

미나리과 산채의 아질산염 소거능

노광석 · 양미옥 · 조은자
성신여자대학교 식품영양학과

Nitrite Scavenging Effect of *Umbelliferaeaceae*

Kwang-Seok Noh, Mi-Ok Yang and Eun-Ja Cho
Department of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

Abstract

The nitrite scavenging effect of three kinds of edible wild plants belong to *Umbelliferaeaceae* family was investigated. The contents of crude protein, crude lipid and β -carotene of the plants were in the range of 22.99~31.00%, 3.51~5.08% and 5.40~19.81 mg%, respectively. The content of ascorbic acid was very low and selenium was not detected in any samples. The contents of linoleic acid and linolenic acid were 66.46~77.44%. The content of total phenol was 875.77 mg% in *Ledebouriella seseloides* WOLFF, which was the highest among the samples. The methanol fraction of the plant extract showed higher nitrite scavenging effect than the water fraction. The nitrite scavenging effects of the samples were the highest at pH 1.2 and lowest at pH 6.0, suggesting that it's pH dependent. Nitrite scavenging effect of methanol-soluble fractions obtained from *Ledebouriella seseloides* WOLFF was 95.3% at pH 1.2, which was the greatest among tested samples. There was a high correlation between the nitrite scavenging effect and the total phenol content.

Key words : *Umbelliferaeaceae*, nitrite scavenging effect

1. 서 론

육가공품 제조시 첨가제로 많이 사용되고 있는 아질산염은 육색소인 myoglobin 및 hemoglobin과 작용함으로써 nitrosomyoglobin과 nitrosohemoglobin을 생성하여 발색을 좋게 하며¹⁾, 육제품의 독특한 풍미도 향상시킨다. 또한 *Clostridium botulinum*의 성장을 억제하여 식중독을 예방하고, 산패를 방지함으로써 저장 중 산패취 발생을 감소시킨다^{2,3)}. 그러나 아질산염이 니트로사민의 전구체인 nitrous anhydride (N_2O_3)와 같은 활성 니트로소화 물질을 생성하고, 이 nitrous anhydride가 2차 아민과 결합하여 발암물질인 N-nitrosamine을 생성하는 것으로 알려진^{4,5)} 이후 니트로사민 생성 억제 인자에 대한 연구가 진행

되었다. Mirvish등⁶⁾에 의해 ascorbic acid가 니트로사민 생성을 억제한다고 보고한 이래, α -tocopherol, 황 화합물, 총 phenol 화합물 등⁷⁾도 니트로사민의 생성 억제 효과가 있는 것으로 알려졌다. 이들은 nitrosating agent를 빠르게 파괴하거나 반응성이 없는 물질로 환원시키는 역할을 하므로 니트로사민 생성이 억제되거나 완전히 방지된다. 이들은 니트로사민 생성의 기질인 아민과 경쟁적으로 작용하며, 생성억제 정도는 상호 간의 농도 및 pH에 의해 영향을 받는다. 최근에는 니트로사민 생성억제인자의 함량이 높은 천연추출물에서 아질산염 소거능에 대한 연구가 이루어지고 있다. 김 등^{8,9)}은 채소 추출물(마늘, 산초, 생강, 양파, 파, 당근)과 해조추출물(김, 미역, 청각, 파래)의 아질산염 분해능을 실험한 결과 전반적으로 분해능이 있는 것으로 나타났고, pH가 낮을수록 분해능이 우수하다고 하였다. 버섯류¹⁰⁾, herb추출물¹¹⁾, 녹즙추출물¹²⁾, 기호유료¹³⁾도 아질산염 소거능이 있는 것으로 알려졌다. 본 연구에서는 미나리과 산채인 참나물(*Pimpinella brachycarpa* NAKAI), 신선초(*Angelica*

Corresponding author : Kwang-seok Noh, Sungshin Women's University, 249-1, Dongsun dong 3-ga, Sungbuk-gu, Seoul, 136-742, Korea
Tel : 02-921-3815
Fax : 02-925-4501
E-mail : vamos@hanmail.net

keiskei KOIDZ), 방풍(*Ledebouriella seseloides* WOLFF)의 항산화물질과 아질산염 소거능을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 참나물, 신선초는 가락동 농수산물시장에서 구입하였고, 방풍은 거제도에서 구입하였다. 3회 수세하여 자연 건조시켜 마쇄하여(후드믹서 FM-680W, 한일 전기 주식회사) 425 µm 체에 통과시킨 다음 polyethylen bag에 밀봉하여 냉동 저장하면서 실험하였다.

2. 일반성분

수분함량은 105°C 상압가열건조법, 조단백질함량은 semi-micro kjeldahl법, 조지방 함량은 soxhlet 추출법, 조회분은 직접회화법으로 측정하였다¹⁴⁾.

3. β-carotene 측정

β-carotene은 A.O.A.C.법¹⁴⁾을 사용하였으며, HPLC(Jasco, Japan) 분석 조건은 Column:µ-Bondapak C₁₈, Detector:UV(460 nm), Mobile phase:MeOH:CH₃CN:THF = 35:58:7, Flow rate:1.0 mL/min, Column temp.:40°C로 하였다.

4. ascorbic acid 측정

ascorbic acid는 A.O.A.C.법¹⁴⁾으로 측정하였다. HPLC(Jasco, Japan)의 조건은 Column:YMC-Pack Polyamine II (4.6×250 mm), Detector:UV (254 nm), Mobile phase:CH₃CN: 50 mM NH₄H₂PO₄ (70:30% v/v), Flow rate:1.0 mL/min, Column temp.:40°C로 하였다.

5. Selenium(Se) 측정

Se은 건식법¹⁴⁾으로 전처리하였으며, Se 표준물질(High-Purity사)은 ICP-AES(Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrophotometer, Jobin Yvon JY138 Utrace, France)용으로 사용하였다. 이때 ICP-AES의 조건은 Power:1KW for aqueous, Nebulizer Pressure:3.5 bars for meinhard type C, Aerosol flow rate:0.3 L/min, sheath gas flow:0.3 L/min, cooling gas:12 L/min, wavelength(nm):196.090, Detection limit:75.0 ppb로 하였다.

6. 페놀 화합물

총 페놀 화합물은 A.O.A.C.법¹⁴⁾으로 하였다.

7. 지방산 조성

ether로 지질을 추출하여 감압농축 시킨 다음 약 200 mg을 취하여 메틸에스터화시켰다¹⁴⁾. 분석시 GC(Hewlett packard 6890, U.S.A.)의 칼럼은 BP-10 (0.3 mm×25 m), injection port는 230°C, detection port는 250°C, 오븐은 초기온도 160°C부터 3°C/min의 속도로 220°C까지 높였다. 사용한 가스는 헬륨, 시료 주입량은 0.2 µL, split ratio는 50:1, 검출기는 FID였다.

8. 아질산염 소거능

수용성 획분은 건조 시료 10 g에 증류수 250 mL를 가하여 5시간 교반 후 원심분리하여 상등액을 여과하여 얻었고, 메탄올 가용성 획분은 메탄올 250 mL를 가하여 수용성 획분 처리와 같이하여 얻었다.

산채 추출물의 아질산염 소거능은 Kato¹⁵⁾의 방법으로 측정하였다. 즉 아질산나트륨 용액 1mL에 산채 추출물 0.5 mL의 시료를 가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2) 및 0.2 M 구연산완충용액(pH 4.2 및 6.0)을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 4.2 및 6.0으로 조정하여 반응용액을 10 mL로 정용하였다. 이를 37°C에서 1시간동안 반응시킨 다음 반응액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 mL, Griess 시약(30% acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanylic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것, 사용 직전에 조제) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합시켜 15분간 실온에서 방치시킨 후 spectrophotometer (Ultrostec 2000, Pharmacia biotech, Sweden)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염량을 구하였다. 그리고 공시험은 Griess 시약 대신 증류수를 0.4 mL 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거능은 산채가루 첨가 전후의 아질산염 백분율(%)로 표시하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B} \right) \times 100$$

N : 아질산염 소거율

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

B : NaNO₂ 용액의 흡광도

C : 시료 자체의 흡광도

9. 통계처리

SAS(Statistics Analytical System, USA) 프로그램¹⁶⁾

Table 1. The content of proximate composition and antioxidants in wild plants (Unit: %, Dry Base)

Sample	Content	proximate composition			antioxidants			
		Crude protein	Crude ash	Crude lipid	β -carotene	Ascorbic acid	Selenium	Total phenol
PBN ¹⁾		30.20	22.28	4.81	11.19	0.10	N.D. ⁴⁾	617.87
AKK ²⁾		31.00	16.58	5.08	19.81	N.D.	N.D.	716.57
LSW ³⁾		22.99	10.49	3.51	5.40	0.27	N.D.	875.77

1) PBN - *Pimpinella brachycarpa* NAKAI2) AKK - *Angelica keiskei* KOIDZ3) LSW - *Ledebouriella seseloides* WOLFF

4) N.D. - not detected

을 이용하여 pearson 상관계수(r)를 구하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 일반성분 및 항산화물질

시료의 일반성분은 조단백질은 22.99~31.00%, 조지방은 3.51~5.08%, 조회분은 10.49~22.28%였다. β -carotene 함량은 신선초가 19.81 mg%로 가장 높았고, 참나물이 11.19 mg%, 방풍이 5.40 mg%였다. 아질산염 소거능⁷⁾이 있는 ascorbic acid 함량은 Table 1과 같이 매우 적은 양이 검출되었다. 김 등¹⁷⁾은 신선초 전초의 ascorbic acid 함량이 생체당 20.20 mg%라고 보고했으나, 본 실험에는 검출되지 않았다. 이는 산채를 건조, 분쇄, 동결 저장하는 과정에서 대부분의 ascorbic acid가 파괴되었을 것으로 사료되어진다. Se(Selenium)은 Table 1과 같이 모든 시료에서 검출되지 않았다. 정¹²⁾은 신선초 생즙에서 Se 함량이 생체당 0.61 ppb라고 하였으나, 김 등¹⁷⁾의 신선초 전초와 생즙 연구에서는 Se이 모두 검출되지 않았다. 산채 가루의 총 페놀 화합물의 함량은 건물당 617.87~875.77 mg%범위로 이 중 방풍이 875.77 mg%로 가장 높은 함량을 보였고, 신선초, 참나물 순이었다(Table 1). 이 등¹⁸⁾은 45가지의 채소류에서

식물성 페놀 함량이 건물당 150~1670 mg%라고 보고한 바 있으며 정¹²⁾의 연구에서도 신선초의 총 페놀 함량이 건물당 576.9 mg%로 보고하였다. 페놀성 물질은 phenolic hydroxyl 그룹이 단백질 또는 효소 단백질, 기타 거대분자와 결합해서 효소활성을 저해하고 단백질의 침전을 초래하고 씹은 맛을 주어 식이섭취량을 저하 시키나¹⁹⁾, 페놀 성분에 의한 항산화²⁰⁾, 항돌연변이성, 항균성²¹⁾, 아질산염 소거능²²⁾ 등 기능성에 관한 많은 보고가 있다.

2. 지방산 조성

지방산 조성은 Table 2와 같이 참나물에서 7종, 신선초에서 6종, 방풍에서 9종의 지방산이 검출되었다. 주요 지방산 조성비를 보면 전체 지방산 중 linoleic acid, linolenic acid가 참나물에서는 74.55%, 신선초에서는 77.44%, 방풍에서는 66.46%를 나타냈다. 김 등¹⁷⁾의 신선초 전초의 분석 결과 linoleic acid, linolenic acid가 높은 함량(58.58%)을 보고하여 본 실험결과와 비슷하였다.

3. 산채 추출물의 아질산염 소거능

1) 수용성 획분의 아질산염 소거능

산채에서 추출한 수용성 획분의 아질산염 소거능 실험 결과는 Fig. 1과 같다.

아질산염 소거능은 phenol 함량이 가장 많은 방풍이 가장 높았고, 참나물, 신선초 순으로 높다. pH 1.2에서 57.8~72.6%, pH 4.2에서 18.7~25.1%, pH 6.0에서는 7.1~10.2%로 3가지 산채 모두가 pH가 낮을수록 아질산염 소거능이 높은 것으로 나타났다.

Walker 등²³⁾은 phenol류인 catechol이 산성 조건에서 amine 보다는 더 경쟁적으로 nitrite와 반응한다고 하였으며, 이 등²⁴⁾은 차류, 약용 식물류, 해조류, 채소류 및 과일류의 아질산염 분해작용이 pH 1.2에서 가장 크다고 보고한 바 있으며 그 외 많은 연구에서도 낮은 pH에서의 아질산염 소거능이 우수함을

Table 2. Comparison of fatty acid composition in wild plants (unit: %)

Fatty acids	PBN ¹⁾	AKK ²⁾	LSW ³⁾
Myristic (C _{14:0})	1.50	0.48	1.77
Palmitic(C _{16:0})	19.72	17.83	17.30
Stearic(C _{18:0})	0.86	1.26	1.53
Elaidic(C _{18:1})	1.70	3.00	2.15
Linoleic(C _{18:2})	34.07	46.72	47.69
Linolenic(C _{18:3})	40.48	30.72	18.77
Arachidic(C _{20:0})	trace	trace	1.84
Eicosenoic(C _{20:1})	trace	trace	7.13
Behenic(C _{22:0})	1.65	trace	1.81

1) PBN - *Pimpinella brachycarpa* NAKAI2) AKK - *Angelica keiskei* KOIDZ3) LSW - *Ledebouriella seseloides* WOLFF

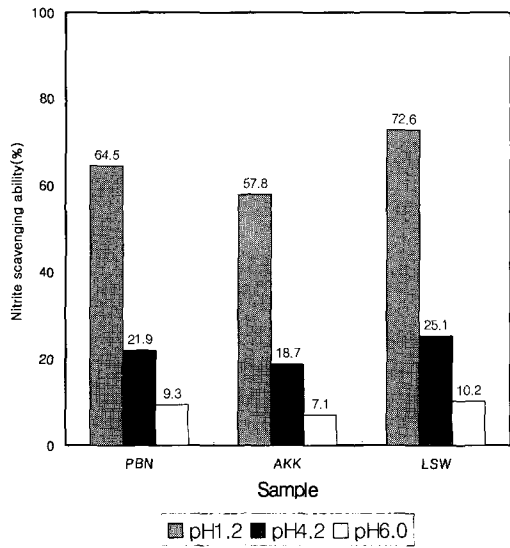


Fig. 1. Nitrite scavenging effect of water soluble fractions obtained from each wild plants under different pH conditions

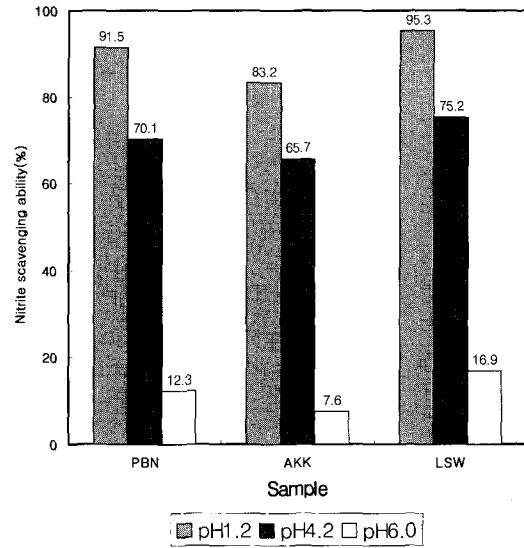


Fig. 2. Nitrite scavenging effect of methanol soluble fractions obtained from each wild plants under different pH conditions

보고하였다^{8,9,11,12}. 정¹²)은 위내 pH 조건인 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 가장 높은 것은 녹즙추출물이 니트로사민 생성억제를 효과적으로 할 것이라고 보고하였다.

2) 메탄올 가용성 획분의 아질산염 소거능

메탄올 가용성 획분의 아질산염 소거능의 실험결과를 Fig. 2와 같이 방풍 > 참나물 > 신선초의 순으로 방풍이 수용성 획분에서와 마찬가지로 아질산염 소거능이 가장 우수한 것으로 나타났다. pH 1.2에서 83.2~95.3%, pH 4.2에서 65.7~75.2%, pH 6.0에서 7.6~16.9%로 수용성 획분과 마찬가지로 pH 1.2에서 아질산염 소거능이 가장 높았다. 수용성 가용성 획분이 pH 4.2에서 급격하게 떨어지는 것에 비해 메탄올 가용성 획분은 pH 6.0에서 급격하게 아질산염 소거능이 떨어졌다. 모든 pH에서 메탄올 가용성 획분의 아질산염 소거능은 수용성 획분보다 높아 정¹¹)의 연구와 같은 경향이였다. 이 등²⁴)은 수용성

보다 유기용매 추출된 획분에서 그 아질산염 소거능이 뛰어났는데, 이는 아질산염 소거에 영향을 주는 물질의 대부분이 유기용매에 용해성이기 때문이라고 보고하였다

4. 총 페놀 화합물과 아질산염 소거능과의 관계

총 페놀 화합물과 아질산염 소거능과의 상관관계는 Table 3과 같이 높은 상관관계를 나타내었다. 이와 같은 nitrosation의 저해는 nitrosating agent가 nitric oxide, nitrous oxide 혹은 nitrogen 같은 무해한 산물로 전환되기 때문이다. 각종 phenol성 화합물은 산성조건에서 N-nitromorpholine 형성 즉 nitroso화 반응을 강력하게 억제하며²⁵) dihydroxyphenol류가 nitrous acid에 의해 quinon으로 산화되고 nitrous acid는 무해한 nitric oxide로 변화된다²⁶). 본 실험에서 총 페놀 화합물 함량이 높은 방풍이 아질산염 소거능이 가장 우수하였는데 이는 총 페놀 화합물이 높은 케일 녹즙이 아질산염 소거능이 우수하였다는 정¹²)의

Table 3. Correlation coefficients between the nitrite scavenging effect of water soluble fraction and methanol soluble fraction

	Nitrite scavenging ratio					
	pH 1.2		pH 4.2		pH 6.0	
	W ¹⁾	M ²⁾	W	M	W	M
Total phenol	0.66684	0.44744	0.66648	0.65782	0.81215	0.62036

1) W : Water soluble fractions
2) M : Methanol soluble fractions

연구 결과와 일치하였다. 참나물 추출물이 신선초에 비해 총 페놀 화합물의 함량이 낮는데도 불구하고 아질산염 소거능이 높은 것은 ascorbic acid와 α -tocopherol와 같은 페놀 화합물 이외에 니트로사민 생성 억제 인자에 의한 것으로 생각되어진다.

IV. 요약

미나리과 산채인 참나물, 신선초, 방풍의 조단백은 22.99~31.00%, 조지방은 3.51~5.08%였으며, β -carotene은 5.40~19.81 mg%, ascorbic acid는 미량 함유하였고, Selenium은 모든 시료에서 검출되지 않았다. 총 페놀 함량은 617.87~875.77 mg%를 나타내었으며, 이 중 방풍이 가장 높은 함량을 보였다. 참나물, 신선초, 방풍의 지방산 조성은 전 지방산 중 linoleic acid와 linolenic acid가 66.46~77.44%를 차지하였다. 아질산염 소거능은 참나물, 신선초, 방풍 모두에서 메탄올 가용성획분이 수용성획분에 비하여 높은 소거능을 보였고, pH 1.2 > 4.2 > 6.0 순으로 소거능이 높았다. 방풍의 메탄올 가용성획분의 아질산염 소거능이 pH 1.2에서 95.3%로 가장 높았으며, 다음이 참나물, 신선초 순이었다. 총 페놀과 아질산염 소거능은 높은 상관관계를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 1999년 성신여자대학교 학술 연구 조성비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Fox, J. B., Jr. and Thomson, J. S. : Formation of bovine nitrosylmyoglobin. *Biochim.*, 2:465, 1964
2. Duncan, C. L. and Foster, E. M. : Effect of sodium chloride and sodium nitrate on germination and out growth of anaerobic spores. *App. Microbiol.*, 16:406, 1968
3. Roherts, T.A. : The microbiological role of nitrite and nitrate. *J. Sci. Food Agric.*, 26:1755, 1975
4. Wolf, I. A. and Wasserman, A. E. : Nitrates, nitrite and nitrosamine. *Science*, 177:15, 1972
5. Shank, R. C. : Toxicology of N-nitrosocompounds. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 31: 361, 1975
6. Mirvish, S. S.: Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Cancer Inst.*, 44:633, 1970
7. Bartsh, H., Ohshima, H. and Pignatelli, B. : Inhibition of endogenous nitrosation : Mechanism and implication in human cancer prevention. *Mutation Research*, 202:307, 1988
8. 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 김동수 : 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로사민생성인자 분해작용 1. 야채추출물의 아질산염 분해작용. *한국수산학회지*, 20(5):463, 1987
9. 김선봉, 안병원, 염동민, 이동호, 박영호, 김동수 : 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로사민생성인자 분해작용 2. 해조추출물의 아질산염 분해작용. *한국수산학회지*, 20(5):469, 1987
10. 이기동, 장학길, 김현구 : 버섯류의 항산화 및 아질산염 소거작용. *한국식품과학회지*, 29(3):432, 1997
11. 정혜경, 노경림 : Herb추출물의 전자공여능, 항균활성 및 아질산염 소거능 검색. *한국조리과학회지*, 16(4):372, 2000
12. 정소영 : 녹즙의 항산화 영양성분과 아질산염 소거, 항산화 및 항암효과에 관한 연구. 연세대학교 박사학위논문, 1997
13. 도정료, 김선봉, 박영호, 박영범, 김동수 : 기호음료 성분의 아질산염 소거작용. *한국식품과학회지*, 25(5):530, 1993
14. Sullivan, D. M. and Carpenter, D. E. : A.O.A.C. international Methods of Analysis for Nutrition Labeling. Ed., A.O.A.C. international Virginia, U.S.A., 1993
15. Kato, H., Lee, I. E., Chuyen, N. V., Kim, S. B. and Hayase, F. : Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Bio. Chem.*, 51(5):1333, 1987
16. 김종섭 : SAS를 이용한 통계자료분석방법. 학문사, 1998
17. 김옥경, 궁성실, 박원봉, 이명환, 함승시 : 명일엽 전초 및 생즙의 영양성분 분석. *한국식품과학회지*, 24(6):592, 1992
18. 이정희, 이서래 : 국내산 식물성 식품 중 페놀성 물질의 함량 분석. *한국식품과학회지*, 26(3):310, 1994
19. Kumar, R. and Singh, M.: Tannins : Their adverse role in ruminant nutrition. *J. Agric. Food Chem.*, 32:447, 1984
20. Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. : Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56:324, 1992
21. 이정희, 이서래 : 식물성 식품중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성. *한국식품과학회지*, 26(3):317(1994)
22. 강윤환, 박용근, 이기동 : 페놀성 화합물의 아질산염 소거 및 전자공여 작용. *한국식품과학회지*, 28(2):985, 1996
23. Walker, E. A., Pignatelli, B. and Friensen, M. : The role of phenols in catalysis of nitrosamine formation. *J. Sci. Food Agric.*, 33:81, 1982
24. 이수경, 정미자, 신정혜, 성낙주 : 천연식물성분이 아질산염 소거에 미치는 영향. *식품위생학회지*, 15(2):88, 2000
25. Cooney, R. V. and Ross, P. D. : N-nitroation and N-nitration of morpholine by morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution Effect of vanillin and related phenols. *J. Agric. Food Chem.*, 35:789, 1987
26. Pignatelli, B., Scriban, R., Descotes, G. and Bartsch, H. : Modifying effect of polyphenols and otherconituents of beer on the formation of N-nitroso compounds. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 42:18, 1984

(2001년 9월 11일 접수, 2002년 2월 8일 채택)