, oregano, ginger, thyme의 헥산 추출물의 토코페롤 함량은 Table 6에 나타내었다. Oregano가 3194.8 mg%로 가장 높았으며, sage 1014.8 mg%, rosemary 571.1 mg%, thyme 187.0 mg%였고 ginger에서는 토코페롤이 없었다. Oregano의 경우 α -토코페롤이 322 mg%였고 γ -토코페롤이 2872 mg%로 γ -토코페롤 함량이 월등히 높았는데 이는 Lagouri와 Boskou⁽²³⁾가 4품종의 oregano를 헥산으로 추출하여 토코페롤 함량 분석시 모두 γ -토코페롤이 많았다는 결과와 유사하였다. Ginger와 rosemary 조합시 토코페롤 함량이 가장 낮았으며 oregano와 rosemary 조합시 토코페롤 함량이 가장 높았다. Rancimat의 유효기간 결과와 비교해 보면 oregano와 rosemary의 조합시, ginger와 rosemary의 조합, thyme과 rosemary의 조합에 비해 항산화 효과가 약하였는데, 토코페롤의 경우 그 농도와 기질에 따라 항산화 효과 뿐만 아니라 산화촉진효과^(24,25)도 있음이 고찰된 바 있으므로 oregano의 높은 토코페롤함량과 관련이 있는 것으로 사료된다. 또한 토코페롤 isomer의 항산화 연구에서 α -토코페롤, γ -토코페롤, δ -토코페롤의 항산화 효과와 $\alpha/\gamma(1:1)$, $\alpha/\delta(1:1)$, $\delta/\gamma(1:1)$ -토코페롤의 항산화 효과를 aqueous model system에서 Rancimat로 유효기간을 측정한 결과 상승효과를 발견할 수 없었다는 보고⁽²⁶⁾가 있어 rosemary, sage, oregano, ginger의 헥산 추출물간의 조합시 토코페롤 함량과 종류에 따른 상승효과를 기대할 수 없는

결과와 관련이 있는 듯하다.

결론적으로 19가지 향신료의 메탄올, 에틸아세트, 헥산 추출물 중 rosemary, sage, oregano, ginger, thyme 이 전반적으로 우수하였으며 그 중 rosemary 헥산 추출물이 가장 우수한 항산화 효과를 나타냈다. 따라서 헥산 추출물 중 sage, oregano, ginger, thyme에 rosemary를 혼합하여 상승효과를 살펴본 결과 상승효과라기 보다는 항산화성이 우수한 rosemary로 인한 연장 효과임을 알 수 있었으며 항산화 효과가 크게 향상된 것은 ginger였다.

요 약

카레분의 단품향신료와 카레분(curry powder)을 메탄올, 에틸아세테이트, 헥산으로 추출하여 수율, 항산화 효과, 총페놀함량, 총토코페롤 함량을 측정하였다. 메탄올, 에틸아세테이트, 헥산의 추출 수율은 각각 6.4~42.9, 3.9~26.2, 1.6~29.2 %로 극성이 높아질수록 수율이 증가하였다. 미강유의 각 용매별 추출물을 1,500 ppm 첨가하여 Rancimat로 유효기간을 측정한 결과 메탄올 추출물은 rosemary, sage, ginger, turmeric, nutmeg 순으로 우수하였고, 에틸아세테이트 추출물은 rosemary, sage, oregano, thyme, ginger의 순이었으며 헥산 추출물은 rosemary, sage, oregano, ginger, thyme 순이었다. 1,500 ppm을 미강유에 첨가하였을 때 BHT 보다 유효기간이 길게 나타난 향신료는 3가지 용매 추출물에서 공통적으로 rosemary, sage, ginger, oregano, thyme이었으며 이들 향신료를 200, 500, 1,000, 1,500, 2,000 ppms 농도로 미강유에 첨가한 후 유효기간을 측정한 결과 rosemary와 sage는 헥산 추출물 2,000 ppm에서, ginger는 메탄올 추출물 2,000 ppm에서 우수한 효과를, oregano와 thyme은 에틸아세테이트 추출물이 1,500 ppm과 2,000 ppm에서 큰 차이 없이 우수한 효과를 나타내었다. Rosemary의 혼합에 따라 ginger와 thyme의 항산화 효과가 크게 증가함을 알 수 있었으나 상승효과라기 보다는 rosemary로 인한 유효기간의 연장 효과였다. 총페놀 함량은 메탄올 추출물은 17,924~801 mg%, 에틸아세테이트 추출물은 13,893~57 mg%, 헥산 추출물은 6,864~12 mg%이었으며 총페놀함량과 항산화 효과가 일치하지는 않았다. 토코페롤의 경우 oregano가 3194.8 mg%로 가장 높았으며, sage 1014.8 mg%, rosemary 571.1 mg%, thyme 187 mg%였고 ginger에서는 토코페롤이 검출되지 않았으며 토코페롤함량과 항산화 효과는 뚜렷한 상관관계가 발견되지 않았다.

참고문헌

1. Branen, A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisol and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-63 (1975)
2. Cho, S.Y., You, B.J. Chang, M.H., Lee, S.J. Sung, N.J. and Lee, E.H. Screening for the antioxidants in unused marine resources by the polarographic method. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 417-421 (1994)
3. Farrell, K.T. Spices, Condiments, and Seasonings, pp.225-233. In: *Spices blends*. AVI Publishing, Co., Inc., New York, USA (1985)
4. Nagashima, T. Koizumi, Y. Yamada, M. and Yanagida, F. Changes of volatile components in spices for curry making after heat treatments. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34: 469-473 (1987)
5. The year book of Korean Food. pp.415-420. In: *Seasoning food. The agriculture fisheries livestock news* (1997)
6. Chung, C.K., Park O.K., Yoo I.J., Park K.M. and Choi C.U. Antimicrobial activity of essential oils of curry spices. *Korean J. Food Sci. Technol.* 22: 716-719 (1990)
7. Koizumi, Y., Nagashima, T. and Yamada, M. The chemical constituents and sensory test of commercial cooked curry. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 33: 316-322 (1986)
8. Koizumi, Y., Nagashima, T. and Yamada, M. The fatty acid components and free fatty acid in commercial cooked curry. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 33: 323-328 (1986)
9. Nagashima, T., Koizumi, Y., Yamada, M. and Yanagida, F. Free amino acid, organic acid, color and sensory evaluation in commercial cooked curry. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 33: 529-536 (1986)
10. Nagashima, T., Koizumi, Y., Yamada, M. and Yanagida, F. Volatile components of commercial cooked curry. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 33: 561-565 (1986)
11. Koizumi, Y., Nagashima, T., Yamada, M. and Yanagida, F. Changes of aroma components in the course of processing commercial cooked curry. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34: 244-248 (1987)
12. Gutfinger, T. Polyphenols in olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc. Nov.*: 966-968 (1981)
13. A.O.C.S. Official Methods and recommended practices of the American oil chemists' society fourth edition, Ce 8-89, Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC, pp.514-515. Champaign, Illinois, USA(1989)
14. Chipault, J.R., Mizuno, G.R., Hawkins, J.M. and Lundberg, W.O. The antioxidant properties of natural spices. *Food Res.* 17: 46-55 (1952)
15. Saito, Y., Kimura, Y. and Sakamoto, T. Studies on the antioxidant properties of spices. III. The antioxidant effects of petroleum ether soluble and insoluble fractions from spices. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi* 29: 505-510 (1976)
16. Byun, H.S., Kim, S.B. and Park, Y.H. Antioxidative effect of ginger extracts on fish oil. *Bull. Korean Fish. Soc.* 19: 327-332 (1986)
17. Chang, S. S., Ostric-Matijasevic, B., Hsieh, O.A.L. and Huang, C.L. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* 42: 1102-1106 (1977)
18. Richeimer, S.L., Bernart, M.W., King, G.A., Kent, M.C. and Bailey, D. T. Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73: 507-514 (1996)
19. Chen, Q., Shi, H. and Ho, C.T. Effects of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soybean lipoxygenase activity. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69: 999-1002 (1992)
20. Cuvelier, M.E., Berset, C. and Richard, H. Antioxidant constituents in sage(*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.* 42: 665-669 (1994)
21. Economou, K.D., Oreopoulou, V. and Thomopoulos, C.D. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 109-113 (1991)
22. Lee, K.Y. Antioxidants effects of phenolic compounds isolated from deffated perilla seed flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 9-14 (1993)
23. Lagouri, V. and Boskou, D. Nutrient antioxidants in oregano. *International J. Food Sci. Nutr.* 7: 493-497 (1996)
24. Huang, S.W., Frankel, E.N. and German, J.B. Effect of individual tocopherols and tocopherol mixtures on the oxidative stability of corn oil triglycerides. *J. Agric. Food Chem.* 43: 2345-2350 (1995)
25. Huang, S.W., Frankel, E.N. and German, J.B. Antioxidant activity of α - and γ -tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2108-2114 (1994)
26. Rankin, S.A. and Pike, O.A. Cholesterol autoxidation inhibition varies among several natural antioxidants in an aqueous model system. *J. Food Sci.* 58: 653-655 (1993)

(1999년 10월 25일 접수)