

추출 조건을 달리한 감초부산물 추출물의 성분 특성

강명화[†] · 박춘근* · 차문석* · 성낙술* · 정혜경 · 이제봉**

호서대학교 식품영양학과

*농촌진흥청 작물시험장

**농업과학기술원

Component Characteristics of Each Extract Prepared by Different Extract Methods from By-products of *Glycyrrhizia uralensis*

Myung-Hwa Kang[†], Chun-Geon Park*, Moon-Seok Cha*, Nak-Sul Seong*,
Hae-Kyung Chung and Je-Bong Lee**

Dept. of Food Science & Nutrition, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

*National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

**National Institute of Agricultural Science & Technology RDA, Suwon 441-707, Korea

Abstract

Solid contents, free sugars, phenolic compounds and glycyrrhizin of extracts obtained from by-products of *Glycyrrhizia uralensis* by three different methods, i.e., shaking, heating, and static methods, were determined. Solid contents of extracts obtained by shaking, heating and static method were 15.6%, 15.0% and 5.3%, respectively. Phenolic compound contents of them were 11.33 mg/100 mL, 11.21 mg/100 mL and 10.15 mg/100 mL. Main free sugars in the extracts from the by-products of *G. uralensis* were fructose, glucose, sucrose, and maltose. Glycyrrhizin content of the extracts from the by-products of *G. uralensis* were 2.79%, 3.54% and 0.63%, respectively. Extract obtained by the shaking methods had an ability of donating electron to DPPH. The relative antioxidant effects of the extract obtained from the shaking method showed 70% inhibitory effect of peroxidation on egg yolk lecithin.

Key words: antioxidant, glycyrrhizin, *Glycyrrhizia uralensis*, phenolic compound

서 론

감초(*Glycyrrhizia uralensis* FISCH)는 원산지가 내몽고로 콩과에 속하는 다년생 초본식물이다. 뿌리를 약재로 사용하며 맛이 달고 독이 없으며 따뜻한 기운을 가지고 있으며 심, 폐, 위경맥에 작용하는 것으로 알려져 있고, 유용, 습양, 생창 등에 활용된다(1,2).

감초의 주성분은 사포닌 계통의 글리시리진(glycyrrhizin)이며 liquiritigenin, liquiritin 등의 flavonoid도 미량 존재한다(3). 글리시리진은 항알레르기(4), 만성 간염(5) 및 AIDS를 포함한 바이러스성 질환(6)에 뛰어난 치료효과가 있는 것으로 증명되면서 의약품의 원료로 사용되고 있다. 劉(7)는 감초 추출물이 간염, 위암 및 복수암에 항암효과가 있다고 보고하였다. Mori 등(8)은 AIDS 환자에게 감초를 다량 투여한 결과 면역 및 간 기능을 증가시킨다고 하였고, Ahn 등(9)은 감초 추출물 중 liquiritigenin이 *Listeria monocytogenes* 균에 대해 항균 활성을 나타내는 물질임을 밝혔다.

의약품으로 개발된 제품에 관하여는 보건사회부의 품질관리 기준에 따라 추출액을 첨가한 제품에 유효성분 함량을 표시하도록 규정하고 있는데 감초는 지표성분인 글리시리진으로 2.5% 이상 함유되어야 한다고 한다(10). 감초는 굵기에 따라 4등급으로 나뉘어 시판되고 있는데 특호감초는 뿌리 직경이 1.9~2.6 cm 길이가 20~45 cm, 1등급은 뿌리 직경이 1.3~1.9 cm 길이가 20~45 cm, 2등급은 뿌리 직경이 1.0~1.3 cm 길이가 20~45 cm, 3등급은 뿌리 직경이 0.7~0.9 cm 길이가 20~45 cm로 나뉘어 유통되고 뿌리 직경이 0.7 cm 이하인 경우 부산물로 취급된다(11).

생약은 자연에서 채취한 그대로 이용하기도 하지만 많은 약재가 천일건조나 화력건조하여 분쇄한 파우더 형태로 또는 용매 및 물 추출 후 엑기스로 만들어 식품에 첨가한다(12).

본 연구에서는 뿌리직경이 0.7 cm 이하로 건재 약재로 사용할 수 없는 지근 및 세근으로부터 추출한 부산물의 글리시리진 함량과 성분특성에 관하여 조사한 결과를 보고하고자 한다.

[†]Corresponding author. E-mail: kang0mh@netian.com
Phone: 82-41-540-5340, Fax: 82-41-548-0670

재료 및 방법

재료

본 시험은 작물시험장 약용작물 시험포장에서 만주감초 (*Glycyrrhiza uralensis* FISCH. et DC)를 재식밀도 50×20 cm로 1998년 4월 20일에 육묘하여 1999년 4월 20일에 증식, 동년 11월 20일에 수확하였다. 수확 후 물을 이용해 수세한 후 60°C의 건조기에서 건조시켜 뿌리 직경이 0.7 cm 이하인 한약재로 사용되지 않는 부산물을 실험재료로 사용하였다.

추출방법

감초 부산물의 최적 추출 조건을 확립하고 추출방법에 따른 추출액의 특성을 규명하고자 3가지 추출 방법을 사용하였다. 감초 부산물 20 g에 증류수 250 mL를 넣어 실온에서 교반기로 5시간 동안 저어주면서 3회 반복 추출하였다(Shaking). 감초부산물 20 g에 증류수 250 mL를 가하고 환류 냉각관을 부착한 후 70°C에서 5시간씩 3회 반복 추출하였다(Heating). 감초부산물 20 g에 증류수 250 mL를 넣어 5시간 동안 실온에 방치하는 방법을 3회 반복하였다(Static). 추출이 끝난 후 Whatman No. 2 여과지를 사용하여 여과하였다. 모든 추출물은 회전 감압 농축기를 사용하여 40°C에서 감압 농축한 후 동결 건조시켜 -20°C의 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다.

페놀성 화합물의 정량

AOAC의 Folin-Denis 법을 일부 변형하여 비색정량하였다(13). 건조 시료 0.03 g을 1 mL의 증류수에 녹인 후 다시 증류수로 20배 희석하여 분석 시료로 사용하였다. 시료 0.2 mL에 2% Na₂CO₃를 2.0 mL 넣어 2분간 실온에 정치한 뒤 50% Folin-Denis 시약을 0.2 mL 가하고 혼합하여 실온에서 30분 정치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tannic acid를 0.025~0.25 mg/mL의 농도로 조제하여 표준 곡선을 작성하여 계산하였고 모든 처리는 3회 반복하였다.

글리시리진 함량의 측정

감초 글리시리진 함량 측정은 Kim 등(14)의 방법에 따라 Table 1의 조건으로 HPLC system를 사용하였고 글리시리진 표준품(Wako, Japan)을 사용하여 검량선을 작성한 후 계산하였다.

유리당 함량의 측정

동결건조 시킨 분말 0.03 g을 증류수 1 mL에 녹여 실온에서 10분간 750×g에서 원심분리한 후 상등액을 취하여 유리

당 함량을 측정하였다. 유리당 함량은 Table 2의 조건으로 HPLC(Waters Associates, USA) system을 이용하였다.

추출물의 전자공여능 측정

각 시료의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 전자공여능(electron donating ability)을 측정하였다. 각 추출물 0.03 g을 증류수 1 mL에 녹여 다시 증류수로 30배 희석하였다. 수용액 0.5 mL에 DPPH 용액(DPPH 6 mg을 50 mL의 에탄올에 완전히 용해시킨 후 50 mL 증류수 첨가한 액) 3 mL를 가하여 10초간 잘 섞은 후 517 nm에서 10분간 흡광도의 변화를 측정하였다.

항산화효과의 측정

각 추출물의 항산화 효과는 Tsuda 등(15)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 일정량의 egg yolk lecithin을 chloroform에 녹인 후 질소가스로 용매를 완전히 제거하고 일정 농도의 추출물, 2 mM FeSO₄, 2 mM ascorbic acid를 첨가하고 잘 섞은 후 37°C에서 30분간 incubation한 후 과산화지질 생성량을 2-thiobarbituric acid reactive-substance(TBARS)법에 의하여 측정하였다. 각 추출물의 항산화효과는 글리시리진 표준품(Wako, Japan)과 시료 대신 물을 첨가(Control)하여 비교하였고 계산은 다음과 같이 하였다.

$$\text{Relative antioxidative effect (RAE) TBARS (\%)} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A: 시료 무첨가군의 흡광도(대조군)

B: 시료 첨가군의 흡광도

결과 및 고찰

감초 추출물의 고형분 함량 및 페놀 함량

3가지로 추출 방법을 달리한 감초 부산물 추출물의 동결 건조 후 건조물의 고형분 함량 및 페놀성 화합물 함량을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 추출 5시간 후 고형분 함량은 교반추출법(shaking) 15.6%, 진탕추출법(heating) 15.0%, 정지추출법(static) 5.3%로 교반하거나 진탕 추출하는 것이 정지추출보다 유의적으로 높았다. 또한 페놀성 화합물 함량을 측정된 결과 교반 11.21 mg/100 mL, 진탕 11.33 mg/100 mL, 정지 10.15 mg/100 mL로 나타나 총 페놀성 화합물의 함량은 진탕한 경우 유의적으로 높게 나타났다.

글리시리진 함량

생약재의 지표 성분은 약리 효능이 있으면서 정량이 가능

Table 1. Operating conditions of HPLC for analysis of glycyrrhizin contents

Column	Capcellpak C 18
Mobile phase	Water : Acetonitrile : Acetic acid = 60 : 40 : 1 (v/v/v)
Detector	UV 254 nm
Flow rate	0.8 mL/min

Table 2. Operation conditions of HPLC for analysis of free sugars

Column	Supelco LC-NH ₂ (25 cm×4.6 mm USA)
Column temperature	40°C
Mobile phase	Acetonitrile : Water = 80 : 20 (v/v)
Detector	Waters 410 RI detector
Flow rate	1.5 mL/min

Table 3. Solid yield and total phenolic compounds in each extract prepared from by-products of *G. uralensis*

Extraction method	Solid content (g/100 mL)	Total phenolic compounds (mg/100 mL)
Shaking ³⁾	15.6 ± 1.14 ^{1)a}	11.21 ± 0.04 ^{b2)}
Heating ⁴⁾	15.0 ± 2.23 ^a	11.33 ± 0.02 ^a
Static ⁵⁾	5.3 ± 0.34 ^b	10.15 ± 0.03 ^c

¹⁾Values are Mean ± SD, n=3.

²⁾Different letters in the same line show statistically significant difference by Duncan's multiple range test (a>b>c).

³⁾Shaking: Shake for 5 hr by shaker at room temperature

⁴⁾Heating: Heating for 5 hr at 70°C with reflux

⁵⁾Static: Fixation for 5 hr at room temperature

한 성분으로 품질관리를 하는데 지표로 삼을 수 있어야 한다. 감초의 약효성분으로 알려져 있는 글리시리진은 항바이러스(6), 항간염(5) 및 항암(16) 등의 효과가 있는 것으로 보고되어져 있다. 그러나 과량의 글리시리진은 심장질환, 부종, 고혈압, 두통 및 체중증가 등의 부작용을 일으키므로 섭취시 주의해야 한다(17). 감초부산물로부터 추출 방법을 달리한 추출물의 지표 성분인 글리시리진 용출량 측정결과는 Fig. 1과 같다. 진탕시 글리시리진 함량이 3.54%, 교반과 정치의 경우는 각각 2.79%, 0.63%로 나타났다. 생약규격집(10)에 의하면 생약 감초의 화학적 품질 평가법으로 글리시리진 함량이 2.5% 이상으로 나타나 있다. 본 실험에서는 진탕 및 교반에 의해 추출한 경우 글리시리진 함량이 2.5% 이상으로 나타나 생약규격집의 품질평가 기준에 적합한 것으로 나타났다. 한편 정치의 경우 글리시리진이 거의 용출되지 않는 것으로 나타나 글리시리진 함량이 높은 추출물을 제조할 경우 진탕이나 교반에 의한 방법이 적당할 것으로 생각된다.

유리당 함량

동결 건조한 감초 추출물의 유리당 함량을 HPLC로 분석한 결과 Table 4와 같다. 주요 유리당은 fructose, glucose, sucrose 및 maltose이며, 특히 fructose 함량이 높은 것으로 나타나 감초의 감미도가 높은 것은 단맛의 강도가 제일 강한

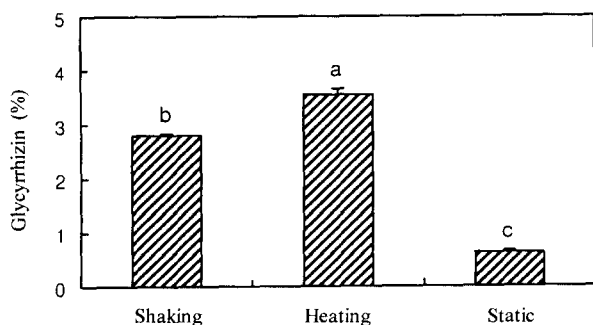


Fig. 1. Glycyrrhizin contents in each extract prepared from by-products of *G. uralensis*.

See footnote in Table 3. All values are Mean ± SD, n=3. Different letters in superscript show statistically significant difference by Duncan's multiple range test (a>b>c).

Table 4. The amount of free sugars in crude extracts prepared by three different extract methods (%)

Free sugar	Shaking	Heating	Static
Fructose	0.88	1.15	1.18
Glucose	0.71	0.21	0.47
Sucrose	0.45	0.24	0.87
Maltose	0.62	0.65	0.15
Total	2.66	2.25	2.67

See footnote in Table 3.

과당이 많기 때문인 것으로 생각된다. 유리당의 전체 함량은 정치와 교반에 의해 높게 나타났고 진탕의 경우 낮았다. 이러한 결과는 열 처리시 추출물의 amino-carbonyl 반응으로 인해 당이 다른 성분으로 분해되었거나 중합반응으로 유리당의 양이 감소되었기 때문인 것으로 생각된다. Shin 등(18)은 천마를 열처리시 당이 감소하는 결과를 보고하였는데 본 연구 결과 감초도 진탕할 경우 총 당함량이 감소한 것으로 나타났다. Kim 등은 6년근 감초 포복경의 유리당 함량을 측정할 결과 fructose 2.2%, glucose 1.1%, sucrose 10.1%, maltose는 2.0%로 보고하여 본 결과보다 당 농도가 높게 나타났으며 (14) 이러한 차이는 감초의 재배기간이 길수록 당 농도가 증가하고 또한 구성하는 당의 종류도 달라졌기 때문인 것으로 생각된다.

DPPH에 의한 전자공여능

전자공여능은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 제공하여 연쇄반응을 정지시켜 산화를 억제시키는 척도가 된다. 산화성 free radical은 인체내에서 지질 및 단백질 등과 반응하여 각종 질병 및 노화를 일으키므로 free radical을 제거할 수 있는 항산화제를 식물에서 찾으려는 연구가 시도되고 있다(19). Fig. 2는 추출방법을 달리한 감초 부산물 추출물의 항산화 작용의 지표가 되는 전자공여능을 측정할 결과 교반에 의한 추출물은 초기부터 강한 전자공여능을 나타내었으나 진탕 및 정치 추출물은 약하게 나타났다. 교반 추출물이 높은 전자 공여능을 나타낸 것은 폴

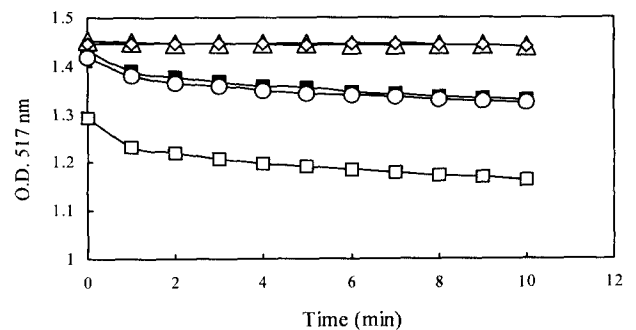


Fig. 2. Change of absorbance by the electron donating ability in each extracts prepared by the three different extract conditions.

See footnote in Table 3.

□— Shaking ■— Heating ○— Static
 △— Glycyrrhizin ◇— Control

리페놀 성분이 잘 추출되어졌을 것으로 추정되며 이로부터 높은 환원력의 결과로 나타나 전자공여능이 높게 나타난 것으로 생각된다. 진탕의 경우 총 페놀함량은 높게 나타났으나 교반에 의한 추출물보다 전자공여능이 약하게 나타난 것으로 보아 추출방법에 따라 함량뿐 아니라 폴리페놀의 종류에도 차이가 있는 것으로 생각된다. 한편 글리시리진 표준품과 시료 무첨가군(Control)은 전자공여능을 나타내지 않아 항산화 효과가 없는 것으로 생각된다. 감초의 지표 성분인 글리시리진이 항산화 활성을 나타낸다(5)고 보고하였으나 본 연구 결과 글리시리진은 전자 공여능이 없는 것으로 나타나 항산화 활성을 나타내지 않는 것으로 나타났다.

Lecithin 산화방지 효과

Egg yolk lecithin을 기질로 하여 2 mM FeSO₄와 2 mM ascorbic acid를 가하여 생성되는 reactive oxygen species인 hydroxy radical에 의해 산화를 유도한 후 lecithin 산화 정도를 TBARS로 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 산화저해율은 교반 추출물 70%, 진탕 38%, 정치 58% 및 글리시리진 30%로 나타났다. 교반 추출물에서 lecithin 산화를 강하게 억제시켰고, 정치 추출물도 진탕 추출물보다 유의적으로 lecithin 산화를 억제하는 것으로 나타났다. 페놀성 화합물은 지방산 산화의 초기 생성물질인 hydroperoxide와 기타 반응물질과 반응하여 산화를 억제시키는 것으로 보고되어져 있고(20) 또한 페놀성 화합물이 radical 생성 촉진 물질인 metal ion(Fe, Cu)과 쉽게 결합하여 macrophage나 free cells 상태에서 free radical의 형성을 감소시킨다고 보고하였다(21). 교반에 의한 추출물 중 페놀성 화합물이 레시틴 산화를 억제시킨 것으로 생각된다. 진탕시에는 글리시리진 함량과 총 페놀 함량은 높게 나타났으나 항산화 활성은 교반에 의한 추출물보다 낮게 나타났다. 열 추출시 수용성 물질이 파괴되어 다른 물질로 전환되었을 가능성도 배제할 수 없으므로 추출방법에 따른

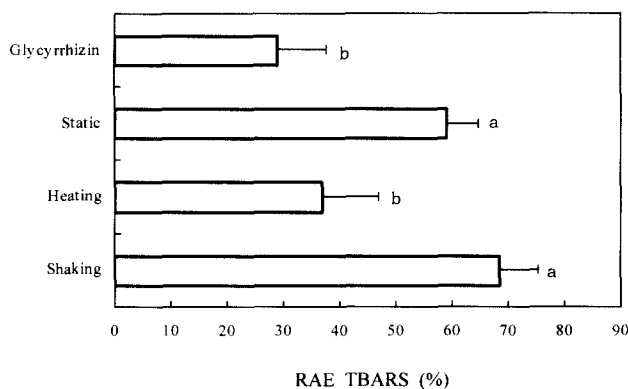


Fig. 3. Relative antioxidative effects of each extract prepared from by-products of *G. uralensis* on the peroxidation of egg yolk lecithin.

See footnote in Table 3. RAE represent relative antioxidative effects. All values are Mean \pm SD, n=3. Different letters in superscript show statistically significant difference by Duncan's multiple range test (a>b).

추출물에 함유되어 있는 항산화성분의 종류와 이화학적 특성 등에 관한 더 자세한 검토가 수행되어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

감초부산물을 조건을 달리하여 추출하고, 그 추출물을 동결건조 시켜 추출물의 고형분 함량, 페놀함량, 유리당 함량, 글리시리진 함량 및 추출액의 항산화 효과를 측정하였다. 수율은 교반 15.6%, 진탕 15.0%, 정치 5.3%로 나타났고 총 페놀 함량은 교반 11.21 mg/100 mL, 진탕 11.33 mg/100 mL, 정치 10.15 mg/100 mL였다. 지표성분인 글리시리진 함량은 교반 2.79%, 진탕 3.54%, 정치 0.63%로 진탕시 글리시리진 추출효율이 높았다. 감초 추출물의 주요 유리당은 fructose, glucose, sucrose 및 maltose로 나타났고 특히 과당이 높았다. 이들 추출물의 lecithin 산화 억제 효과 측정 결과 교반에 의한 추출물에서 높은 항산화 효과를 나타내었다.

문 헌

- 張民床: 腫瘤中藥的臨床應用. 人民衛生出版社, 中國, p.363-364 (1998)
- 李時珍: 本草綱目. 人民衛生出版社, 中國 (1982)
- 陳存仁: 圓說 漢方藥 大事典. 中國藥學大典, 東都文化史, 第3卷, p.256-259 (1984)
- Kumagai, A., Nanaboshi, M., Asanuma, Y., Yagura, T. and Nishino, K.: Effect of glycyrrhizin on thymolytic and immunosuppressive action of cortisone. *Endocrinol. Jpn.*, **14**, 39-42 (1967)
- Kiso, Y., Tohin, M., Ino, H., Hattori, M., Saamoto, T. and Namba, T.: Mechanism of antihepatotoxin activity of glycyrrhizin I. Effect on free radical generation and lipid peroxidation. *Planta Medica*, **50**, 298-302 (1984)
- Pompei, R., Flore, O., Marcialis, M.A., Pani, A. and Loddo, B.: Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and activates virus particles. *Nature*, **281**, 689-690 (1979)
- 劉春安: 抗癌中草藥大辭典. 湖北科學技術出版社, 中國, p.260-265 (1994)
- Mori, K., Sakai, H. and Suzuki, S.: Effects of glycyrrhizin in hemo-philiapatsients with HIV-1 infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, **162**, 183-193 (1990)
- Ahn, E.Y., Shin, D.H., Baek, N.I. and Oh, J.A.: Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis* FISCH. *Kor. J. Food. Sci. Technol.*, **30**, 680-687 (1998)
- 한국의약품 수출입 협회: 한약(생약)규격집 (2000)
- 王軼荃外 22人: 中國藥用植物栽培學. 中國醫學科學院藥用植物資源開發研究所, 農業出版社 (1988)
- 육창수: 국내 시판 생약함유제액의 현황. 생약제제의 평가방향에 관한 워크샵, 국립보건원, 서울, p.3 (1991)
- AOAC: *Official Methods of Analysis*. 14th ed., Washington, D.C., p.876 (1980)
- Kim, Y.K., Kim, K.S., Bang, J.K., Yu, H.S. and Lee, S.T.: Growth characteristics, glycyrrhizin and free sugar content of licorice species. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **6**, 108-113 (1998)
- Tsuda, T., Yoshinori, F., Katsumi, O., Yamamoto, A., Kawakishi, S. and Osawa, T.: Antioxidative activity of tamarined

- extract prepared from the seed coat. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, **42**, 430-435 (1995)
16. Mirsalis, J.C., Hamilton, C.M., Schindler, J.E., Green, C.E. and Abbs, J.E. : Effects of soya bean flaes and liquorice root extract on enzyme induction and toxicity in B6C3F1 mice. *Food Chem. Toxicol.*, **31**, 343-350 (1993)
 17. Groot, G.D., Hogendoorn, R., Koops, E.A., Goewie, C.E., Savelou, T.J. and Vanlote, I.P. : Improvement of selectivity and sensitivity by column switching in the determination of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in human plasma by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **456**, 71-81 (1988)
 18. Shin, C.S., Park, C.K., Lee, J.W., Lee, J.G., Jang, C.K. and Kim, Y.J. : Analysis of the components with freeze drying and steam drying of *Gastrodia elata* blume. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1058-1063 (1999)
 19. Yu, P.B. : Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, **74**, 134-162 (1994)
 20. Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. : Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 7915-7922 (1993)
 21. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. : Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.*, **186**, 1-85 (1990)

(2000년 10월 5일 접수)