

## LED광원에 따른 감초 지상부의 생리활성 및 성분 평가

방극수<sup>1</sup>, 장영남<sup>1</sup>, 진종식<sup>1</sup>, 박상아<sup>1</sup>, 임재수<sup>2</sup>, 박정섭<sup>3</sup>, 김종성<sup>4</sup>, 이정호<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>전북대학교 한약자원학과, <sup>2</sup>원광대학교 한약학과, <sup>3</sup>대두식품, <sup>4</sup>군장대학교 호텔외식조리과

### A Comparative Study of Physiological Activity and Ingredient Analysis of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer Stems and Leaves Cultivated with Different Wavelength of LED Lights

Keuk Soo Bang<sup>1</sup>, Young Nam Chang<sup>1</sup>, Jong Sik Jin<sup>1</sup>, Sang A Park<sup>1</sup>, Jae Soo Lim<sup>2</sup>, Jeong Sub Park<sup>3</sup>,  
Jong Sung Kim<sup>4</sup> and Jeong Ho Lee<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Herbal Medicine Resources, Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea

<sup>2</sup>Department of Oriental Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>3</sup>Daedoo Food Co., LTD, Kunsan 573-941, Korea

<sup>4</sup>Department of Culinary Art, Kunjang University, Kunsan 573-709, Korea

**Abstract** - *Glycyrrhiza uralensis* Fischer is one of the most commonly used herbs. Recently, the stem and leave of the plant have been interested in physiological activities because the aerial parts have been thrown away. Finding out cultivation method of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer to improve chemical ingredients and biological activities has been tried these days. In this study, different wavelengths of light emitting diode (LED) were used for a cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer. Antioxidant activities and inhibitory effect on mutagenicity of samples were evaluated. The stem and leave cultivated under blue light (BL-0) showed the strongest antioxidant activities of  $3.02 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) and  $2.18 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$  ( $\text{EC}_{50}$ ) in DPPH and ABTS radical scavenging test, respectively. Total phenolic content of BL-0 was  $2.93 \pm 0.11 \text{ g/100 g}$ , the highest value between cultivation conditions. However, antioxidant activities of the stem and leave cultivated under red light were the weakest between samples. All of the stem and leave used in this study showed inhibitory effect on mutagenicity of 1-nitropyrene. BL-0 showed stronger inhibitory effects on mutagenicity of Trp-P-1, Trp-P-2, and AFB1 than samples cultivated under other conditions. Only on mutagenicity of 2-aminoanthracene, the stem and leave cultivated at 1 m apart from red light (RL-1) showed the strongest inhibitory effect. These results indicate that blue LED might be the most effective condition for improvement of physiological activities for the aerial parts of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer in cultivation. The components were identified with GC/MS. Cytidine was detected only in RL-1 at 25 min of retention time and 2-bromotrimethylene glycol was detected only in BL-0 at 37 min.

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

## 서 언

감초 (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer)는 콩과(Leguminosae)의 다년생 초본으로 키는 30~80 cm이고 기부는 목질화하며 가지가 많고 어린 줄기에는 털이 있다. 뿌리는 직근으로 아프가니스탄, 파키스탄, 중국(감숙성, 신강성), 몽골 등에서 총 8종이 알려져 있으며, 근래에 들어 우리나라에서 다량 재배되고 있다

(Lee *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2013). 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; Park *et al.*, 2013). 이러한 효능을 나타내는 주요 성분으로는 glycyrrhizin, glycycomarin, liquiritin, isoliquiritin, liquiritigenin, isoliquirtigenin, licoricidin, apioside,

\*교신저자(E-mail) : wooju0717@hanmail.net

© 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

apioliquiritin, glycyrrhetic acid, glucose, saponin 등이 보고(Lee *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2008) 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, astragaln, isoquercitrin, vicenin II, inositol, pinitol 등 다양한 성분이 분리되면서 연구소재 및 식품으로의 활용성이 모색되고 있다(Biondi *et al.*, 2005).

LED (light emitting diode)는 수은을 사용하지 않아 친환경적이고, 경량이며 수명이 길고, 전력이 적게 소모된다(Cho *et al.*, 2005). LED광은 전자가 흐르면서 빛이 발생하는 원리를 이용한 반도체 소자로서 접합하는 화합물을 다르게 하면 다양한 광원을 만들 수 있으며, 사용자가 요구하는 광질을 선택할 수 있어 활용도가 높다. 현재 식물재배에 LED광을 이용한 연구는 브로콜리, 수박, 고추, 인삼, 파프리카 등의 작물의 형태 형성과 착색 등에 관한 연구가 대부분이며(Cho *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2012), 현재 LED를 이용하여 감초를 재배한 후 이에 대한 생리활성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에 있어서는 LED광원이 감초 지상부의 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 생리활성 및 활성성분을 분석하여 새로운 감초 재배법을 개발하기 위한 자료를 조사하고자 청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 이용하여 재배하였다. 그리고 재배되어진 감초 지상부를 채취하여 음건한 후 항산화활성(DPPH 및 ABTS 라디칼소거활성, 총폴리페놀함량, 환원력측정)과 항돌연변이원성(Ames test)을 비교·평가하였으며, GC/MS를 이용하여 함유성분의 차이를 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 실험에 사용한 감초는 전북대학교 환경생명과학대학 실험포장에 청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 조사시키면서 재배한 1년생 감초 지상부를 채취하여 실험에 사용하였다. 사용된 검체는 청색광 밑에서 재배한 감초 지상부(BL-0), 청색광에서 1 m 떨어진 지점에서 재배한 감초 지상부(BL-1), 청색광과 적색광에서 2 m 떨어진 지점에서 재배한 감초 지상부

(BR-2), 적색광에서 1 m 떨어진 지점에서 재배한 감초 지상부(RL-1), 적색광 밑에서 재배(RL-0) 감초 지상부이다.

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<sub>B1</sub> (AFB<sub>1</sub>), 1-nitropyrene (1-NP), 2-amino anthracene (2-AA)은 Aldrich Chem. Co.의 제품을 구입하여 사용하였다.

### 시료 추출

전북대학교 환경생명과학대학 실험포장에서 청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 24시간 조사시키면서 재배한 1년생 감초 지상부를 채취한 후 음건하고 시료의 5배의 메탄올을 가하여 상온에서 168 시간 동안 침지시켜 추출하였다. 이와 같은 방법으로 3회 반복 추출한 후 얻은 메탄올 추출물을 0.4 μm 필터로 여과시킨 후 여과액을 감압 농축하여 실험에 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 ml를 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응 시킨 후, 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 농도에 따른 DPPH 라디칼을 소거하여 잔존하는 DPPH 라디칼을 50% 줄일 수 있는 농도(EC<sub>50</sub>)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 µl를 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(EC<sub>50</sub>)로 계산하였다.

### 환원력 측정

환원력 측정은 Pulido *et al.* (2000)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 재배조건을 달리한 감초 지상부 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 반응하였다. 반응액에 10% TCA (trichloroacetic acid) 1 ml를 혼합한 다음 원심분리하여 상층액 1 ml를 취한 다음, 이에 1 ml 증류수와 0.1% FeCl<sub>3</sub> 0.2 ml를 혼합하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 함량 측정은 Slinkard *et al.* (1977)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 즉 재배조건을 달리한 감초 지상부 메탄올 추출을 0.5 mg/10 ml (DMSO) 농도 용해시킨 시료추출액 0.2 ml와 증류수 1.8 ml, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 ml를 혼합하여 5분간 반응 시킨다. 이에 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 ml와 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

재배조건을 달리한 감초 지상부 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 × 10<sup>9</sup> 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]를 평판 배지 상에 도포하여 37°C에서 48시간 배양하여 발생한 복귀 돌연변이주(*his*<sup>+</sup> revertant colony)의 수를 계수하여 돌연변이 억제 효과를 평가하였다. 돌연변이 억제효과는 다음과 같이 계산

하였으며, 각각의 실험은 2 plate씩 2반복 실시하였다.

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

M : The number of revertants only in presence of mutagen

S<sub>0</sub> : The number of spontaneous revertants

S<sub>1</sub> : The number of revertants in presence of mutagen and sample

### GC/MS 분석

청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 이용하여 재배한 감초 지상부 메탄올 추출물 1 mg을 메탄올 5 ml에 희석한 후 sonication (10 min)을 거쳐 0.45 µm filter를 통해 여과시킨 후에 GC/MS 분석을 진행하였다. MS조건은 Scan mode로 진행하였으며, 분석 조건은 Table 1과 같다(Pederson *et al.*, 1981).

### 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 분

Table 1. Analytical condition of GC/MSD

C/MS	7890 gas chromatograph/5975 mass selective detector, Agilent Co.
Column	HP-5MS UI (I.D. 0.25 mm * Length 30 m, film thickness 0.25 µm)
Carrier gas	He
Injector temp.(°C)	250
Detector temp.(°C)	250
Oven Temp. °C	50°C (3 min) to 190°C (15 min) at a rate of 5°C/min, to 240°C (10 min) at a rate of 20°C/min, to 300°C (30 min) at a rate of 20°C/min
Injection volume	1 µl
Split ratio	Splitless
Run time(min)	91.5
Solvent delay(min)	3.00
Mass range(m/z)	40~550
MS Library	W8N05ST

석한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 항산화 평가

LED 광원을 달리하여 재배한 감초 지상부의 DPPH 라디칼 소거활성 및 ABTS 라디칼 소거활성, 총폴리페놀함량을 측정하였다(Table 2). DPPH를 이용한 라디칼 소거활성은 BL-0에서  $EC_{50}$ 이  $3.02 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$ 로 가장 높은 라디칼 소거활성이 나타났다. BL-1에서  $EC_{50}$ 이  $3.13 \pm 0.28 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났고, BR-2에서  $EC_{50}$ 이  $3.27 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ , RL-0에서  $EC_{50}$ 이  $3.28 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ , RL-1에서  $EC_{50}$ 이  $3.29 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ 로 라디칼 소거활성을 보였다. ABTS 라디칼 소거활성은 BL-0에서  $EC_{50}$ 이  $2.18 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ 로 가장 높은 라디칼 소거활성이 나타났으며, BL-1에서  $EC_{50}$ 이  $2.31 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$ , BR-2에서  $EC_{50}$ 이  $2.35 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ , RL-0에서  $EC_{50}$ 이  $2.39 \pm 0.14 \mu\text{g/ml}$ , RL-1에서  $EC_{50}$ 이  $2.39 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$ 의 순으로 ABTS 라디칼 소거활성을 보였다. 또한 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 BL-0에서  $2.93 \pm 0.11 \text{ g/100 g}$ 으로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타냈으며, BR-2에서  $2.73 \pm 0.11 \text{ g/100 g}$ , RL-1에서  $2.56 \pm 0.12 \text{ g/100 g}$ , BL-1에서  $2.55 \pm 0.09 \text{ g/100 g}$ , RL-0에서  $2.49 \pm 0.16 \text{ g/100 g}$ 으로 가장 낮은 폴리페놀 함량을 나타냈다.

LED 광원을 달리하여 재배한 감초 지상부의 DPPH 라디칼 소거활성은 BL-0에서 가장 높은 활성을 나타냈으며, RL-1에서

가장 낮은 활성을 나타냈으나 개체간의 라디칼 소거활성의 차이는 크지 않았다. Park *et al.* (2011)의 연구에서는 감초 지상부를 포제하는 과정에서 성분의 변화 및 농축으로 인하여 DPPH 라디칼 소거활성이 차이가 나타났다고 보고한 결과와 비교하면 감초 지상부에서 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내는 물질이 열에 매우 안정한 물질임을 알 수 있다. Siracusa *et al.* (2011)의 연구에서 감초 잎 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은  $35.01 \mu\text{g/ml}$  ( $EC_{50}$ )로 본 연구 보다 다소 약하게 나타났다. 이러한 결과는 감초의 사용부위와 재배환경에 따른 차이로 보인다. ABTS 라디칼 소거활성에 있어서 BL-0에서 가장 높은 소거활성을 나타냈으며, RL-1에서 가장 낮은 소거활성을 나타냈다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거활성과 유사하였다. DPPH 라디칼 소거활성보다 ABTS 라디칼 소거활성이 다소 높게 나타난 경향은 Park *et al.* (2013)의 감초 지상부의 포제방법에 따른 생리활성 비교 연구 결과와 유사하였다. 이와 같이 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과 각 개체간의 활성이 크게 차이가 나타나지 않았다. 총폴리페놀함량도 개체간의 차이가 크지 않은 것으로 보아 감초를 재배하는 과정에서 각 광원들로 인하여 생성되는 특정 성분이나 성분의 함량의 변화가 거의 없어 생리활성의 차이도 적은 것으로 예상되나, 확인을 위해 개별 성분들에 대한 정성 및 정량 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

LED 광원을 달리하여 재배한 감초 지상부 메탄올 추출물을 25, 50, 100  $\mu\text{g/ml}$ 을 처리한 후 환원력(reducing power)을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. BL-0에서 환원력이 가장 높게 나타났

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

	DPPH radical scavenging activity ( $EC_{50}$ , $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>z</sup>	ABTS radical scavenging activity ( $EC_{50}$ , $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>z</sup>	Total phenolic content (g/100 g) <sup>z</sup>
BL-0	$3.02 \pm 0.13^{\text{ay}}$	$2.18 \pm 0.18^{\text{ay}}$	$2.93 \pm 0.11^{\text{ay}}$
BL-1	$3.13 \pm 0.28^{\text{b}}$	$2.31 \pm 0.21^{\text{b}}$	$2.55 \pm 0.09^{\text{b}}$
BR-2	$3.27 \pm 0.18^{\text{c}}$	$2.35 \pm 0.22^{\text{c}}$	$2.73 \pm 0.11^{\text{b}}$
RL-1	$3.29 \pm 0.22^{\text{cd}}$	$2.42 \pm 0.19^{\text{c}}$	$2.56 \pm 0.12^{\text{c}}$
RL-0	$3.28 \pm 0.16^{\text{ce}}$	$2.39 \pm 0.14^{\text{d}}$	$2.49 \pm 0.16^{\text{b}}$

<sup>z</sup>Each value expressed as the mean±standard deviation (n = 3).

<sup>y</sup>Means in the same column with the different are significantly different ( $p < 0.05$ ) by Douncan's multiple range test.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;

BL-0; cultivated under blue light

BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light

BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light

RL-1; cultivated at 1 m apart from red light

RL-0; cultivated under red light.

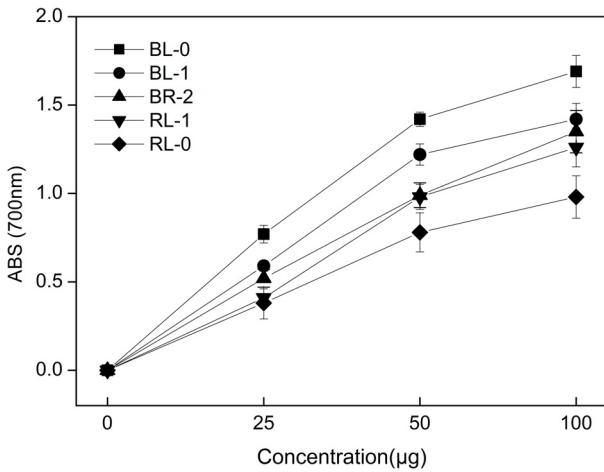


Fig. 1. Reducing power of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer.

\*Mean ± standard deviation of triplicate.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

으며, BL-1과 BR-2, RL-1, RL-0 순으로 환원력이 낮았다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거 활성과 ABTS 라디칼 소거활성, 환원력과 일치하는 것으로 재배환경에 따라 항산화 활성도 차이가 나타나는 것으로 나타났으나, 개체간 활성의 차이는 크지 않았다(Kim *et al.*, 1995). Park *et al.* (2013)의 감초 지상부의 포제방법에 따른 생리활성 비교 연구에서 감초 지상부의 포제방법에 따라 항산화활성이 증가하는 것은 열처리 온도가 증가함에 폴리페놀 함량도 증가하여 활성이 증가하였다고 보고한 결과와 유사한 활성으로 나타났다.

**항돌연변이원성 측정**

LED 광원을 달리하여 재배한 감초지상부 메탄올추출물의 1-nitropyrene (1-NP)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 BL-0, BL-1, BR-2, RL-1, RL-0 메탄올 추출물을 각 50, 100, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 24~81%, 21~73%, 20~63%, 21~66%, 17~58%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. LED 광원을 달리하여 재배한 감초지상부의 1-NP에 대한 돌연변이 억제 효과는 BL-0에서 가장 높게 나타났으며, RL-0에서 가장 낮았다. 1-nitropyrene (1-NP)은 호흡기를 통하여 인체에 흡수되어 산소와 결합하여 ring를 형성한 후 DNA와 결합하여 돌연변이

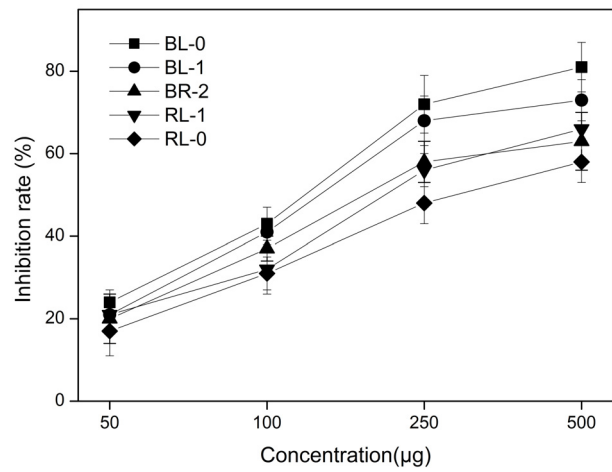


Fig. 2. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of 1-NP.

\*Mean ± standard deviation of triplicate.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

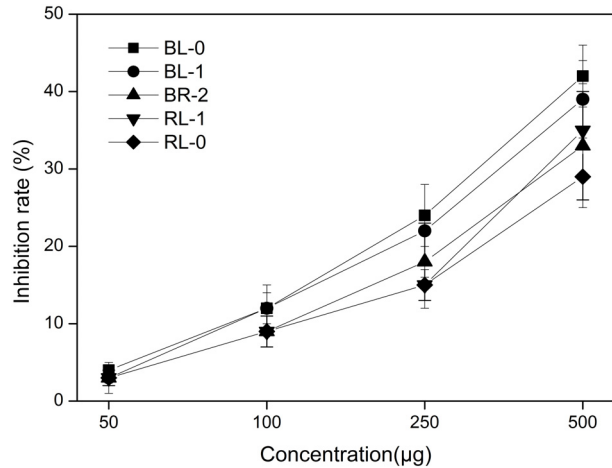


Fig. 3. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of Trip-P-1.

\*Mean ± standard deviation of triplicate.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

를 일으키는 물질이다. 디젤엔진이나 화석연료의 불완전산화에 의해 많이 발생되는 니트로화합물인 1-nitropyrene (1-NP)

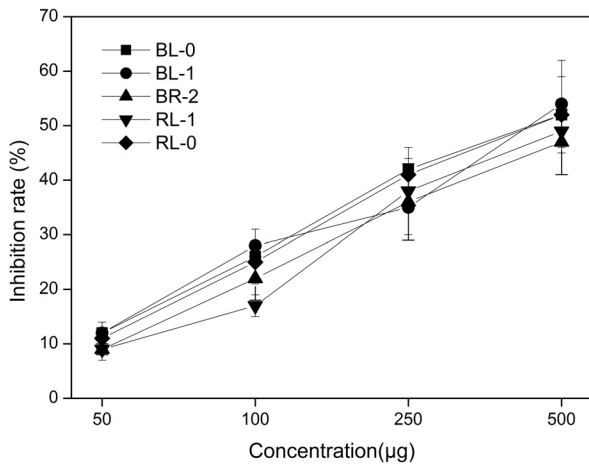


Fig. 4. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of Trip-P-2.

\*Mean  $\pm$  standard deviation of triplicate.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

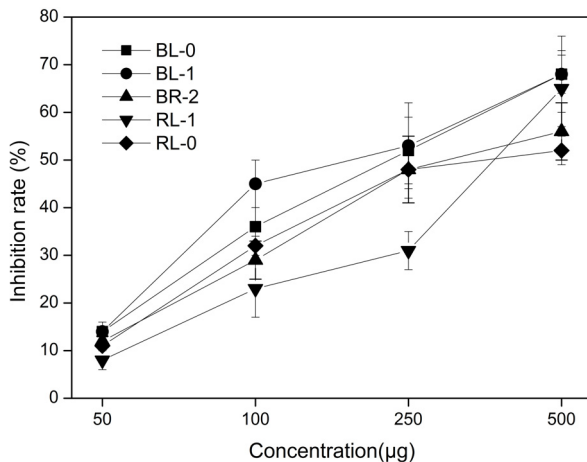


Fig. 5. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of AFB<sub>1</sub>.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

은 대도시의 대기 중에 약 57 pg/m<sup>3</sup> 존재하는 것으로 알려져 있고, 호흡을 통해서만 인체에 흡입된다(Pederson *et al.*, 1981).

3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trip-P-1)에 대한 돌연변이 억제효과는 Fig. 3과 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 BL-0, BL-1, BR-2, RL-1, RL-0를 각 50, 100, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 4~42%, 3~39%, 3~33%, 3~35%, 3~29%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 BL-0에서 가장 높은 돌연변이 억제가 나타났으며, RL-0에서 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 많이 발생된다(Weng *et al.*, 2007).

3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trip-P-2)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정하였다(Fig. 4). 그 결과 *S. typhimurium* TA98에 있어서 BL-0, BL-1, BR-2, RL-1, RL-0를 각 50, 100, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 12~52%, 12~54%, 9~47%, 9~49%, 11~52%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 BL-0에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를, BR-2에서 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).

Aflatoxin B<sub>1</sub>에 대한 돌연변이 억제효과를 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 BL-0, BL-1, BR-2, RL-1, RL-0를 각 50, 100, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 각 14~68%, 14~68%, 12~56%, 8~65%, 11~52%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 BL-1에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈고, RL-0에서 가장 낮은 돌연변이 효과를 나타냈다. AFB<sub>1</sub>에 의한 암 유발 원인은 생체내 간의 microsomal enzyme system 가운데 mixed function oxidase에 의해 대사활성되어 친전자성인 핵산이나 단백질과 함께 첨가 생성물들은 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).

2-aminoanthracene (2-AA)에 대한 돌연변이 억제효과를 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. *S. typhimurium* TA98에 있어서 BL-0, BL-1, BR-2, RL-1, RL-0를 각 50, 100, 250, 500 µg/ml의 농도로 처리하였을 때 각 7~56%, 8~64%, 8~67%, 6~69%, 6~61%의 돌연변이 억제효과를 나타냈다. 즉 RL-1에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를, BL-0에서 가장 낮았다. 2-aminoanthracene (2-AA)는 aromatic amine류로 염색약, 잉크, 플라스틱, 농약



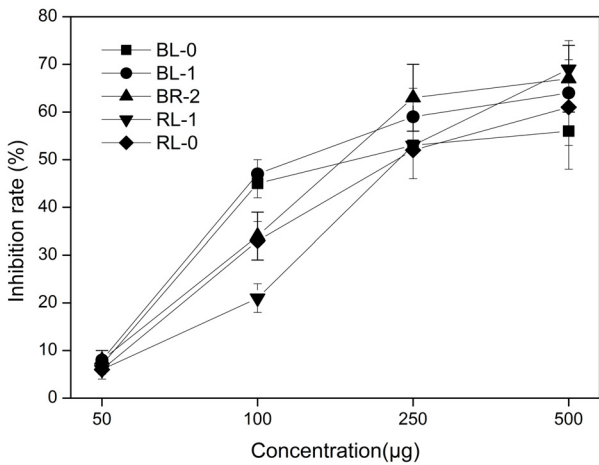


Fig. 6. Inhibitory effect of methanol extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fischer on the mutagenicity of 2-AA.

\*Mean ± standard deviation of triplicate.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

등에서 쉽게 발견된다. 또한 에폭시수지나, 폴리우레탄, 화석 연료, 담배, 음식조리 과정 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 추출물의 4-NQO에 대한 높은 항돌연변이원성 활성과 유사하였다. 그리고 감초지상부의 항돌연변이원성의 요인중에 하나는 chlorophyll에 기인하기도 하는데, Kim *et al.* (1982)은 채소 중의 chlorophyll이 직·간접 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 항산화뿐만 아니라 항돌연변이원성과도 관련성을 나타내고 있으며, 식물중의 식이섬유, 갈변 물질과 관련성을 보이고 있다 (Yen *et al.*, 1992).

감초는 한방에서 약재들 간에 약성을 조화시키는 등 다양한 효능을 가지고 있어 널리 사용하고 있다. 감초의 주성분은 glycyrrhizin liquiritin, liquiritigenin, licoricidin, apioside, apioliquiritin, glycyrrhetic acid 등으로 대한약전외한약(생약)규격집에서 감초는 건조한 후 glycyrrhizin의 함량이 2.5%

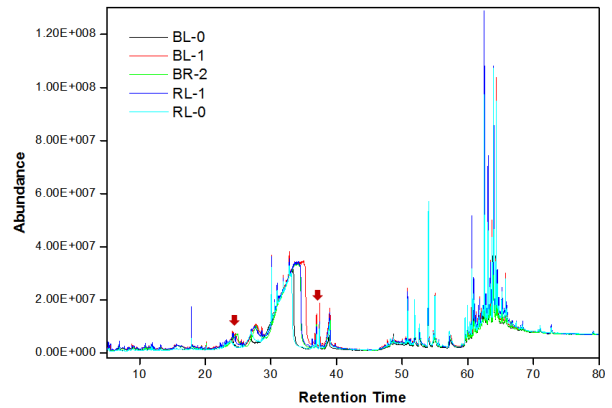


Fig. 7. GC/MSD chromatogram of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer.

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer;  
 BL-0; cultivated under blue light  
 BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
 BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
 RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
 RL-0; cultivated under red light.

이상 함유되어야 한약으로 사용될 수 있다고 규정하고 있다. 그동안 감초는 우리나라의 기후와 토양 등 재배 조건이 맞지 않아 재배되지 않았으나 최근 감초의 재배법을 개발하여 일부 농가에서 재배하고 있다. 이에 따라 감초의 재배방법을 개량하여 대한약전외한약(생약)규격집에서 요구하는 기준치인 glycyrrhizin의 함량을 2.5% 이상 함유시키는 등 약성이 우수한 감초를 재배하게 되면 우리나라의 한방산업 및 식품산업의 발전에 많은 도움이 될 것으로 판단된다. 또한 감초와 유사한 효능을 갖고 있는 지상부는 대부분 버려지고 있어 감초 지상부를 식품 및 약재로서 이용률을 높이기 위하여 청색광 LED와 적색광 LED를 이용하여 재배한 후 항산화, 항돌연변이원성을 평가하였다. 그 결과 청색광 LED와 적색광 LED의 재배 환경에 따라 항산화, 항돌연변이원성의 활성의 변화가 측정되었다. 항산화능력평가 중 DPPH 및 ABTS 라디칼소거활성, 환원력측정, 총폴리페놀함량에 있어서 BL-0이 가장 높은 활성을 나타냈고, RL-0에서 낮은 활성을 나타냈다. 또한 항돌연변이원성 평가에 있어서 직접변이원인 1-NP에 대하여 모든 실험군에서 돌연변이 억제효과가 나타났으며, 간접변이원인인 Trp-P-1, Trp-P-2, AFB<sub>1</sub>, 2-AA에 대해서는 BL-0에서 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈지만 개체간의 활성의 차이는 크지 않았다. 이러한 결과로부터 청색광LED에서 재배한 감초지상부에서 항산화활성과 항돌연변이 억제효과가 우수하게 나타나 향 후 청색광 LED를 이용하여 감초를 재배한 후 함유성분의 변화 및 생리활성연구에 대한 심도

Table 3. GC/MSD analysis of the compounds contained in *Glycyrrhiza uralensis* Fischer

Retention Time (min)	Compound	Detection
24.8	Cytidine	RL-1 :Only detected
36.8	2-bromotrimethylene glycol	BL-0 :Only detected

\*The conditioning of cultivation of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer; BL-0; cultivated under blue light  
BL-1; cultivated at 1 m apart from blue light  
BR-2; cultivated at 2 m apart from blue and red light  
RL-1; cultivated at 1 m apart from red light  
RL-0; cultivated under red light.

있는 연구를 진행할 예정이다.

### GC/MS 분석

청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 이용하여 재배한 감초지상부의 성분변화를 관찰하기 위해 GC/MS를 이용해 분석한 결과 모든 추출물에서 비슷한 결과를 보였으나 약 25분, 37분에서 성분의 차이가 있는 것으로 나타났다(Fig. 7). 25분에서 RL-1에서만 cytidine이 검출되었고, 37분에서 BL-0에서만 2-bromotrimethylene glycol이 특징적으로 검출되었다. 이와 같이 화학성분이 특징적으로 검출된 것은 재배환경의 차이 즉, 청색광과 적색광에 의한 재배환경의 차이에 의한 것으로 판단된다(Table 3).

### 적 요

LED 광원을 달리하여 재배한 감초지상부의 항산화, 항돌연변이원성을 평가하였다. BL-0에서 DPPH 라디칼 소거활성에서 EC<sub>50</sub>이 3.02 ± 0.13 µg/ml와 ABTS 라디칼 소거활성은 EC<sub>50</sub>이 2.18 ± 0.18 µg/ml와 환원력이 가장 높게 나타났다. 폴리페놀 함량은 2.93 ± 0.11 g/100 g으로 가장 높게 나타났으며, RL-0에서는 항산화 활성이 가장 낮게 나타났다. 항돌연변이원성 평가에서 직접변이원인 1-NP에 대해 모든 실험군에서 돌연변이 억제효과를 나타냈으며, 간접변이원인인 Trp-P-1, Trp-P-2, AFB<sub>1</sub>에 대해서는 BL-0에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를 나타냈고, 2-AA에서는 RL-1에서 돌연변이 억제가 높게 나타났다. 청색광 LED (650 nm)와 적색광 LED (450 nm)를 이용하여 재배한 감초지상부의 성분변화를 관찰하기 위해 GC/MS를 이용

해 분석한 결과 25분에서 RL-1에서만 cytidine이 검출되었고, 37분에서 BL-0에서만 2-bromotrimethylene glycol이 특징적으로 검출되었다. 이는 LED광원 조건에 따라 감초 경엽의 성분이 차이가 있음을 보여준다. 이 성분들이 생리활성에 어떤 영향을 주는지는 더 검토해야할 부분이다.

### 사 사

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

### References

- Ames, B.N. and D.M. Maron. 1983. Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test. *Mut. Res.* 113:173-215.
- Andriati, N. and S. Matthias. 2014. Carotenoid-cleavage activities of crude enzymes from Pandanus amryllifolius. *Chem. Biod.* 11:1871-1881.
- Biondi, D.M., C. Rocco and G. Ruberto. 2005. Dihydrostilbene derivatives from *Glycyrrhiza glabra* leaves. *J. Nat. Prod.* 68:1099-102.
- 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.
- Cho, J.Y., D.M. Son., J.M. Kim., B.S. Seo., S.Y. Yang, J.H. Bae and B.G. Heo. 2008. Effect of LED light quality on the germination, growth and physiological activities of broccoli sprouts. *J. Bio-Environment Con.* 17:116-123.
- 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.* 399:245-253.
- Eaton, D.L. and E.P. Gallagher. 1994. Mechanism of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34:135-112.
- Fukui, H., K. Goto and Tabata M. 1998. Two antimicrobial flavanones from the leaves of *Glycyrrhiza glabra*. *Chem. Pharmacol. Bull.* 36:4174-4176.
- 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* 42:701-704.
- 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.
- 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., S.H. Park., I.S. Oh., Y.N. Chung., K.S. Bang., E.J. Byeon and J.H. Lee. 2013. A comparative study of physiological activity of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer stems and leaves by processing methods. *Korean J. Plant Res.* 26:539-547.
- 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.* 30:127-132.

(Received 9 February 2015 ; Revised 13 February 2015 ; Accepted 16 February 2015)