

열처리한 감초추출물의 항산화활성

우관식 · 장금일 · 김광엽 · 이희봉 · 정현상*

충북대학교 식품공학과

Antioxidative Activity of Heat Treated Licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) Extracts

Koan Sik Woo, Keum-Il Jang, Kwang-Yup Kim, Hee-Bong Lee, and Heon-Sang Jeong*

Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

Abstract Antioxidative activity and physicochemical characteristics of heat-treated licorice extracted by ethyl-acetate (EtOAc) and ethyl-alcohol (EtOH) were evaluated at various treatment temperatures (110, 120, 130, 140, and 150°C), times (1, 2, 3, 4, and 5 hr), and moisture contents (10, 20, 30, 40, and 50%). Maximum extraction yields of EtOAc treated at 140°C, 2 hr, and 20% moisture content and EtOH extracts treated at 120°C, 2 hr, and 40% moisture content were 9.48 and 32.90%, whereas those of control were 3.74 and 14.60%, respectively. Highest total polyphenol content was obtained from 13.95 mg/g EtOH extract treated at 150°C, 3 hr, and 30% moisture content (control: 6.92 mg/g). Highest antioxidative activity (IC₅₀) was obtained from 0.32 g/L EtOAc treated at 140°C, 2 hr, and 20% moisture content (control: 0.57 g/L). Highest ascorbic acid equivalent antioxidant activity value of 2,112.61 mg ascorbic acid (AA) eq was obtained from EtOAc extract treated at 120°C, 2 hr, and 40% moisture content (control: 1,920.27 mg AA eq). Optimum heat treatment conditions were 130-140°C, 3 hr, and 30% moisture content.

Key words: licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), heat treatment, polyphenol, antioxidative activity

서 론

감초(Licorice, *Glycyrrhiza uralensis* Fisch)는 대략 6,000년 전부터 약용식물로 동·서양에서 쓰여져 왔으며, 쌍떡잎식물 장미목 콩과에 속하는 다년생 초본식물로서 높이는 약 30~70 cm이며 간혹 1 m에 달하는 것도 있다(1-3). 뿌리를 약재로 사용하는데, 그 특징은 맛이 달면서 독이 없고 따뜻한 기운을 가지고 있으며, 심, 폐, 위경맥에 작용하는 것으로 알려져 있고 유용, 습양, 생창 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있어(3), 모든 중독의 해독제로 이용되고 진해거담제, 완화제 등으로 쓰이고 있다. 또한 근육이나 조직의 급격한 긴장에 의하여 생기는 통증을 풀어주는 작용, 체중의 증가, 백혈구의 증가, 이뇨작용, 항염작용 등이 알려져 있다(4). 감초는 동양과 서양에서 자연약재로 빈번하게 쓰이고 있는 약 중의 하나로 많은 연구자들이 감초의 구성성분들에 대한 의학적인 효능에 대해 많은 연구가 진행되었다(5-7).

자연 상태의 감초는 여러 flavonoid로 구성되어 있으며, 그 중 단맛을 내는 성분인 glycyrrhizin(7)은 현재 감초의 지표성분으로서 2.0% 이상을 함유하도록 규정하고 있다. 이 밖에 주요한 성분으로 hispaglabridin A, hispaglabridin B, glabridin, 4'-O-methylglabridin, isoprenylchalcone derivative, isoliquiritigenin, for-

monometin 등이 있는데(8), 이 중에서 가장 많은 양을 차지하는 glabridin은 체내에서 인체에 해로운 LDL(low density lipoprotein)의 산화를 억제시키는 효과가 있다고 알려져 있다(9-11). LDL은 콜레스테롤을 운반에 전달시키는 역할을 하는데 이 LDL의 양이 많아져 산화가 일어나면 동맥경화, 당뇨병, 성인병 등의 원인이 된다(12-14).

고온고압처리에 대한 새로운 식품가공기술로서의 본격적인 연구는 1986년 교토대학의 Hayashi에 의하여 시작되었다(15). 현재까지 고온고압기술을 식품에 적용한 예는 극히 드물다. 비슷한 연구로 인삼을 고온고압처리하여 효능이 우수한 인삼을 개발하는 연구(16-17)와 버섯을 autoclave에 처리하여 항산화활성을 측정하는 연구(18), 몇 가지 채소류를 boiling, microwave cooking, steaming 처리시의 활성을 측정하는 연구(19)가 있을 뿐 그 밖에 연구는 찾아보기 어려운 실정이다.

따라서 본 연구에서는 식품에 많이 이용되고 있는 감초를 다양한 고온고압처리 조건으로 처리할 때 폴리페놀 물질 및 항산화활성의 변화를 구명하고 항산화활성이 증가된 감초 가공품을 만들기 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료

본 실험에 사용된 감초는 시중에서 유통되는 중국산 제품으로 (주)화림제약의 제품을 구입하여 사용하였으며, 구입 당시 감초는 건조되어 절단된 상태로 수분함량은 3.2%였다. 감초는 제분기 (SPM-140, Samsungpmc, Daegu, Korea)를 이용하여 마쇄한 후 밀봉하여 4°C이 냉장고에 저장하면서 시료로 사용하였다.

*Corresponding author: Heon-Sang Jeong, Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, 12 Gaeshindong, Heungduk-gu, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea
Tel: 82-43-261-2570
Fax: 82-43-271-4412
E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr
Received January 13, 2006; accepted April 4, 2006

Table 1. Values of independent variables and treatment conditions by the central composite experimental design

Variables	Level				
	-2	-1	0	1	2
Treatment temperature, °C (X ₁)	110	120	130	140	150
Treatment times, hr (X ₂)	1	2	3	4	5
Moisture contents, % (X ₃)	10	20	30	40	50

Treatment No.	Code variables			Real variables		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-2	0	0	110	3	30
2	-1	-1	-1	120	2	20
3	-1	-1	+1	120	2	40
4	-1	+1	-1	120	4	20
5	-1	+1	+1	120	4	40
6	0	-2	0	130	1	30
7	0	0	-2	130	3	10
8	0	0	0	130	3	30
9	0	0	0	130	3	30
10	0	0	+2	130	3	50
11	0	+2	0	130	5	30
12	+1	-1	-1	140	2	20
13	+1	-1	+1	140	2	40
14	+1	+1	-1	140	4	20
15	+1	+1	+1	140	4	40
16	+2	0	0	150	3	30

열처리 조건 및 감초 추출물제조

감초추출물을 제조하기 위해 처리온도(110-150°C), 처리시간(1-5 hr) 및 수분첨가량(10-50%)을 변화시켜가며 처리하였으며, 중심합성계획법(central composite design: CCD)에 의하여 Table 1과 같이 16개 실험구간으로 설정하였다. 각각의 설정된 조건하에서 10 kg/cm² 이상의 압력에서도 견딜 수 있도록 고안·제작된 고온고압처리장치(Jisco, Masan, Korea)로 열처리 하였다. 각각의 조건에서 처리된 시료 100 g을 에틸아세테이트와 에탄올을 이용하여 시료에 5배량의 용매를 가하고 1시간 동안 초음파 추출법으로 3회 추출하였으며, 추출이 끝난 후 advantec 5C(Toyo Roshi Kaisha, Ltd. Kotobuki, Japan) 여과지를 사용하여 여과한 후 농축하여 100 mL로 정용하여 시료로 사용하였다.

추출수율 측정

각 조건에서 얻어진 추출물의 총수율은 3회 추출한 추출물을 하나의 수기로 모은 후, 회전진공농축기(Rotavapor R-114, Büchi Labortechnik, Flawil, Switzerland)를 이용하여 40°C에서 용매를 완전히 제거한 후 수기의 무게를 측정하여 원료 시료에 대한 건물량(%)으로 나타내었다.

총 폴리페놀성 화합물의 분석

Dewanto 등(20)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 각 추출물 100 µL에 2% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치하여 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 µL를 가하였다. Na₂CO₃ 용액을 가한 30분 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 tannic

acid(Sigma Chemical Co. Missouri, Chicago, Illinois, USA)를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량은 시료 g 중의 mg tannic acid로 나타내었다.

DPPH에 의한 전자공여능의 IC₅₀ 측정

전자공여능(Electron donating ability, EDA)은 Blois(21)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 0.2 mL에 2×10⁻⁴ M DPPH (Sigma Chemical Co. Chicago, Illinois, USA) 용액(99.9% ethanol에 용해) 0.8 mL를 가한 후, Vortex mixer로 10초간 진탕하고 30분 후에 분광광도계(Beckman Coulter, DU-650, Anaheim, California, USA)를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도를 측정할 때 셀에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 ethanol만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었고, 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였으며, 추출물의 EDA(%)값을 50% 감소시키는 IC₅₀을 구하였다. 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

총 항산화력 측정

총 항산화력은 ABTS^{•+} cation decolorization assay방법(20)에 의하여 측정하였다. 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma Chemical Co. Chicago, Illinois, USA) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS^{•+} 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4-1.5가 되도록 몰 흡광계수(ε = 3.6×10⁴ M⁻¹ cm⁻¹)를 이용하여 메탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS^{•+} 용액 1 mL에 추출액 50 µL를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 60분 후에 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid를 동량 첨가하였다. 총 항산화력은 아래의 식으로 계산하였다.

$$AEAC(\text{mg AA eq}) = \frac{\Delta A}{\Delta A_{aa}} \times C_{aa} \times V \times \frac{100}{W}$$

AEAC: Ascorbic acid equivalent antioxidant activity

ΔA: 추출물을 넣었을 때의 OD의 변화

ΔA_{aa}: AA std. soln.이 추출물 대신 동량 들어갔을 때의 OD 변화

C_{aa}: AA std. soln.의 농도(mg/mL)

V: 추출물의 정용부피(mL)

W: sample homogenate의 weight(g)

통계분석

실험결과의 통계분석은 SAS(statistical analysis system) program을 이용하여 추출변수가 추출물의 수율 및 성분의 변화에 미치는 영향을 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)으로 분석하였다.

결과 및 고찰**추출수율**

중심합성계획법으로 설계한 조건으로 열처리한 다음 에틸아세테이트와 에탄올을 용매로 초음파추출에 의해 추출수율을 구한 결과는 Table 2와 Fig. 1과 같다. 무처리구에서 에틸아세테이트와 에탄올 추출물의 추출수율은 각각 3.74 및 14.60%이었지만 열처리 조건별로 각각 2.96-9.48% 및 15.50-32.90% 범위로 열처리 구가 높은 추출수율을 나타내었다. 에틸아세테이트 추출물의 경우 130°C, 5시간 및 가수량 30%로 처리한 처리구와 140°C, 2시간 및

Table 2. Experimental data of yield, polyphenol, IC₅₀ and AEAC with various heat treatment conditions of licorice extracts

Treatment No. ¹⁾	Yield (%)		Polyphenol (mg/100 g)		IC ₅₀ (g/L)		AEAC (mg AA eq)	
	EtOAc-E ²⁾	EtOH-E ³⁾	EtOAc-E	EtOH-E	EtOAc-E	EtOH-E	EtOAc-E	EtOH-E
1	4.6±0.3	23.4±1.2	553.8±4.2	906.0±2.3	0.69±0.02	2.05±0.07	2,121.9±26.2	1,344.1±16.9
2	5.4±0.4	21.5±1.3	554.9±3.1	514.3±14.1	0.78±0.02	2.36±0.14	1,902.7±27.7	970.1±13.2
3	6.8±0.6	32.9±2.6	729.2±3.4	1,125.4±8.2	0.45±0.03	2.22±0.09	2,112.6±18.8	1,469.1±26.5
4	4.7±0.5	22.7±2.0	533.2±1.9	886.5±2.7	0.84±0.03	1.97±0.06	1,878.0±14.3	1,313.3±18.7
5	6.5±0.4	30.5±2.3	670.2±5.4	1,194.6±9.5	0.47±0.01	1.77±0.09	2,107.5±28.2	1,568.2±16.2
6	5.3±0.2	18.5±1.8	597.9±10.5	752.6±11.6	0.57±0.02	1.72±0.03	1,919.5±34.4	1,240.1±23.7
7	3.0±0.2	18.4±0.9	559.7±6.5	803.9±0.8	0.62±0.01	1.69±0.05	1,813.9±25.0	1,257.7±24.9
8	4.3±0.3	19.1±1.5	629.0±3.8	862.3±8.9	0.46±0.01	1.54±0.06	2,041.4±45.2	1,309.2±14.2
9	4.0±0.2	19.0±1.6	630.2±5.7	865.2±3.5	0.46±0.02	1.60±0.06	1,945.5±13.6	1,134.7±19.6
10	6.6±0.5	16.5±1.7	696.3±3.6	865.4±9.1	0.59±0.04	1.52±0.06	2,106.1±26.4	1,263.6±28.7
11	8.1±0.7	22.0±1.8	678.2±5.1	1,004.3±9.4	0.74±0.06	1.58±0.06	2,007.8±32.7	1,395.4±22.1
12	9.5±0.9	17.2±1.5	686.0±2.7	1,060.3±18.9	0.32±0.01	1.10±0.05	2,038.9±26.7	1,421.0±16.2
13	8.3±0.8	18.8±2.1	700.7±3.0	885.2±6.8	0.46±0.03	1.32±0.04	2,036.5±36.6	1,315.7±22.4
14	6.5±0.6	15.5±1.3	664.7±4.0	1,064.6±2.8	0.64±0.04	0.97±0.06	1,954.7±35.2	1,379.8±16.9
15	8.5±0.7	24.2±1.9	721.2±2.1	1,260.4±11.6	0.49±0.03	1.28±0.08	2,144.1±18.9	1,683.0±26.4
150	8.7±0.5	24.5±2.0	746.2±3.5	1,391.5±9.0	0.99±0.06	0.86±0.11	2,087.0±25.5	1,786.2±23.5
Untreated	3.7±0.6	14.6±1.1	343.8±28.7	692.2±25.1	0.57±0.02	1.59±0.05	1,920.3±31.3	1,165.6±18.7

¹⁾Abbreviations are same as Table 1, ²⁾EtOAc: Ethyl-acetate extracts, ³⁾EtOH: Ethanol extracts.

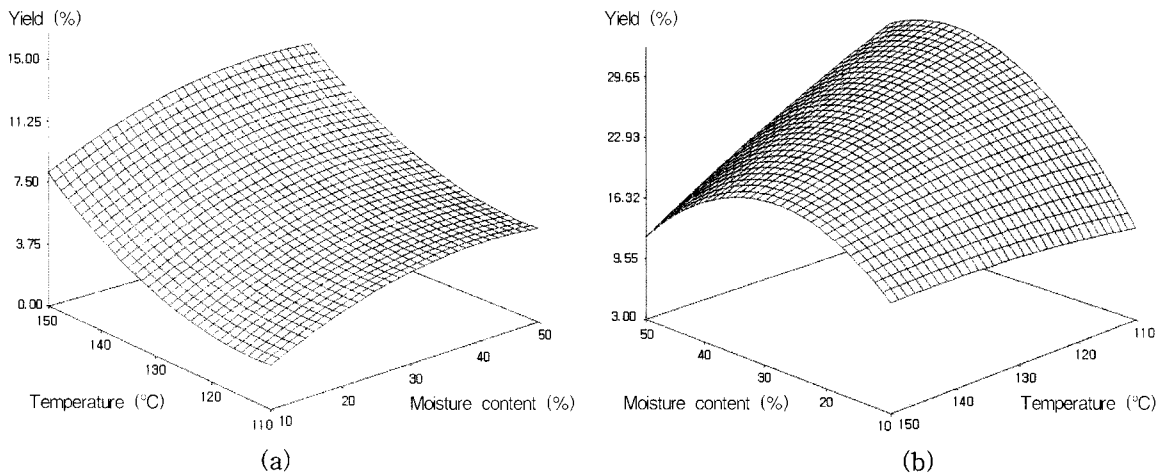


Fig. 1. Effects of temperature and moisture contents on the extraction yield of licorice. (a) Ethyl-acetate extracts, (b) Ethanol extracts.

가수량 20%로 처리한 처리구에서 각각 8.14%와 9.48%로 추출수율이 증가하였으며, 에탄올 추출물의 경우 120°C로 처리한 처리구에서 21.50-32.90%로 다른 처리구에 비해 높게 나타났다. 이러한 현상은 열처리로 인하여 불용성 성분들이 가용성화 되었기 때문으로 생각된다. 처리시간과 가수량은 처리온도에 비해 영향이 작게 나타났으며, 에틸아세테이트 추출물보다 에탄올 추출물의 수율이 더 높게 나타났는데, 이는 당이나 색소 등 여러 가지 에탄올 가용성 성분들이 많이 용출되었기 때문이라 생각된다.

열처리 감초의 에틸아세테이트 추출물의 추출수율은 열처리온도와 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났고 ($p < 0.001$) 처리시간에 대해서는 영향이 작은 것으로 나타났다. 열처리온도와 가수량의 영향을 나타내는 F 값은 각각 23.32 및 6.86으로 열처리온도가 가수량보다 더 많은 영향을 주는 것으로 나타났다. 에탄올 추출물의 추출수율은 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났고 ($p < 0.001$) 처리온도와 처리시간의 효과에 대해서는 유의성이 없는 것으로 나타났다(Table 3).

추출수율(Y)에 대한 온도(X_1), 시간(X_2) 및 가수량(X_3) 간의 관계를 반응표면분석을 실시한 결과 다음과 같은 관계가 있었다.

$$Y_{\text{yield}}(\text{EtOAc}) = 5.98 + 1.49X_1 + 0.88X_3 + 0.58X_1X_1 - 0.55X_1X_2$$

$$(R^2 = 0.7747)$$

$$Y_{\text{yield}}(\text{EtOH}) = 29.15 - 1.84X_1 + 1.59X_3 - 2.20X_2X_2 - 2.90X_3X_3$$

$$(R^2 = 0.4255)$$

총폴리페놀 함량

총폴리페놀 화합물 함량의 변화를 분석한 결과는 Table 2와 Fig. 2에서 보는 바와 같이 열처리 후 추출물의 총 폴리페놀 함량은 무처리구보다 높았다. 특히 140°C와 150°C의 고온으로 처리한 처리구에서 높은 함량을 보였으며, 에틸아세테이트 추출물 보다는 에탄올 추출물이 더 많은 함량을 나타내었는데, 이는 폴리페놀 화합물을 에탄올이 에틸아세테이트보다 잘 용출해 내기 때문으로 생각된다. 에탄올 추출물에 대한 결과를 살펴보면 150°C,

Table 3. Analysis of variance for yield, polyphenol, IC₅₀ and AEAC of heat treated licorice

Factor	df	EtOAc-E ¹⁾		EtOH-E ²⁾		
		Sum of squares	F-value	Sum of squares	F-value	
Yield	Temperature (°C)	4	130.07	23.32*** ³⁾	277.52	2.46
	Time (hr)	4	13.44	2.41	262.11	2.33
	Moisture contents (%)	4	38.28	6.86***	555.61	4.93**
Polyphenol	Temperature (°C)	4	109,389	23.02***	245,355	44.28***
	Time (hr)	4	3,793	7.80***	83,136	1.54
	Moisture contents (%)	4	102,255	12.17***	129,730	41.39***
IC ₅₀	Temperature (°C)	4	0.65	100.93***	7.37	13.18***
	Time (hr)	4	0.29	6.92***	0.51	5.80***
	Moisture contents (%)	4	0.39	3.86**	0.28	7.84***
AEAC	Temperature (°C)	4	34,086	5.23**	680,956	25.23***
	Time (hr)	4	136,171	20.91***	259,389	9.61***
	Moisture contents (%)	4	314,884	48.35***	434,325	16.09***

¹⁾Ethyl-acetate extracts, ²⁾Ethanol extracts, ³⁾*p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001.

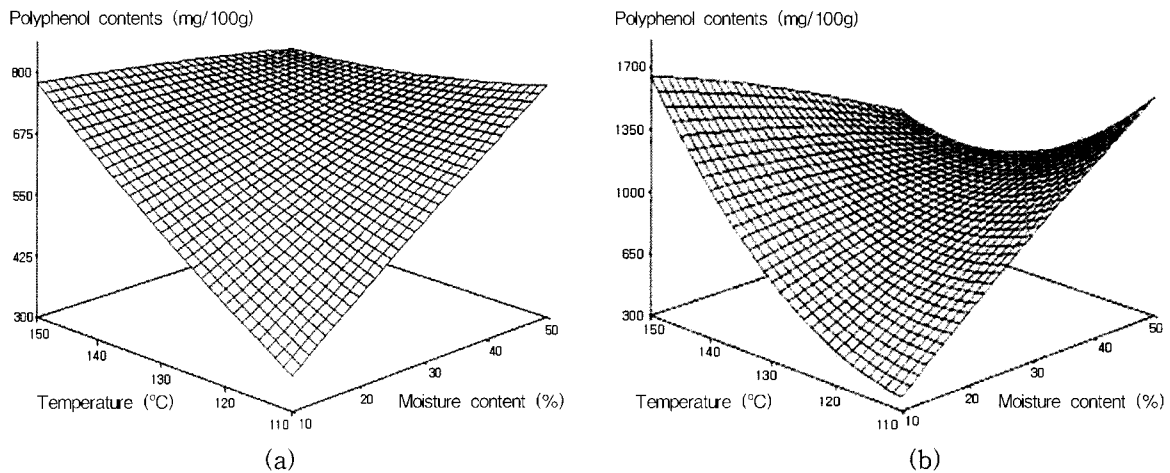


Fig. 2. Effects of temperature and moisture contents on the polyphenol contents of licorice extracts. (a) Ethyl-acetate extracts, (b) Ethanol extracts.

3시간 및 가수량 30% 처리구와 140°C, 4시간 및 가수량 40% 처리구의 총폴리페놀 함량은 각각 1,391.51 및 1,260.35 mg/100 g으로 무처리구의 692.23 mg/100 g 보다 많은 함량을 나타내었다. 이와 같이 총 폴리페놀 함량이 증가한 것은 조직과 결합되어 있던 폴리페놀 성분이 고온고압처리로 인하여 조직과의 결합이 파괴되어 추출이 잘 이루어졌기 때문으로 생각되며, 정확한 변화는 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 감초에는 고분자의 페놀성 화합물이 다량 존재하는데(10) 고온고압처리로 인하여 고분자의 페놀성 화합물이 파괴되어 저분자의 페놀성 화합물로 전환되어 총폴리페놀 함량이 증가한 것으로 생각된다(18,19).

열처리 감초의 에틸아세테이트 추출물의 총폴리페놀 함량은 처리온도, 시간 및 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며(*p* < 0.001), 처리온도, 시간 및 가수량에 대한 효과를 나타내는 F 값은 각각 23.02, 7.80 및 12.17로 온도가 가장 많은 영향을 미치며, 다음으로는 가수량 및 시간 순으로 나타났다. 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량 역시 온도와 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났고(*p* < 0.001) 시간에 대해서는 유의성이 없었으며, 처리온도와 가수량의 F 값은 각각 44.28 및 41.39로 온도가 가수량보다 더 많은 영향을 주는 것으로 나타났다(Table 3). 폴리페놀 함량(Y)에 대한 온도(X₁), 시간(X₂) 및

가수량(X₃) 간의 관계를 반응표면분석을 실시한 결과 다음과 같은 관계가 있었다.

$$Y_{\text{polyphenol}}(\text{EtOAc}) = 640.16 + 41.86X_1 + 40.98X_3 - 30.01X_1X_3$$

$$(R^2 = 0.8910)$$

$$Y_{\text{polyphenol}}(\text{EtOH}) = 897.53 + 95.04X_1 + 82.76X_2 + 66.43X_3 + 71.24X_1^2 - 112.53X_1X_3$$

$$(R^2 = 0.8042)$$

DPPH assay에 의한 항산화활성(IC₅₀)

DPPH free radical을 이용하여 측정된 처리조건별 감초추출물의 전자공여능을 IC₅₀값으로 나타낸 결과는 Table 2와 Fig. 3과 같다. 대조구로 사용한 BHT의 IC₅₀값은 0.14 g/L이었으며, 140°C로 열처리한 후 에틸아세테이트 추출하였을 때 0.32-0.64 g/L로 비교적 높은 항산화효과가 있는 것으로 나타났으며, 130°C의 처리구에서도 0.46 g/L로 무처리구의 0.57 g/L에 비해 항산화활성이 우수한 것으로 나타났다. 에탄올 추출물의 경우 모든 처리구에서 에틸아세테이트 추출물보다 높은 값을 나타내었으며, 무처리구와 비교하였을 때 140°C와 150°C로 열처리한 처리구에서 무처리구의 1.59 g/L 보다 낮은 값인 0.97-1.32 g/L 범위를 나타내었다. 이상의 결과를 종합해 보면 감초를 열처리를 할 경우 항산화 효과

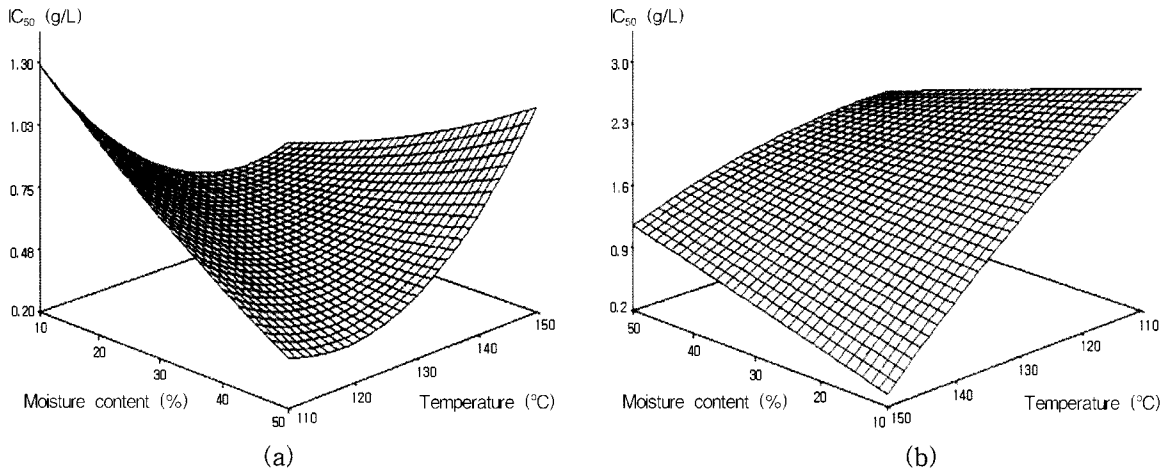


Fig. 3. Effects of temperature and moisture contents on the IC₅₀ by DPPH of licorice extracts. (a) Ethyl-acetate extracts, (b) Ethanol extracts.

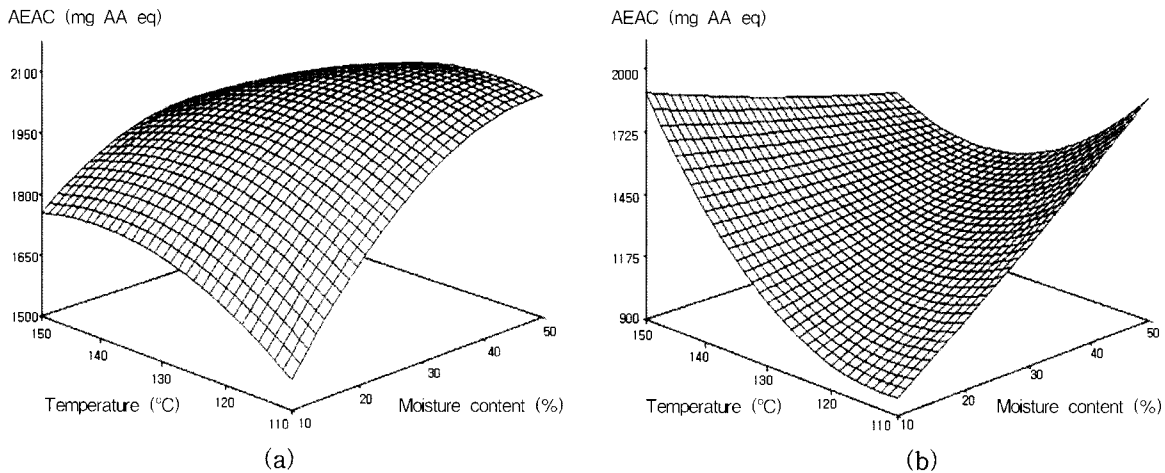


Fig. 4. Effects of temperature and moisture contents on the AEAC by ABTS⁺⁺ decolorization assay of licorice extracts. (a) Ethyl-acetate extracts, (b) Ethanol extracts.

를 내는 화합물들이 무처리에 비하여 많이 생성된 것으로 생각된다. 또한 Choi 등(18)과 Turkmen 등(19)의 연구에서 식물체에 열처리를 할 경우 결합형의 폴리페놀 성분이 유리형으로 되어 활성이 증가한다고 보고한 것과 같이 감초를 열처리할 경우 유리형의 폴리페놀 화합물의 증가하여 항산화 효과가 증가하였을 것으로 생각되며, 열처리로 인해 조직과 강하게 결합되어 있던 감초의 유효성분이 유리형으로 전환되어 항산화 효과가 증가되었을 것으로 생각된다. 이는 구성성분의 변화 및 성분의 동정, 각각의 성분의 효능 등의 연구가 차후 필요할 것으로 생각된다.

열처리 감초의 에틸아세테이트 추출물의 항산화활성(IC₅₀)은 처리온도($p < 0.001$)와 시간($p < 0.001$) 및 가수량($p < 0.01$)에 의해 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며, 이들의 영향을 나타내는 F 값은 각각 100.93, 6.92 및 3.86으로 열처리 온도가 시간이나 가수량보다 더 많은 영향을 주는 것으로 나타났다(Table 3). 에탄올 추출물의 경우도 에틸아세테이트 추출물과 마찬가지로 온도, 시간 및 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며($p < 0.001$), 이들의 영향을 나타내는 F 값은 각각 13.18, 5.80 및 7.84로 온도가 가장 많은 영향을 미치며 그 다음으로는 가수량, 시간 순으로 나타났다. 항산화활성(IC₅₀, Y)에 대한 온도(X_1), 시간(X_2) 및 가수량(X_3) 간의 관계를 반응표면분석을 실시한 결과 다음과 같은 관계가 있었다.

$$Y_{IC_{50}}(EtOAc) = 0.41 + 0.05X_2 - 0.05X_3 + 0.10X_1^2 + 0.05X_2^2 + 0.04X_3^2 + 0.09X_1X_3, (R^2 = 0.7530)$$

$$Y_{IC_{50}}(EtOH) = 1.61 - 0.38X_1 - 0.08X_2 + 0.09X_1X_2 + 0.11X_1X_3, (R^2 = 0.9179)$$

ABTS⁺⁺ decolorization assay에 의한 총항산화력

ABTS⁺⁺ cation decolorization assay방법에 의한 총해 AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant activity)를 측정된 결과 Table 2와 Fig. 4와 같이 거의 모든 처리구에서 무처리구보다 AEAC값이 증가한 경향을 나타내었다. 열처리 감초의 에틸아세테이트 추출물의 경우 120°C, 2시간 및 가수량 40%로 처리한 처리구에서 2,112.61 mg AA eq로 무처리구의 1,920.27 mg AA eq 보다 증가하였으며, 140°C, 2시간 및 가수량 20과 40% 처리구에서도 각각 2,038.92, 2,036.53 mg AA eq으로 무처리구보다 총항산화력이 증가하였다. 130°C, 3시간 및 가수량 50%와 140°C, 4시간 및 가수량 40%의 처리구에서도 무처리구에 비해 증가하였다. 에탄올 추출물의 경우 에틸아세테이트 추출물보다 낮은 총항산화력을 나타내었지만 140°C, 4시간 및 가수량 40%로 처리한 처리구에서 AEAC 값은 1,682.95 mg AA eq로 무처리구의 1,165.60 mg AA eq 보다 증가하였다. 또한 150°C, 3시간 및 가수량 30%로 처리한 처리구에서도 1,786.23 mg AA eq로 무처리구 보다 많이 증가

한 것으로 나타났다. 이는 폴리페놀 화합물의 증가나 항산화 활성의 증가 등과 같이 고온고압처리로 인하여 감초의 구성성분의 변화로 ABTS^{•+}에 의한 AEAC값이 증가하는 것으로 볼 수 있을 것이다(18).

열처리 감초의 에틸아세테이트 추출물의 AEAC값은 처리온도 ($p < 0.01$), 시간($p < 0.001$) 및 가수량($p < 0.001$)에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며, 이들의 영향을 나타내는 F 값은 각각 5.23, 20.91 및 48.35로 가수량이 온도나 시간보다 더 많은 영향을 주는 것으로 나타났다(Table 3). 에탄올 추출물의 경우는 함량은 온도, 시간 및 가수량에 의하여 유의적으로 영향을 받는 것으로 나타났으며($p < 0.001$), F 값은 각각 25.23, 9.61 및 16.09로 온도가 가장 큰 영향을 미치고 그 다음으로는 가수량, 시간 순이었다. AEAC값(Y)에 대한 온도(X_1), 시간(X_2) 및 가수량(X_3) 간의 관계를 반응표면분석을 실시한 결과 다음과 같은 관계가 있었다.

$$Y_{AEAC}(EtOAc) = 2003.14 - 48.97X_2 + 71.62X_3 - 19.47X_1^2 - 28.11X_3^2 - 23.36X_1X_3 - 27.13X_2X_3 \quad (R^2 = 0.8819)$$

$$Y_{AEAC}(EtOH) = 1261.53 + 75.66X_1 + 64.88X_2 + 71.10X_3 + 73.72X_1^2 - 77.09X_1X_3 + 41.30X_2X_3 \quad (R^2 = 0.8257)$$

요 약

감초를 처리온도, 처리시간 및 첨가수분함량을 변수로 하여 열처리한 다음 에틸아세테이트와 에탄올로 추출하여 성분 및 생리활성 변화를 분석하고 반응표면분석으로 최적화 조건을 조사하였다. 에틸아세테이트 추출물의 추출수율은 140°C, 2시간, 가수량 20%일 때 9.48%로 무처리구의 3.74% 보다 높았고, 에탄올 추출물의 경우는 120°C, 2시간, 가수량 40%로 처리한 시료가 32.90%로 무처리구의 14.60% 보다 높았다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 열처리구가 무처리구보다 높았으며, 에탄올 추출물의 150°C, 3시간, 가수량 30% 처리구가 1,391.51 mg/100 g로 무처리구의 692.23 mg/100 g 보다 높았다. 항산화활성(IC₅₀)은 열처리구가 무처리구보다 낮았으며 에틸아세테이트 추출물 140°C, 2시간, 가수량 20% 처리구에서 0.324 g/L로 무처리구의 0.573 g/L 보다 효과가 우수한 것으로 나타났다. 총항산화력(AEAC)은 모든 처리구에서 무처리구보다 높게 나타났는데 에틸아세테이트 추출물 120°C, 2시간, 가수량 40%처리구에서 2,112.61 mg AA eq로 무처리구의 1,920.27 mg AA eq보다 높게 나타났다. 본 연구결과 감초의 항산화활성, 총 폴리페놀 함량 등을 증가시키기 위한 최적의 열처리 조건은 130 및 140°C, 3시간, 가수량 30%로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 충북대학교가 지원하는 2005년도 학술연구지원으로 얻어진 결과로 연구비를 지원해주신 충북대학교에 감사드립니다.

문 헌

- Jung YA, Lee KJ, Kwun MJ, Row KH. Separation of glabridin from licorice by RP-HPLC. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 18: 408-411 (2003)
- Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Izael S, Vaya J. Estrogen-like activity of glabrene and other constituents isolated from licorice root. J. Mol. Biol. 78: 291-298 (2001)
- Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 138-142 (2001)
- Shibata S, Inoue H, Iwata S, Ma RD, Yu LJ, Ueyama U, Takayasu J, Hasegawa T, Tokyda H, Nishino A. Inhibitory effect of licochalcone A isolated from *Glycyrrhiza inflata* root on inflammatory ear edema and promotion in mice. J. Planta Med. 57: 221-224 (1991)
- Hayashi H, Hiraoka N, Ikeshiro Y, Yamamoto H. Organ specific localization of flavonoids in *Glycyrrhiza glabra* L. J. Plant Sci. 116: 233-238 (1996)
- Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Niwa Y. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. J. Planta Med. 57: 119-121 (1991)
- Hanato T, Aga Y, Shintani Y, Ito H, Okuda T, Yoshida T. Phenolic constituents of licorice part 9 - Minor flavonoids from licorice. Phytochemistry 55: 959-963 (2000)
- Vaya J, Belinky PA, Aviram M. Antioxidant constituents from licorice roots: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Radic. Biol. Med. 23: 302-313 (1997)
- Belinky PA, Aviram M, Fuhrlan B, Rosenblat M, Vaya J. The antioxidative effects of the isoflavan glabridin on endogenous constituents of LDL during its oxidation. Atherosclerosis 137: 49-61 (1998)
- Ishikawa S, Kato M, Tokuda T, Momoi H, Sekijima Y, Higuchi M, Yanagisawa N. Licorice-induced hypokalemic myopathy and hypokalemic renal tubular damage in anorexia nervosa. Int. J. Eat. Disord. 26: 111-114 (1999)
- Belinky P, Aviram M, Mahmood S, Vaya J. Structural aspects of the inhibitory effect of glabridin on LDL oxidation. Free Radic. Biol. Med. 24: 1419-1429 (1998)
- Aviram M. Modified forms of low density lipoprotein and atherosclerosis. Atherosclerosis 98: 1-9 (1993)
- Aviram M. Antioxidant-mediated inhibition of macrophage modifications of low density lipoprotein. Life Chem. Rep. 12: 69-78 (1994)
- Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. J. Clin Invest. 88: 1785-1792 (1991)
- Bergman PW. The coagulation of egg albumin by pressure. J. Biol. Chem. 19: 511 (1974)
- Park JH. Sun ginseng-a new processed ginseng with fortified activity. Food Ind. Nutr. 9: 23-27 (2004)
- Park JH. Development of sun ginseng as a new processed ginseng. pp. 69-72. In: Proceeding of the Korean Society of Crop Science Conference. May 2, Concord Hotel, Gyeongju, Korea. Korean Society of Crop Science, Suwon, Korea (2002)
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. Food Chem. 99: 381-387 (2006)
- Turkmen N, Sari F, Velioglu YS. The effect of cooking methods total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chem. 93: 713-718 (2005)
- Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. J. Agric. Food Chem. 50: 4959-4964 (2002)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199-1203 (1958)