Korean Journal of Food Preservation Vol. 11. No. 3, pp.352~357 (2004) 한국식품저장유통학회지

구기자 추출물의 추출특성 및 항산화 효과

김현구† · 나경민 · 예수향 · 한호석
한국식품개발연구원

Extraction Characteristics and Antioxidative Activity of *Lycium chinense* Extracts

Hyun-Ku Kim†, Gyung-Min Na, Su-Hyang Ye and Ho-Suk Han
Korea Food Reasearch Institute, Songnam 463-746, Korea

Abstract

The present study was conducted to investigate extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinense* extracts. *Lycium chinense* were extracted by reflux extraction(RE) under different extraction conditions including solvent. The solid yield, turbidity, color value, titratable acidity, free sugar contents, electron donating ability(EDA) and superoxide dismutase(SOD)-like ability of *Lycium chinense* extracts were determined. The highest solid yield value were obtained with water of 10 fold. No significant difference in turbidity and color value were found among the extracts prepared with various extraction solvents, 75% ethanol, 50% ethanol and water. The highest titratable acidity were obtained with water of *Lycium chinense*. The free sugar contents of *Lycium chinense* extracted with water showed the highest value. *Lycium chinense* extracts with water included higher contents of free sugar compared with those of the other solvent extracts, 50% ethanol and 75% ethanol extracts. The total polyphenol compounds content of *Lycium chinense* extracted with 50% ethanol showed the highest value. *Lycium chinense* extracts with 50% ethanol included higher contents of total polyphenol compound compared with those of the other solvent extracts, water and 75% ethanol extracts.

Key words : *Lycium chinense*, electron donating ability(EDA), superoxide dismutase(SOD)-like ability

서 론

구기자(*Lycium chinense*)는 가지과에 속한 구기자나무의 성숙한 과실을 건조한 것으로 우리나라를 비롯한 중국, 대만, 일본 등지에서 자생하거나 재배되고 있는 생약재로 한방에서는 인삼 등과 함께 독성이 없는 120종의 상약군으로 취급하고 있다(1,2). 구기자는 달며 성질은 차고, 간과 신장에 작용하여 시력을 개선하고 몸이 허약하여 생기는 병을 다스리며 근육과 뼈를 강하게 한다(3). 구기자의 주요 유효성분으로는 betaine, zeaxanthin, β-sitosterol, physalien, cholin 등이 있으며, 그 중에 가장 대표적인 성분으로 알려져 있는 것이 betaine과 zeaxanthin이다. Betaine은 수용성으로 물을 용매로 하는 차나 탕에 존재하고, zeaxanthin은 지용성으로 ethanol과 같은 유기용매에 추출 되어 나오는 주요 기능성 성분이다(4).

†Corresponding author. E-mail : hyunku@kfri.re.kr,
Phone : 82031-780-9134, Fax : 82-31-709-9876

국내 식품 산업에 있어서 생약자원의 이용은 민간 전통요법에서 비롯되었기 때문에 민간에서 전해오던 생약재를 산업화하기 위한 기초연구 및 제품화 연구가 활발히 진행되어 돌연변이 억제(5) 및 항 염증(6), 항산화, 항보체 활성(7), 항고혈압(8), 해독작용(9), 콜레스테롤 및 혈청 지질 저하물질(10) 등 다양한 생리 활성물질이 함유되어 있음이 구명되었다. 인체의 노화와 질병을 유발하는 free radical은 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되며, 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(11). 이러한 유해 free radical을 억제하는 생리작용으로는 전자공여작용, SOD유사활성 등이 있으며, 전자공여능은 산화성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제하며, SOD유사활성은 생체 내에서 생성되며, 전자환원으로 반응성과 파괴성이 매우 큰 superoxide anion radical을 제거하기 위해 분비되는 superoxide dismu-tase (SOD)와 유사한 역할을 하여 superoxide anion radical을 정상상태의 산소로 전환시켜 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(12). 따라서 생약재 내의 이러한 작용을 하는 유효물질들을 섭취함으로 인해 산화적 장해를 방어하고 노화를 억제하는 효과를 기대

할 수 있다(13)는 연구 보고와 같이 본 연구에서는 구기자 추출액의 추출 특성과 추출액의 항산화성을 검토하여 구기자의 추출 조건을 결정함으로써 구기자 유효성분의 식품 소재화를 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 구기자는 경동시장에서 2004년 2월에 구입하여 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

적정 추출 용매비

구기자의 적정추출 용매비를 결정하기 위하여 구기자에 대한 water의 비율을 8배, 10배, 12배, 14배로 달리하고, 환류 냉각 추출 장치를 이용하여 100℃로 3시간 동안 가열 추출하면서 가용성 고형분량을 측정하여 적정 용매 비율을 결정하였다.

추출액 제조

구기자 일정량에 water, 50% ethanol, 75% ethanol 용액을 각각 적정 비율로 가하여 100℃에서 3시간 동안 추출한 후 Whatman No. 2 여과지로 여과하여 시료로 사용하였다.

가용성 고형분 함량

구기자 적정 용매비의 water, 50% ethanol, 75% ethanol을 각각 가하여 100℃에서 3시간 동안 추출하면서 가용성 고형분량의 변화를 측정하였다. 가용성 고형분(soluble solid)은 굴절당도계(Hand refrectometer, model N1, range : 0~35%, Atago, Japan)를 사용하여 상온에서 3회 측정한 후 °Brix로 나타내었다.

탁도 및 색도 측정

추출액의 탁도(turbidity)는 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출한 시료를 spectrophotometer (V-550, Jasco, Japan)를 이용하여 650 ㎚에서 측정하여 흡광도로 나타내었다.

색도는 색차계(Color difference meter, Color QUEST II Sphere System, USA)를 이용하여 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출한 시료의 L(명도), a(적색도), b(황색도)값을 측정하였다. 이때 표준 백색판의 L, a, b값은 99.93, -0.09, -0.02 이었다.

적정 산도 및 유리당 함량

추출액의 산도는 water, 50% ethanol, 75% ethanol 추출 시 추출 완료 시점에서 산도를 측정하였다. 적정 용액으로는 0.1N NaOH용액을 사용하였으며, 적정시 pH 8.3의 종말점까지 소비된 0.1N NaOH 용액의 양을 측정하여 사과산(malic acid)함량으로 환산하였다.

유리당 함량은 HPLC(TCM, Waters, Japan)를 사용하여 측정하였다. 이때 이동상은 78% acetonitrile 이었고, flow rate는 1.0 mL/min 이었으며, 분석에 사용한 column은 carbohydrate column (4.60×250㎜, Waters, U.S.A), 검출기는 RI detector (RI-903, Jasco, JAPAN)를 사용하였다.

총 폴리페놀의 함량 측정

총 폴리페놀의 함량(total polyphenol content)은 분석방법으로 널리 사용되고 있는 Folins-Denis방법(14)으로 측정하였으며, 각각의 추출조건에 따라 제조된 추출액의 2배희석액을 사용하였다. 즉, 희석액 5 mL에 Folin reagent 5 mL을 가하고 3분간 정치한 다음 5 mL의 10% Na_2CO_3용액을 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 후 분광광도계를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하고 (+)catechin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

전자공여능

추출물의 전자공여작용(electron donating abilities, EDA)은 Kang 등(15)의 방법을 변형하여 각각의 추출물에 대한 DPPH(α,α-diphenyl-picrylhydrazyl)의 전자공여효과로 각 시료의 환원력을 측정하였다. 즉, 추출물 0.2 mL에 4×10^{-4}M DPPH용액(99.9% EtOH에 용해) 0.8 mL, 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 2 mL와 99.9% EtOH 2 mL을 가하여 총액의 부피가 5 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 약 10초간 혼합하고 실온에 10분 방치한 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 추출물의 첨가 전·후의 차이를 백분율로 나타내었다.

$$EDA(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도
B : 추출물 무첨가구의 흡광도

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

SOD 유사활성의 측정은 Marklund와 Marklund의 방법을 변형한 Kim 등(16)의 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 각 추출물을 감압 농축한 Tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl]amino-methane+10 mM EDTA, pH 8.5)를 이용하여 pH 8.5로 조절된 시료액을 만들었다. 각 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 Tris-HCl buffer(50 mM tris[hydroxymethyl] amino-methane +10 mM EDTA) 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL

를 가하고 25℃에서 10분간 방치 후 1 mL 1N HCl 로 반응을 정지시킨 후 분광광도계(UV/VIS spectrometer, Jasco, Japan)를 이용하여 420 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료 첨가 및 무 첨가구간의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$SOD\text{유사활성}(\%) = (1 - \frac{A}{B}) \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도
B : 추출물 무첨가구의 흡광도
단, A, B는 대조구의 흡광도를 제외한 수치임.

결과 및 고찰

추출 용매 비율

용매와의 비율을 결정하기 위하여 구기자 대한 water의 비율을 8배, 10배, 12배, 14배로 달리하여 환류냉각 추출장치로 가열 추출하면서 시간별로 추출되어 나오는 가용성 고형분량을 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 8배의 water를 가했을 때 30분까지 급격하게 상승하다가 100분 이후에는 평형에 도달하였으며 10배의 water를 가했을 때는 30분까지 급격하게 상승하다가 50분 이후 평형에 도달하였다. 12배와 14배는 60분까지 완만하게 상승하다가 이후에는 평형에 도달하였다. 각 시료의 8배, 10배, 12배, 14배 처리구별 추출 수율은 구기자의 경우 각각 51.2%, 52.0%, 51.6%, 51.8%, 나타나 물과의 비율이 10배일 때 추출 수율이 가장 좋은 것으로 나타나 적정 용매비로 결정하였다.

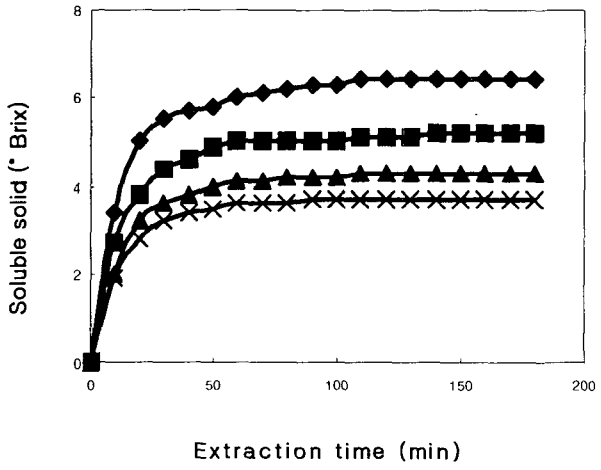

Fig. 1. Changes in soluble solid contents of *Lycium chinense* with various water extract ratio.

가용성 고형분 함량

구기자에 10배의 water, 50% ethanol, 75% ethanol을 가하여 3시간 동안 추출하면서 가용성 고형분량의 변화를 측정하여 Fig. 2에 나타내었다. 전반적으로 다른 두 용매에 비해 water 추출에서 5.0 °Brix로 가장 높은 가용성 고형분 함량을 나타내었고, 50% ethanol, 75% ethanol 추출에서는 비슷한 가용성 고형분 함량을 나타내었다. 추출 완료 시점은 100분이내 인 것으로 나타났다.

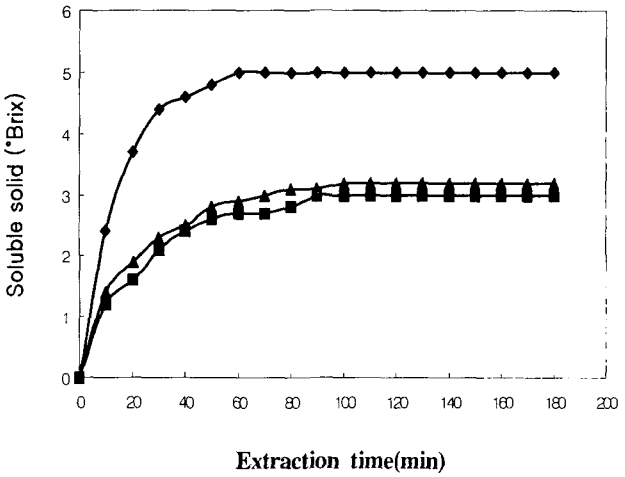

Fig. 2. Changes in soluble solid contents of *Lycium chinense* extracts with various solvents

탁도 및 색도

추출액의 탁도는 Fig. 3과 같이 50% ethanol 추출 시 가장 높았고, 75% ethanol 추출 시 가장 낮았다.

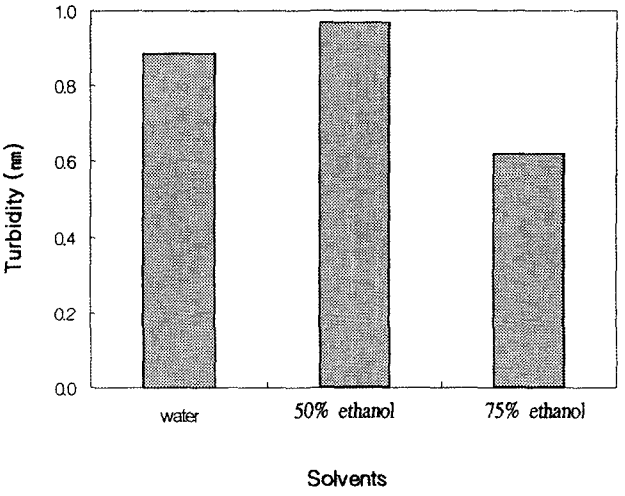

Fig. 3. Changes in turbidity of *Lycium chinense* extracts with various solvents.

Fig. 4은 추출액의 색도 변화를 나타낸 것으로 75% ethanol 추출 시 L값과 b값이 가장 높게 나타났으며, L값과 b값은 ethanol 농도가 증가할수록 높아졌고, a값은 ethanol 농도와 상관없이 거의 변화가 없었다. 이러한 결과에서 ethanol 농도가 증가할수록 추출액의 색이 밝아져 관능적으로 우수할 것으로 판단된다.

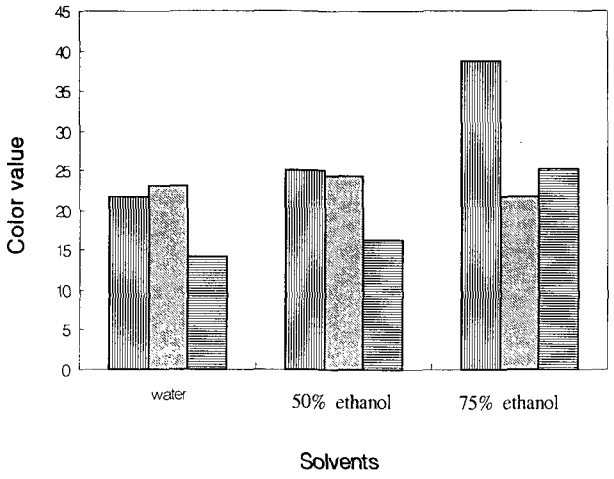

Fig. 4. Changes in Hunter's value of *Lycium chinense* extracts with various solvents.

▥ L ▨ a ▤ b

적정산도 및 유리당 함량

구기자 추출액의 적정산도와 유리당 함량을 측정한 결과는 Table 1에 나타내었다. 구기자는 추출용매의 ethanol 함량이 감소할수록 산도가 높아지는 경향을 보였다.

Table 1. Titratable acidity and free sugar contents in *Lycium chinense* extracts with various solvents

	Solvents	Free sugar(%)			Titratable acidity(mg%)
		fructose	glucose	sucrose	
Lycium chinense	Water	5.22	4.40	1.18	0.75
	50% ethanol	4.57	3.16	1.04	0.72
	75% ethanol	4.53	2.79	0.35	0.69

구기자 추출액의 유리당 함량은 fructose 4.53~5.22 mg%, glucose 2.79~4.40 mg%, sucrose 0.35~1.18 mg% 로 나타났으며, 이는 구기자의 당질이 fructose와 glucose가 대부분이고 sucrose가 소량 함유되어 있다(17)는 것과 같은 결과를 보여주었다. 추출 용매별 유리당의 함량은 water 추출액이 다른 추출 용매에 비해 높게 나타났으며 ethanol 함량이 증가할수록 유리당 함량은 감소하는 것으로 나타났다.

총 폴리페놀의 함량 측정

Polyphenol이란 한 분자내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl 기를 가진 방향족 화합물들을 가리키며, 산야초류, 과채류 등 농산물의 중요 성분의 하나로 광범위한 스펙트럼의 in-vitro 제약활성을 나타내므로 인체 건강에 대한 잠재적 유용효과가 널리 인정되고 있다(7). Fig. 5는 구기자 추출액의 총 폴리페놀 함량을 나타낸 것으로 50% ethanol 추출액에서 2.93%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, water 추출액이 75% ethanol 추출액 보다 높은 함량을 나타내었다. 따라서 페놀화합물이 항산화 활성을 가지므로(18) 구기자 추출액도 항산화 효과를 나타낼 것이라 사료되며, 특히, 다른 용매에 비해 50% ethanol 추출액이 높은 효과를 나타낼 것으로 판단된다.

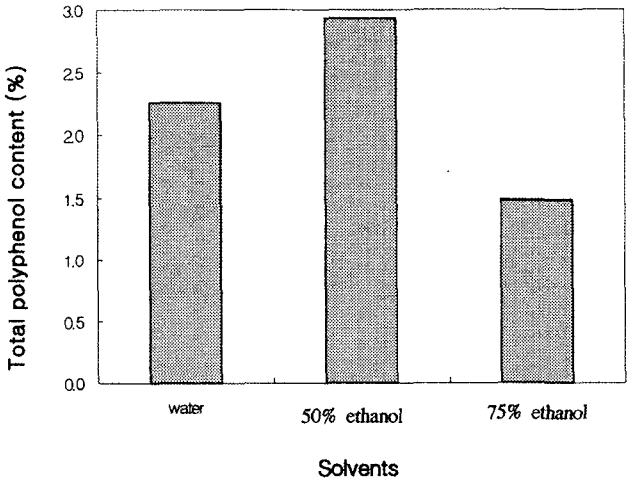

Fig. 5. Total polyphenol content of *Lycium chinense* extracts with various solvents.

전자공여능

전자공여능이 시료의 flavonoids 및 polyphenol성 물질 등에 대한 항산화 작용의 지표라 하였으며(19), 이러한 물질들이 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다(20). 구기자 추출액의 전자공여능 측정 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 구기자 추출액은 50% ethanol에서 66.97%로 나타나 다른 용매에 비해 높은 전자공여 효과를 보여 주었으며, 폴리페놀 함량과 비슷한 경향을 나타내었다. 김 등(21)의 국내산 생약추출물의 전자공여능에 관한 연구 보고에서 목단, 황금, 산수유, 작약의 100 ppm의 농도에서 각각 65%, 57.1%, 45.8%,

36.7%로 나타난 결과와 비교해 볼 때 구기자 추출액이 다른 생약추출물에 비해 높은 항산화력을 가지고 있다는 것을 알 수 있었다.

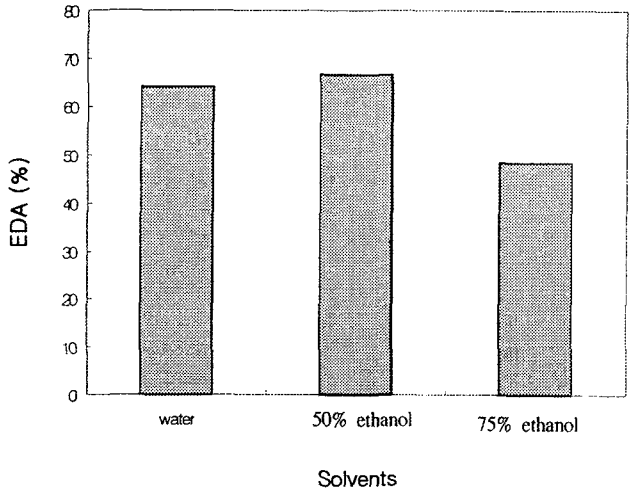

Fig. 6. Electron donating ability of *Lycium chinense* extracts with various solvents.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성

Fig. 7은 구기자 추출액의 SOD 유사활성 측정결과를 나타낸 것으로 50% ethanol 추출액에서 37.33 %로 가장 높은 활성을 나타냈었으며, 이는 Hong 등(22)의 과실, 과채류의 착즙액의 SOD 유사활성에 관한 보고에서 사과 14.6%, 케일 26.7%, 키위 27.6%, 무 24.1% 의 활성에 비해 높은 활성을 나타내었다. 또한 추출 용매별 활성은 총 폴리페놀 함량과

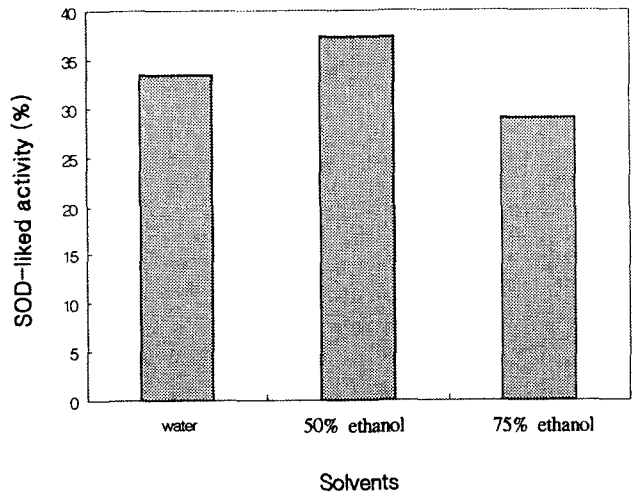

Fig 7. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of *Lycium chinense* extracts with various solvents.

전자공여능 측정 결과와 비슷한 경향으로, 50% ethanol 추출액이 다른 두 용매 보다 우수한 것으로 나타났다. 송 등(23)은 찔레 영지버섯 추출물의 생리활성 연구에서 폴리페놀 성분과 단백 다당체 등에 의해 SOD 유사활성이 나타난 것으로 보고하였는데, 본 실험의 결과도 이와 같이 폴리페놀 성분이 SOD 유사활성을 나타내는 것으로 사료된다.

요 약

구기자 추출액의 추출 특성과 추출액의 항산화성을 검토하여 구기자의 추출 조건을 결정함으로써 구기자 유효성분의 식품 소재화를 위한 기초자료를 얻고자 하였다. 용매와의 비율을 결정하기 위해 8배, 10배, 12배, 14배의 water를 가하여 추출 수율을 비교한 결과 water와의 비율이 10배일 때 추출 수율이 가장 좋은 것으로 나타났다. 추출물의 가용성 고형분은 water 추출액에서 5.0 °Brix로 가장 높은 함량을 나타내었다. 추출액의 탁도는 50% ethanol 추출 시 가장 높았고, 75% ethanol 추출 시 가장 낮았다. 적정산도는 추출용매의 ethanol 함량이 감소할수록 산도가 높아지는 경향을 보였으며, 유리당의 함량은 fructose 4.53~5.22 ㎎%, glucose 2.79~4.40 ㎎%, sucrose 0.35~1.18 ㎎% 로 나타났으며, water 추출액이 다른 추출 용매에 비해 높게 나타났다. 총 폴리페놀의 추출 용매별 함량은 50% ethanol 추출액에서 2.93%로 가장 높은 함량을 나타내었으며, water 추출액이 75% ethanol 추출액 보다 높은 함량을 나타내었다. 구기자 추출액은 50% ethanol에서 66.97%로 나타나 다른 용매에 비해 높은 전자공여 효과를 보여 주었으며, 폴리페놀 함량과 비슷한 경향을 나타내었다. SOD 유사활성 측정 결과는 50% ethanol 추출액에서 37.33%로 가장 높은 활성을 나타냈었으며, 총 폴리페놀 함량과 전자공여능 측정 결과와 비슷한 경향으로, 50% ethanol 추출액이 다른 두 용매 보다 우수한 것으로 나타났다.

참고문헌

1. 임웅규 등저 (1996) 자원식물학, 서일.
2. Lee, B.C., Park, J.S., Kwak, T.S. and Moon, C.S. (1998) Variation of chemical properties in collected boxthorn varieties. Korean J. Breed, 30, 267-272
3. Mellor, J.D. (1978) Fundamentals of freeze drying, Academic Press, London, England, p.244-250
4. Cho, I.S., Paik, S.W., Lee, B.C., Seo, G.S. and Yoon, S.T. (1995) Screening of chemicals for control of colletotrichum gloeosporioides in *Lycium chinense* MILLER. Korean J. medicinal crop science, 3, 9-11

5. Song, G.S., Ahn, B.Y., Lee, K.S., Maeng, I.K. and Choi, D.S. (1997) Effect of hot water extracts from midicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens. Korean J. Food Sci. Technol., 29, 1288-1294
6. Choi, S.I., Lee, Y.M. and Heo, T.R. (2003) Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal medicine extracts. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 18, 282-288
7. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee, B.Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. Korean J. Food Sci. Technol., 27, 80-85
8. Do, J.R., Kim, S.B., Park, Y.H. and Kim, D.S. (1993) Angiotensin- I converting enzyme inhibitory activity by the component of traditional tae material. Korean J. Food Sci. Technol., 25, 456-460
9. Park, K.M., Hwang, J.K., Shin, K.M., Kim, H.S. and Song, J.H. (2003) Detoxicating effects of oriental herb extract mixtrues on nicotine and dioxin. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 980-987
10. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1989) Free radicals in biology and medicine. Oxford. Clarevden Press, UK, p.244-250
11. Devy, C. and Gautier, R. (1990) New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. Biochem. Parmacol., 39, 399-405
12. Kuramoto, T. (1992) Development and application of food materials from plant extract such as SOD. Upto date Food Processing, 27, 22-23
13. Rorald, W. (1975) Naturally occurring nitrite in food. J. Japan Soc. Food Agric., 26, 1735-1742
14. Folin, O. and Denis W. (1912) On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem., 12, 239-249
15. Kang, Y.H., Park, Y.K. and Lee, G.D. (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol., 28, 232-239
16. Kim, S.M., Cho, Y.S. and Sung, S.K. (1996) The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J. Food Sci. Technol., 33, 626-632
17. 박원종 (2003) 구기자의 성분과 이용방법 및 활용 전략. 2003 추계학술 발표회 및 구기자 포럼. 한국약용작물학회 p.30-37
18. Takashi, Y. (1997) Antioxidant and radical scavenging activities of natural polyphenol. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Tsushima, Okayama, Japan, 700-8530
19. Hertong, M.C.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H, Katan, M.B. and Kromhout, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the zutphen elderly study. Lancet, 342, 1007-1011
20. Torel, J., Gillard, J. and Gillard, P. (1986) Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. Phytochemistry, 25, 383-385
21. An, B.J., Lee, J.T., Lee, S.A., Kwak, J.H., Park, J.M., Lee, J.Y., and Son, J.H. (2004) Antioxidant effects and application as natural ingredients of korean sanguisorbae officinalis L. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 47, 244-250
22. Hong, H.D., Kang, N.K. and Kim, S.S. (1998) Superoxid dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol., 30, 1484-1487
23. Song, J.H., Lee, H.S., Hwang, J.K., Chung, T.Y., Hong, S.R., and Park, K.M. (2003) Physiological activities of Phellinus ribis extracts. Korean J. Food Sci. Technol., 35, 690-695

(접수 2004년 8월 20일, 채택 2004년 9월 17일)