

감초 경엽(莖葉)의 포제방법에 따른 생리활성 비교

박정섭, 박선희¹, 오일수¹, 장영남¹, 방극수¹, 변은주¹, 이정호^{1*}

한국농업경영기술연구원, ¹전북대학교 한약자원학과

A Comparative Study of Physiological Activity of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer Stems and Leaves by Processing Methods

Jeong Seob Park, Sun Hee Park¹, Il Soo Oh¹, Young Nam Chang¹, Keuk Soo Bang¹,
Eun Ju Byeon¹ and Jeong Ho Lee^{1*}

Korea Agricultural Management Technique Institute, Kimjea 576-922, Korea

¹Department of Oriental Medicine Resources, Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea

Abstract - This study investigates the change of chemical components, antioxidant and antimutagenic activity in *Glycyrrhiza uralensis* Fischer stems and leaves (GU) by the various processing methods, as follows: fresh (GU-1), dried under the shade (GU-2), blanched (GU-3), roasted 3 times (GU-4), roasted 4 times (GU-5). The components have been identified and quantified through the use of gas chromatograph-mass spectrometry (GC-MS). At results, *cis*-1,3-dimethyl-2-methylene-cyclohexane at 19.7 min and *n*-hexadecanoic acid at 21.5 min were detected in five kinds of extract. 3-O-Methyl-D-fructose at 17.8 min was observed in four extracts except in GU-1 and aminopyrazine at 19.8min was observed in four extracts except in GU-4. The total phenolics contents was high in GU-4(3.38 g/100 g). ABTS radical scavenging was high in GU-5(EC₅₀, 0.57 ug) and DPPH radical scavenging was high in GU-4(EC₅₀, 2.66 ug). The extracts of GU-3, GU-4, and GU-2 were most potent in anti-mutagenicity activity against 1-NP, Trip-P-1, and Trip-P-2, respectively. GU-3 and GU-4 also showed most potent effect of anti-mutagenicity on 2-AA and AFB1, respectively.

Key words - *Glycyrrhiza uralensis* Fischer, Antimutagenicity, Antioxidant, Aminopyrazine

서 언

포제(炮製)란 한약의 전통적 가공기술을 통칭한 것으로서 약재를 조제(調製)하고 제성(製成)하는 것이며, 한약재 또는 절편에 따라 그 처리방법은 매우 다양하다. 이러한 포제의 목적은 부작용감소, 용해성촉진, 약성변화, 효능증가, 효능조절, 잡질 및 비약용부분제거, 순도증진 및 저장의 편리 등이 있다. 특히 감초는 한의약적으로 포제방법에 따라 약성이 변화되는데 생감초(生甘草)는 성미가 달고 독성이 없으며 화(火)를 다스린다. 또한 표사(表邪)를 흩어지게 하며, 종기를 삭히고 약물중독을 없애며 요관통(尿管痛)을 치료한다. 그리고 자감초(炙甘草)는 불에서 구운 감초로 비위(脾胃)를 보(補)하며 위(胃)가 허약하여 구갈(口渴)하는 경우, 한열(寒熱)기침, 숨이 차고 피곤한 것, 과

로에 의한 몸의 쇠약한 것을 없애준다(Na *et al.*, 2010).

한편 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fischer)는 콩과(Leguminosae)의 다년생 초본으로 키는 30~80 cm이고 기부는 목질화하며 가지가 많고 어린 줄기에는 털이 있다. 또한 뿌리는 직근으로 아프가니스탄, 파키스탄, 중국(감숙성, 신강성), 몽골 등에서 총 8종이 알려져 있으며, 근래에 들어 우리나라에서 다량 재배되고 있다(Lee *et al.*, 2010). 이러한 감초는 해독(解毒)작용, 진경작용, 진해(鎮咳)작용, 거담(祛痰)작용, 이뇨(利尿)작용, 항염작용, 항궤양작용, 항알레르기작용, 항바이러스작용, 항산화작용, 부신피질호르몬작용, 중추억제작용, 근육이완, 간염, 두드러기, 피부염, 습진 등이 보고되었다(Lee *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2009). 이러한 효능을 나타내는 주요 성분으로는 glycyrrhizin, glycycomarin, liquiritin, isoliquiritin, liquirtigenin, isoliquirtigenin, licoricidin, apioside, apioliquiritin, glycyrrhetic acid, glucose, saponin 등이 보고(Lee *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2008)

*교신저자(E-mail) : wooju@jbnu.ac.kr

되었다. 그러나 한의학적으로 감초와 유사한 효능을 갖고 있는 것으로 알려진 감초의 지상부는 민간에서 소량 식재료로 사용되고 있을 뿐 대부분 버려지고 있다. 한편 이러한 감초 잎은 항산화성 및 항염증성, 항유전독성이 있음이 보고되었으며 (Siracusa *et al.*, 2011), 기능성 성분으로 genistein, pinocembrin, prunetin, 6-prenylnaringenin, licoflavanone, wightone 등이 분리되었다(Hayashi *et al.*, 2011; Fukui *et al.*, 1995). 또한 최근연구에서 glabranin isomer, astragalol, isoquercitrin, vicenin II, inositol, pinitol 등 다양한 성분이 분리되면서 연구 소재 및 식품으로의 활용성이 모색되고 있다(Biondi *et al.*, 2005).

따라서 본 연구에 있어서 버려지고 있는 감초 지상부의 이용률을 높이기 위해 한의학적 포제방법으로 처리한 후 다양한 변화를 관찰하여 최적 건조 및 전처리 조건을 찾고자하였다. 즉 감초 지상부를 신선한 것(GU-1), 그늘에 음건한 것(GU-2), 데친 후 음건한 것(GU-3), 3회 볶은 후 음건한 것(GU-4), 4회 볶은 후 음건한 것(GU-5)으로 처리하여 GC/MS분석을 통한 성분변화 및 항산화활성(DPPH 및 ABTS 라디칼소거활성, 총폴리페놀 함량, 환원력측정), 항돌연변이원성(Ames test)을 비교·평가하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 감초는 전북대학교 환경생명과학대학 실험포장에 생육중인 1년생 감초경엽(지상부)를 채취하여 실험에 사용하였다.

흡광도는 흡광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하였으며, 항산화 평가는 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 및 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)와 potassium ferricyanide, Iron chloride, ferrozine, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, sodium carbonate는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였고, 돌연변이원인 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetate (Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetate (Trp-P-2) 등은 Wako사, aflatoxin_{B1}(AFB₁), 1-nitropyrene(1-NP), 2-amino anthracene(2-AA)은 Aldrich Chem. Co.의 제품을 구입하여 사용하였다.

GC-Mass의 분석은 Agilent 7890A GC를 사용하였고, Detector

는 Agilent 5975C inert Mass Selective Detector를 사용하였다. Column은 DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 mm)를 사용하였다.

시료 추출

전북대학교에서 환경생명과학대학 실험포장에 생육중인 1년생 감초경엽을 채취하여 실험에 사용하였다. 채취한 감초경엽을 건조하지 않은 신선한 감초경엽(GU-1), 그늘에 음건한 감초경엽(GU-2), 채취한 후 90°C 이상의 끓는 물에 데친 후 음건한 감초경엽(GU-3), 신선한 감초경엽을 80°C의 볶음 솥을 이용하여 3회 볶은 후 음건한 감초경엽(GU-4), 신선한 감초 잎과 줄기를 80°C의 볶음 솥을 이용하여 4회 볶은 후 음건한 감초경엽(GU-5)을 실험에 사용하였다. 즉, 감초경엽을 채취한 후 건조방법을 다르게 하였다. 이와 같이 조제한 감초경엽을 분쇄한 후 시료의 5배량의 메탄올을 가하여 상온에서 일주일 동안 침지시켜 추출하였다. 이와 같은 방법으로 3회 반복 추출한 후 얻은 메탄올 추출물을 0.4 μm 필터로 여과시킨 후 여과액을 감압 농축하여 실험에 사용하였다.

GC/MS 분석

위의 포제방법에 따른 감초경엽 1 mg을 메탄올 5 mL에 희석한 후 원심분리하였다. 원심분리(135,000 rpm)한 시료를 중상층액 0.5 mL를 취하여 메탄올 1 mL 희석시킨 다음 다시 10분간 원심분리(135,000 rpm)시킨 상층액 0.5 mL를 취하여 메탄올 1 mL에 희석하여 GC-mass를 이용하여 분석하였다. GC/MS의 분석 조건은 Agilent 7890A GC를 사용하였고, Detector는 Agilent 5975C inert Mass Selective Detector를 사용하였다. Column은 DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 mm)를 사용하였고 Carrier gas는 helium를 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거활성

전자공여능(electro donating ability)은 Okawa *et al.*(2001)의 방법에 준하여 실시하였다. 즉 0.15 mM 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 1 mL에 시료용액을 농도별로 0.1 mL을 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 농도에 따른 DPPH 라디칼을 소거하여 잔존하는 DPPH 라디칼을 50% 줄일 수 있는 농도(EC₅₀)로 계산하였다.

ABTS 라디칼 소거활성

ABTS (2,2'-azino-bis [3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid]) 라디칼 소거활성은 Halvorsen *et al.* (2002)의 방법에 준하여 실시하였다. 0.15 M NaCl을 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 용해시킨 후 이에 1 mM의 AAPH와 2.5 mM의 ABTS를 넣는다. AAPH와 ABTS가 섞인 시약을 water bath (68°C)에서 20분 이상 반응시켜(녹색) 흡광도(ABS)를 734 nm에서 0.650이 되도록 0.15 M NaCl을 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4)로 조정하였다. 시료 20 µL와 ABTS 용액 980 µL을 혼합한 후 이를 암실에서 37°C, 10분간 반응시켰으며, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 농도에 따른 ABTS 라디칼을 소거하여 잔존하는 ABTS 라디칼을 50% 줄일 수 있는 농도(EC₅₀)로 계산하였다.

환원력 측정

환원력 측정은 Pulido *et al.* (2000)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 포제방법에 따라 제조한 감초경엽 메탄올 추출을 0.5 mg/10 mL(DMSO) 농도 용해시킨 시료추출액 25~200 µL에 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 6.6) 1 mL을 혼합한 다음 50°C에서 20분 동안 반응 하였다. 반응액에 10% TCA(trichloroacetic acid) 1 mL을 혼합한 다음 원심분리하여 상층액 1 mL을 취한 다음, 이에 1 mL 증류수와 0.1% FeCl₃ 0.2 mL를 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 함량 측정은 Slinkard *et al.* (1977)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 포제방법에 따라 제조한 감초경엽 메탄올 추출을 0.5 mg/10 mL(DMSO) 농도 용해시킨 시료추출액 0.2 mL과 증류수 1.8 mL, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL을 혼합하여 5분간 반응 시킨다. 이에 7% Na₂CO₃ 2 mL과 증류수 0.8 mL를 혼합한 다음 실온에서 90분 동안 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선은 gallic acid를 증류수에 용해시켜 위와 같은 방법으로 측정하였다.

항돌연변이원성 평가

포제방법에 따라 제조한 감초경엽 메탄올 추출물의 항돌연변이원성 실험은 Ames test를 개량한 preincubation 방법 (Ames *et al.*, 1983)의 방법으로 실시하였다. 미리 멸균시킨 시험관에 각 농도의 변이원 50 µL, 0.1 M sodium phosphate buffer 0.5 mL(0.5% S9 mix 0.5 mL), 시료 50 µL와 Oxoid

nutrient broth No.2에 하룻밤 배양시킨 균 배양액(1~2×10⁹ CFU/mL, OD 0.4)을 혼합하고, 37°C에서 210 rpm으로 20분간 진탕 배양하였다. 배양액에 미리 준비해 둔 0.5 mM histidine과 biotin을 함유한 top agar 2 mL를 혼합한 후 minimal glucose agar plate[agar 15 g, 멸균수 930 mL, 50×VB salt 20 mL, 40% glucose 50 mL]을 평판배지 상에 도포하여 37°C에서 48시간 배양하여 발생한 복귀 돌연변이주(*his*⁺ revertant colony)의 수를 계수하여 돌연변이 억제 효과를 평가하였다. 돌연변이 억제 효과는 다음과 같이 계산하였으며, 각각의 실험은 2 plate씩 2반복 실시하였다.

$$\text{돌연변이 억제 효과 (\%)} = \frac{[(M - S_0) - S_1]}{(M - S_0)} \times 100$$

M : The number of revertants only in presence of mutagen

S₀ : The number of spontaneous revertants

S₁ : The number of revertants in presence of mutagen and sample

통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리간의 차이 유무를 one-way ANOVA(analysis of variation)로 분석한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

GC/MS 분석

감초경엽의 포제방법(생, 음건, 데침, 볶음)에 따른 성분변화를 관찰하기 위해 GC-Mass를 이용해 분석하였으며, 그 결과는 Fig. 1 및 Table 1과 같다. GC-Mass를 이용해 분석한 결과 포제방법에 따른 감초경엽 메탄올 추출물에서 비슷한 결과를 보였으나 약 18분, 19.8분, 21.5분, 23.0분에서 성분의 차이가 있는 것으로 나타났다. 각 추출물에서 공통으로 분석된 성분은 19.7분에서 cis-1,3-dimethyl-2-methylene-cyclohexane과 21.5분에서 n-hexadecanoic acid이 분석되었다. 14.7분에서는 1-O-methyl-D-Fructose는 신선한 감초 경엽(GU-1)에서만 분석되지 않았고 4가지 모든 추출물에서 분석되었다. 17.8분에서는

3-O-methyl-D-Fructose가 끓는 물에 데친 감초경엽(GU-3)에서 19.8분에서는 aminopyrazine이 4회 볶은 감초경엽(GU-5)에서만 분석되지 않고 4가지 모두에서 분석되었으며, 22.9분에서 diethyl bis(trimethylsilyl) ester-silicic acid가 분석되었다. 25.4분에서 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 corydaldine이 분석되었다(Fig. 1). 이와 같이 분석된 결과는 감초경엽의 포제방법에 따라 성분의 변화가 있는 것으로 판단된다.

항산화 평가

포제방법에 따른 감초경엽의 DPPH 라디칼 소거활성 및

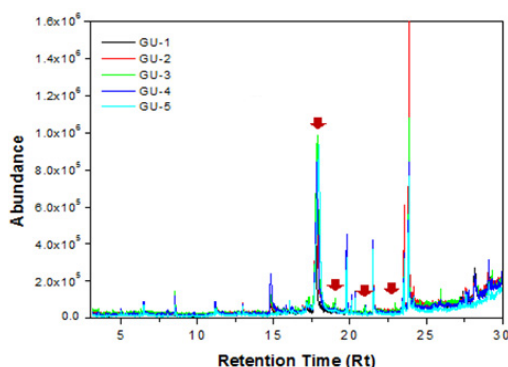


Fig. 1. GC/MSD chromatogram(17~25 min) of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

ABTS 라디칼 소거활성, 총폴리페놀함량을 측정하였으며, 그 결과는 Table 2와 같다. 감초경엽의 DPPH를 이용한 라디칼 소거활성은 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 EC₅₀이 2.66 ± 0.09 μg으로 가장 높은 라디칼 소거활성이 나타났다. 끓는 물에 데친 감초경엽(GU-3)에서 EC₅₀이 2.95 ± 0.24 μg으로 나타났고, 4회

Table 1. GC/MSD analysis of the compounds contained in *Glycyrrhiza uralensis* Fischer

Retention Time (min)	Compound	
14.7	1-O-methyl-D-Fructose	GU-1 : Not detected
17.8	3-O-methyl-D-Fructose	GU-3 : Not detected
19.7	cis-1,3-dimethyl-2-methylene-cyclohexane	All detected
19.8	Aminopyrazine	GU-5 : Only detected
21.5	n-Hexadecanoic acid	All detected
22.9	Diethyl bis(trimethylsilyl) ester-silicic acid	GU-5 : Only detected
25.4	Corydaldine	GU-4 : Only detected

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

Table 2. Antioxidant activity of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer

	DPPH radical scavenging activity (EC ₅₀ , μg)	ABTS radical scavenging activity (EC ₅₀ , μg)	Total phenolic content (g/100g)
GU-1	15.76 ± 0.9 ^{1)a2)}	3.44 ± 0.28 ^a	1.13 ± 0.1 ^a
GU-2	3.99 ± 0.34 ^b	1.31 ± 0.17 ^b	2.74 ± 0.18 ^b
GU-3	2.95 ± 0.24 ^c	0.76 ± 0.19 ^c	2.94 ± 0.19 ^b
GU-4	2.66 ± 0.19 ^{cd}	0.77 ± 0.06 ^c	3.38 ± 0.12 ^c
GU-5	3.05 ± 0.17 ^{cc}	0.57 ± 0.14 ^d	2.86 ± 0.21 ^b

¹⁾Each value expressed as the mean±standard deviation(n=3)

²⁾Means in the same column with the different are significantly different(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

볶은 감초경엽(GU-5)에서 EC₅₀이 3.05 ± 0.17 µg을, 음건한 감초경엽(GU-2)에서 EC₅₀이 3.99 ± 0.34 µg을, 신선한 감초경엽(GU-1)에서 EC₅₀이 15.76 ± 0.90 µg으로 가장 낮은 라디칼 소거활성이 나타났다. 또한 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과 4회 볶은 감초경엽(GU-5)에서 EC₅₀이 0.57 ± 0.22 µg으로 가장 높은 라디칼 소거활성이 나타났으며, 끓는 물에 데친 감초경엽(GU-3)에서 EC₅₀이 0.76 ± 0.19 µg을, 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 EC₅₀이 0.77 ± 0.66 µg으로 나타났다. 그리고 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 3.38 ± 0.12 g/100 g으로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, 끓는 물에 데친 감초경엽(GU-3)에서 2.94 ± 0.19 g/100 g을, 4회 볶은 감초경엽(GU-5)에서 2.86 ± 0.21 g/100 g, 음건한 감초경엽(GU-2)에서 2.74 ± 0.18 g/100 g을, 신선한 감초경엽(GU-1)에서 1.13 ± 0.11 g/100 g으로 가장 낮은 폴리페놀 함량을 나타냈다.

포제방법에 따른 감초경엽의 DPPH 라디칼 소거활성은 GU-1, GU-3, GU-4, GU-5에서 높은 활성을 나타냈으나, GU-1에서 매우 낮은 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 감초경엽을 포제하는 과정에서 성분의 변화 및 농축에 의한 함량의 차이에 의한 것으로 판단되며, 특히 감초경엽에서 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내는 물질이 열에 매우 안정한 물질임을 의미한다. Siracusa *et al.* (2011)의 연구에서 감초 잎 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 35.01 µg으로 본 연구 보다 다소 높게 나타났는데, 이는 본연구가 감초경엽(줄기와 잎)을 이용하였기 때문에 나타난 결과로 판단된다. 또한 ABTS 라디칼 소거활성에 있어서 GU-3, GU-4, GU-5은 높은 소거활성을 나타냈으며, GU-2에서는 낮은 소거활성을 나타냈다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거활성과 유사하였으며, 이 역시 감초경엽을 끓는 물에 데치거나 볶는 과정에서 발생하는 열에 의하여 ABTS 라디칼 소거활성을 일으키는 활성성분이 열에 안정적이거나, 성분변화, 농축에 기인한 결과라고 판단된다. 그리고 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성의 유사한 경향은 유사한 시험계의 메커니즘에 기인한 것으로 판단되며, ABTS 라디칼 소거활성이 다소 높게 나타난 경향은 Park *et al.* (2012)의 단마와 장마 영여자의 항산화능 및 항돌연변이 활성 검정의 연구결과 보고와 유사하였다.

한편 포제방법에 따른 감초경엽의 환원력(reducing power)을 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 2와 같다.

포제방법에 따른 감초경엽 메탄올 추출물을 25 µg, 50 µg, 100 µg을 처리한 후 환원력을 측정한 결과 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 환원력이 가장 높게 나타났으며, 끓는 물에 데친

감초경엽(GU-3)과 4회 볶은 감초경엽(GU-5), 음건한 감초경엽(GU-2), 신선한 감초경엽(GU-1) 순으로 환원력이 낮았다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거 활성과 ABTS 라디칼 소거활성, 환원력과 일치하는 것으로 건조과정에 따라 폴리페놀 함량이 달라 항산화 활성 효과도 차이가 나타나는 것으로 판단된다 (Kim *et al.*, 1995). 또한 감초경엽을 채취한 후 처리과정에 따라 함유된 성분 및 성분함량의 변화에 의한 것으로 판단된다. Hwang *et al.* (2011) 등의 열처리에 따른 더덕과 도라지 성분과 항산화활성 변화 연구에서 열처리 온도가 증가함에 따라 항산화 활성과 환원력이 증가하였다고 보고한 결과와 유사하였다. 본 실험에서 3회 볶은 감초경엽의 항산화 활성보다 4회 볶은 감초 잎과 줄기에서 항산화력이 높은 결과와도 일치하였으며, 이러한 결과는 Chon *et al.* (2012)과 Lim *et al.* (2011)의 서양민들레 부유분 추출물의 항산화 및 세포독성 연구와 만병초 추출물의 항산화 효과 결과와 유사한 활성으로 나타났다.

항돌연변이원성 측정

포제방법에 따른 감초경엽 메탄올추출물의 1-nitropyrene (1-NP)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 GU-1, GU-2, GU-3, GU-4, GU-5를 각 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg의 농

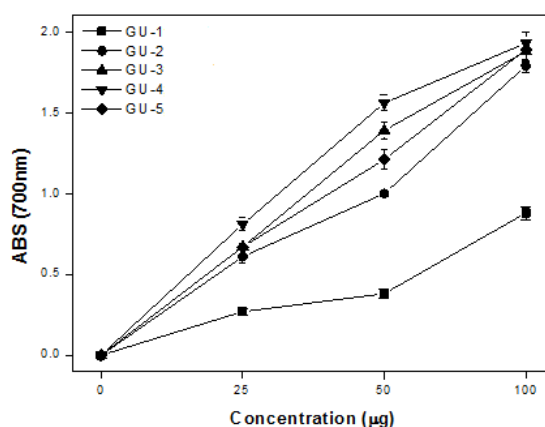


Fig. 2. Reducing power of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems

GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems

GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems

GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems

GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

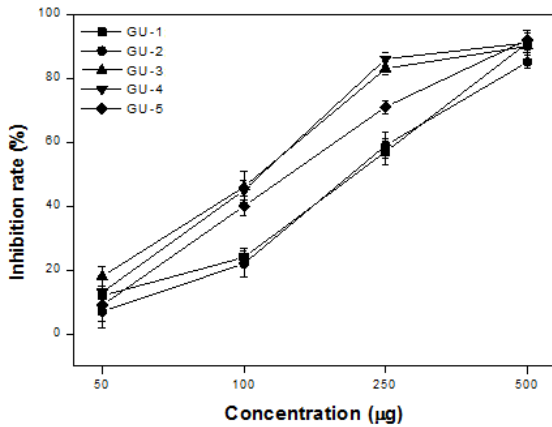


Fig. 3. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of 1-NP.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

도로 처리하였을 때 12~91%, 7~85%, 18~90%, 13~91%, 9~92%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 포제방법에 따른 감초경엽의 1-NP에 대한 돌연변이 억제효과는 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서 가장 높게 나타났으며 음건한 감초경엽(GU-2)에서 가장 낮았다. 그러나 각 추출물간의 활성의 차이는 크지 않았다. 1-nitropyrene(1-NP)은 호흡기를 통하여 인체에 흡수되어 산소와 결합하여 ring을 형성한 후 DNA와 결합하여 돌연변이를 일으키는 물질이다. 디젤엔진이나 화석연료의 불완전산화에 의해 많이 발생하는 니트로화합물인 1-nitropyrene(1-NP)은 대도시의 대기 중에 약 57 pg/m³ 존재하는 것으로 알려져 있고, 호흡을 통해서만 인체에 흡입된다(Pederson *et al.*, 1981).

또한 포제방법에 따른 감초경엽 메탄올추출물의 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b] indole(Trip-P-1)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 4와 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 GU-1, GU-2, GU-3, GU-4, GU-5를 각 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg의 농도로 처리하였을 때 각 3~5%, 4~57%, 5~60%, 2~52%, 4~49%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 음건한 감초경엽(GU-2)에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를, 신선한 감초경엽에서 가장 낮았다. Trp-P-1은 요리된 생선이나 물고기 등에서 다량 발견되며, 일반적으로 대부분의 패스푸드에서 발견되어진다. 특히 Trp-P-1은 단백질 및 지방을 다량 함유하고 있는 식품을 굽거나 튀길 때

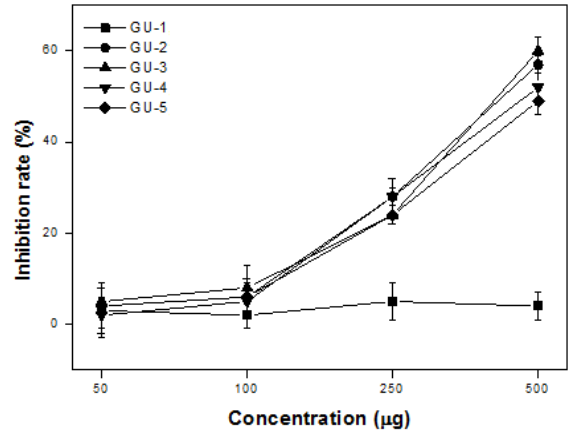


Fig. 4. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of Trip-P-1.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

많이 발생된다(Weng *et al.*, 2007).

그리고 감초경엽의 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b] indole(Trip-P-2)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였다(Fig. 5). 그 결과 *S. typhimurium* TA98에 있어서 GU-1, GU-2, GU-3, GU-4, GU-5를 각 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg의 농도로 처리하였을 때 2~11%, 6~94%, 12~93%, 18~94%, 16~96%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 음건한 감초경엽(GU-2)에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를, 신선한 감초 잎과 줄기에서 가장 낮았다. 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4,3-b] indole (Trip-P-2)은 신장에서 암을 일으키는 물질로 요리된 생선에서 발생되며 heterocyclic amine류 돌연변이원이다(Weisburger, 1993).

그리고 포제방법에 따른 감초경엽의 Aflatoxin B1에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 6과 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 GU-1, GU-2, GU-3, GU-4, GU-5를 각 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg의 농도로 처리하였을 때 각 1~73%, 26~88%, 27~91%, 21~89%, 25~92%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 신선한 감초경엽(GU-1)에서 가장 낮은 돌연변이 억제효과를 나타냈으며, 그 이외에는 대부분 유사하였다. AFB₁에 의한 암 유발 원인은 생체내 간의 microsomal enzyme system 가운데 mixed function oxidase에 의해 대사활성되어 친전자성인 핵산이나 단백질과 함께 첨가 생성물들은

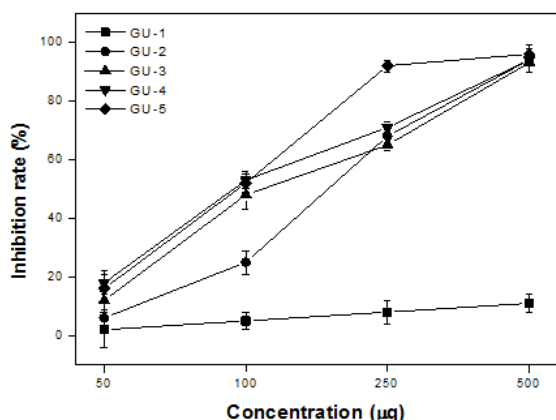


Fig. 5. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of Trip-P-2.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

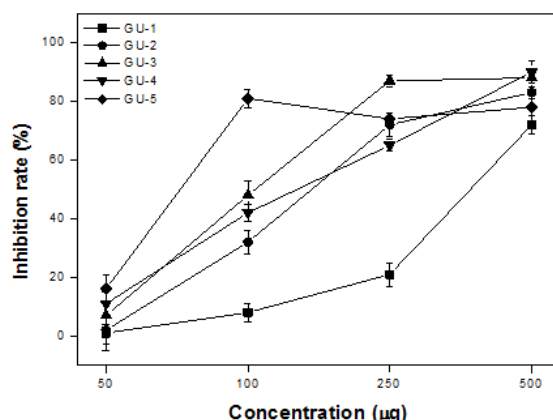


Fig. 7. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of 2-AA.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

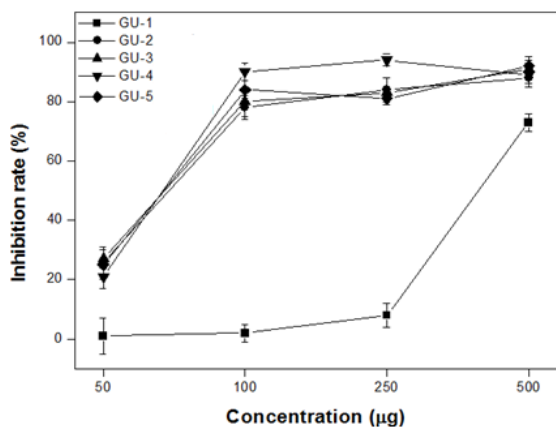


Fig. 6. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of AFB1.

*Mean ± standard deviation of triplicate.

*The conditioning of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer:

- GU-1: methanol extract of fresh leaves and stems
- GU-2: methanol extract of Dried leaves and stems
- GU-3: methanol extract of Blanched leaves and stems
- GU-4: methanol extract of Roasted three times leaves and stems
- GU-5: methanol extract of Roasted four times leaves and stems

형성함으로써 이들 물질을 불활성 또는 돌연변이를 일으키기 때문이라고 한다(Singer *et al.*, 1983). 이러한 aflatoxin은 인체에 노출될 경우 강한 발암원으로 간암 발생율을 60배나 증가시킨다(Eaton and Gallagher, 1994).

또한 포제방법에 따른 감초경엽의 2-aminoanthracene (2-AA)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 7과 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 GU-1, GU-2, GU-3, GU-4, GU-5를 각 50 µg, 100 µg, 250 µg, 500 µg의 농도로 처리하였을 때 각 1~73%, 2~83%, 7~88%, 11~90%, 16~78%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 테천 감초경엽(GU-3)에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를, 신선한 감초경엽(GU-1)에서 가장 낮았다. 2-aminoanthracene(2-AA)는 aromatic amine류로 염색약, 잉크, 플라스틱, 농약 등에서 쉽게 발견된다. 또한 에폭시수지나, 폴리우레탄, 화석연료, 담배, 음식조리과정 등에서도 쉽게 발견되어 우리와 밀접하다(Carriere *et al.*, 1992). 이러한 결과는 Siracusa *et al.* (2011)의 연구에서 *E. coli* PQ 37을 이용한 SOS chromotest에서 감초잎 메탄올 추출물이 4-NQO에 대한 높은 항돌연변이원성을 평가를 나타낸 유사하였다. 그리고 감초경엽의 항돌연변이원성의 요인중에 하나는 chlorophyll에 기인하기도 하는데, Kim *et al.* (1982)은 채소 중의 chlorophyll이 작간접 돌연변이원에 대해 항돌연변이원성을 나타냄을 보고하였고, Dashwood *et al.* (1998)은 chlorophyll의 수용성 유도체인 chlorophyllin은 세균 시험계에 있어서 heterocyclic amines, polycyclic aromatic hydrocarbons, aflatoxin 등의 많은 돌연변이원에 대해 돌연변이 억제효과를 나타냄을 보고하였다. 또한 식물 중의 polyphenol은 항산화뿐

만 아니라 항돌연변이원성과도 관련성을 나타내고 있으며, 식물종의 식이섭유, 갈변 물질과 관련성을 보이고 있다(Yen *et al.*, 1992).

감초는 한의약적으로 포제방법에 따라 다양한 효능과 약제들 간에 조화롭게 하여 널리 사용되고 있으나, 감초와 유사한 효능을 갖고 있는 것으로 알려진 감초 지상부는 대부분 버려지고 있다. 이러한 감초 지상부를 식품 및 약재로서 이용률을 높이기 위해 포제방법에 따른 감초경엽의 성분변화 및 항산화, 항돌연변이원성을 평가하였다. 그 결과 포제방법에 따라 감초경엽은 성분의 변화 및 항산화, 항돌연변이원성의 활성이 변화하였다. 포제방법에 따른 감초경엽의 성분변화에 있어서 aminopyrazine 및 diethyl bis(trimethylsilyl) ester silicic acid는 4회 볶은 감초경엽(GU-5)에서만 발견되었으며, corydaldine은 3회 볶은 감초경엽(GU-4)에서만 발견되었다. 그리고 항산화능력평가 즉, DPPH 및 ABTS 라디칼소거활성, 환원력측정, 총폴리페놀 함량에 있어서 신선한 감초경엽(GU-1)이 가장 낮은 활성을, 3회 볶은 감초경엽과 4회 볶은 감초경엽(GU-5)에서 비교적 높은 활성을 나타냈다. 또한 항돌연변이원성 평가에 있어서 직접변이원인인 1-NP에 대한 감초경엽은 모든 실험구에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 간접변이원인인 Trp-P-1, Trp-P-2, AFB₁, 2-AA에 대해서는 신선한 감초경엽(GU-1)에서는 매우 낮은 돌연변이 억제효과를 그 외 실험구에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 특히 직접돌연변이원인인 1-NP에 있어서 간접돌연변이원들과 달리 GU-1과 GU-2에서 큰 차이를 보이지 않았는데, 이는 가열 등에 의해 나타나는 maillard 반응에 의해 생성되는 물질이 돌연변이 억제효과를 나타낸 것으로 판단되며(Cheigh and Lee, 1993), 이에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다. 이러한 결과로부터 포제방법에 따른 감초경엽은 가공처리를 하지 않았을 때 보다 볶았을 때 보다 향상된 기능성을 나타내고 있어 볶음 공정에 따른 일차가공에 기능성을 향상과 차, 분말 제조 등 다양한 식품소재 및 한약재로서 사용이 가능할 것으로 판단된다.

적 요

포제 방법에 따른 감초경엽의 성분변화 및 항산화, 항돌연변이원성을 평가하였다. 성분변화를 관찰하기 위해 GC-Mass의 분석한 결과 각 추출물에서 공통으로 분석된 성분은 19.7분에서 cis-1,3-dimethyl-2-methylene-cyclohexane과 21.5에서 *n*-hexadecanoic acid이 모두 분석되었으며, 17.8분에서는

3-O-methyl-D-Fructose가 끓는 물에 데친 감초경엽에서 19.8분에서는 aminopyrazine이 4회 볶은 감초 잎과 줄기 추출물만 분석되지 않고 4가지 모두에서 분석되었다.

항산화 활성 측정에서는 DPPH 라디칼 소거활성에서 3회 볶은 감초경엽에서 EC₅₀이 2.66 ± 0.09 µg으로 가장 높은 활성을 나타냈으며, ABTS 라디칼 소거활성은 4회 볶은 감초경엽에서 EC₅₀이 0.57 ± 0.22 µg으로 가장 높았다. 환원력 측정에서는 3회 볶은 감초 잎과 줄기 추출물에서 가장 높게 나타났으며, 폴리페놀 함량 3회 볶은 감초경엽에서 3.38 ± 0.12 g/100 g으로 가장 높았다.

항돌연변이원성 평가에 있어서 직접변이원인 1-NP에 대해 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 간접변이원인인 Trp-P-1, Trp-P-2, AFB₁, 2-AA에 대해서는 3회 볶은 감초경엽(GU-1)에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈다.

사 사

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 산업기술 연구기반 구축사업(N0000004)으로 수행된 연구결과입니다.

인용문헌

- Ames, B.N. and D.M. Maron. 1983. Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test. *Mut. Res.* 113:173-215.
- Biondi D.M., C. Rocco and G. Ruberto. 2005. Dihydrostilbene derivatives from *Glycyrrhiza glabra* leaves. *J. Nat. Prod.* 68:1099-102.
- Cheigh, H.S and C.Y. Lee. 1993. Antioxidative and antimutagenic characteristics of melanoidin related products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 22:246-252.
- Chon, S.U., C.H. Bae and S.C. Lee. 2012. Antioxidant and cytotoxic potentials of methanol extracts from *Taraxacum officinale* F. H. Wigg. at different plant parts. *Korean J. Plant Res.* 25:232-239.
- Carriere, V, I. Waziers, Y.A. Courtois, J.P. Leroux and P.H. Beaune. 1992. Cytochrome P450 induction and mutagenicity of 2-aminoanthracene (2-AA) in rat liver and gut. *Mut. Res.* 268:11-20.
- Dashwood, R., T. Negishi, H. Hayatsu, V. Breinholt, J. Hendricks and G. Bailey. 1998. Chemopreventive properties of chlorophylls towards aflatoxin B1: a review of the antimutagenicity and anticarcinogenicity data in rainbow trout. *Mutat. Res.* 399:245-53.

- Eaton, D.L. and E.P. Gallagher. 1994. Mechanism of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34:135-12.
- Fukui, H., K. Goto and Tabata M. 1998. Two antimicrobial flavanones from the leaves of *Glycyrrhiza glabra*. *Chem. Pharmacol. Bull.* 36:4174-6.
- Halvorsen, B.L., K. Holte, M.C.W. Myhrsted, I. Barikmo, E. Hvattum and S.F. Remberg. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* 132:461-471.
- Hayashi H, M. Yasuma, N. Hiraoka, Y. Ikeshiro, H. Yamamoto, E. Yesilada, E. Sezik, G. Honda and M. Tabata. 1996. Flavonoid variation in the leaves of *Glycyrrhiza glabra*. *Phytochemistry* 42:701-4.
- Hwang, C.R., S.H. Oh, H.Y. Kim, S.H. Lee, I.G. Hwang, Y.S. Shin, J.S. Lee and H.S. Jeong. 2011. Chemical composition and antioxidant activity of Deoduk (*Codonopsis lanceolata*) and Doragi (*Platycodon grandiflorum*) according to temperature. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 40:798-803.
- Kim, N.J., Y.H. Jin and N.D. Hong. 1995. Studies on the processing of Crude durg(IV)-Physico-chemical transformation of glycyrrhizin in *Glycyrrhizae radix* by processing. *Kor. J. Pharmacogn.* 26:31-39.
- Kim, S.W., B.S. Tchae, S.C. Park and S.J. Kang. 1982. Antimutagenic activity of chlorophyll to direct- and indirect-acting mutagens and its contents on the vegetables. *Korean J. Biochem.* 14:1-7.
- Lee, J.H., K.R. Ze, D.H. Kim, J.Y. Park, Y.H. Shim, J.H. Kim, S. Lim, J.S. Shin, I.S. Kim, J.Y. Kim, S.H. Seong, S.Y. Jang, D.S. Kim and R.S. Seong. 2009. Analysis of liquiritigenin, an aglycone of liquiritin in licorice by high performance liquid chromatography. *Kor. J. Pharmacogn.* 40:309-314.
- Lee, J.R., M.J. Jo, S.M. Park, S.C. Kim and S.J. Park. 2010. Establishment of UPLC method for analysis of liquiritigenin and studies on the processing of licorice for enhancement of liquiritigenin content. *Korean J. Oriental Medical Prescription* 18:145-154.
- Lee, J.R., S.J. Park, Y.W. Kim, I.J. Choi, S.H. Byun. and S.C. Kim. 2011. Comparison of antimicrobial effects of corydalis tuber and processed corydalis tuber against propionibacterium acnes. *J. Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology* 24:17-26.
- Lim, M.R. and S.M. Kang. 2009. Improvement effect of *Salicornia herbacea* L. diet on the acne skin. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 19:750-760.
- Na, I.S., M.J. Park, C.H. Noh, J.W. Min, M.H. Bang and D.C. Yang. 2008. Production of flavonoid aglycone from Korean *Glycyrrhizae radix* by biofermentation process. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 22:569-574.
- Okawa, M., J. Kinjo, T. Nohara and M. Ono. 2001. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.* 24:1202-1205.
- Park, C.S., D.H. Kim and M.L. Kim. 2008. Biological activities of extracts from corni fructus, astragalus membranaceus and *Glycyrrhiza uralensis*. *Kor. J. Herbology* 23:93-101.
- Park, J.S., J.H. Lee and K.S. Bang. 2012. Evaluation of antioxidant capacity and antimutagen activity of bulbil extracts of the *Dioscorea japonica* Decaisne and *Dioscorea batatas* Decaisne. *Korean J. Plant Res.* 25:200-208.
- Pederson, T.C. and J.S. Siak. 1981. The role of nitroaromatic compounds in the direct-acting mutagenicity of diesel particle extracts. *J. Appl Toxicol.* 1:54-60.
- Pulido, R., L. Bravo and F. Saura-Calixto. 2000. Antioxidative activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 38:3396-3402.
- Rhim, T.J. and M.Y. Choi. 2011. The antioxidative effects of rhododendron brachycarpum extracts. *Korean J. Plant Res.* 24:456-460.
- Singer, B. and D. Grunberger. 1983. *Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens*. Plenum Press, New York, USA.
- Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am. J. Enol. Vitic.* 28:49-55.
- Siracusa, L., A. Saija, M. Cristani, F. Cimino, M. D'Arrigo, D. Trombetta, F. Rao and G. Ruberto. 2011. Phytocomplexes from liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) leaves — Chemical characterization and evaluation of their antioxidant, anti-genotoxic and anti-inflammatory activity. *Fitoterapia* 82:546-556
- Weng, Y., C. Fang, R.J. Turesky, M. Behr, L.S. Kaminsky and X. Ding. 2007. Determination of the role of target tissue metabolism in lung carcinogenesis using conditional cytochrome P450 reductase-null mice. *Cancer Res.* 67:7825-7832.
- Weisburger, J.H. 1993. Heterocyclic amines in cooked foods: possible human carcinogens. *Cancer Res.* 53:2422-2424.
- Yen, G.C., L.C. Tsai and J.D. Lii. 1992. Antimutagenic effect of Maillard browning products obtained from amino acids and sugars. *Chem. Toxicol.* 30:127-32.

(Received 30 August 2013 ; Revised 18 October 2013 ; Accepted 28 October 2013)