

## 재배기간을 달리한 감초 추출물의 항산화 및 미백 활성

이희원<sup>1</sup> · 송빛나<sup>2</sup> · 박슬기<sup>2</sup> · 이성현<sup>3</sup> · 박보람<sup>4</sup> · 박찬순<sup>5</sup> · 박신영<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 전문연구원,

<sup>2</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 연구원,

<sup>3</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 기능성식품과 농업연구관,

<sup>4</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 농업연구사,

<sup>5</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부 발효가공식품과 농촌지도관

### Antioxidant and Skin-Whitening Activity of *Glycyrrhiza uralensis* Extract Cultivated for Different Periods

Hee-Won Lee<sup>1</sup>, Bit-Na Song<sup>2</sup>, Seul-Ki Park<sup>2</sup>, Sung-Hyen Lee<sup>3</sup>, Bo-Ram Park<sup>4</sup>, Chan-Soon Park<sup>5</sup> and Shin-Young Park<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Professional Researcher, Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

<sup>2</sup>Researcher, Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

<sup>3</sup>Senior Researcher, Functional Food Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

<sup>4</sup>Agricultural Researcher, Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

<sup>5</sup>Rural Leader, Fermented Processing Food Science Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Republic of Korea

#### ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the quality characteristics, antioxidant and skin-whitening activity of *Glycyrrhiza uralensis* extract cultivated for different periods. The physicochemical components such as pH, total acid, reducing sugar, and content of potent functional components (glycyrrhizin, glabridin, liquiritin, liquiritigenin and glycyrrhisoflavone) and the tyrosinase inhibitory activity were investigated. Also, the antioxidant activities such as DPPH, ABTS, and total phenolic and total flavonoid content were measured. The total phenolic and flavonoid contents were observed to be the highest in the 1-year-old (K1) sample group, and showed values of 18.32% and 6.94%, respectively. The 3-year-old (K3) sample showed the highest content of glycyrrhizin at 163.65 mg/100 g. Compared to the other samples, the K1 sample had a superior content of glabridin, liquiritin, liquiritigenin, and glycyrrhisoflavone. The K1 sample also showed the highest skin-whitening activity of 54.68±1.23%. Therefore, it was concluded that the K1 sample has good antioxidant and skin-whitening activity and thus has the potential not only as a food material but also as a cosmetic material and various industrial uses.

**Key words:** *Glycyrrhiza uralensis*, antioxidant activity, glycyrrhizin, liquiritin, skin-whitening activity

#### 서 론

감초(Licorice, *Glycyrrhiza uralensis*)는 다년생 초본으로 주로 뿌리를 한약재와 감미료 등으로 사용하고 맛이 달며 독이 없고 따뜻한 성질을 가지고 있는 약용식물이다. 대한민국의약전 제9 개정에 따르면 감초(*G. uralensis*), 광과감초(*G.*

*glabra*) 및 창과감초(*G. inflata*)의 뿌리 및 뿌리줄기로 규정되어 있고 감초 본래 그대로 사용하거나 주피를 제거한 것으로 한약재로서 널리 이용되고 있다(Lee JH 등 2009).

감초(*G. uralensis*)는 주로 생약재로 사용되고 있으며 한방에서 해독제, 진해거담제로 쓰이고 근육이나 조직의 긴장 때문에 생기는 근육통 등을 풀어주는 작용, 이뇨작용, 항염 작용 등 거의 모든 질환에 효능이 알려져 있다(Shibata S 등 1991). 감초는 감미가 높고 기포력, 유효력 및 풍미 개선 능력이 있어(Fenwick GR 등 1990) 식빵(Lee SY 등 2006), 탁

\* Corresponding author : Shin-Young Park, Tel: +82-63-238-3643, Fax: +82-63-238-3641, E-mail: soyoenj@korea.kr

주(Kim AR 등 2008), 고추장(Lee SI & Song SM 2010) 등에 이용되었으며, 최근에는 건강기능식품, 조미료, 숙취해소음료, 화장품 원료 등으로 다양하게 가공되어 사용하고 있다(Park JH 등 2011). 그러나, 감초의 국내 생산량은 37 ha로 국내에서는 자생하지 않아 수입량은 초본류 약용작물 중에서 첫 번째로 많은 품목이다(Lee JH 등 2021). 현재 국내에 약용으로 사용되는 감초는 대부분은 중국산이 유통되고 있으며, 최근에 우즈베키스탄 감초를 유통하여 수입하는 양도 증가하고 있다(Park JH 등 2011).

감초의 주요 성분으로는 뿌리와 줄기에 함유되어 있는 triterpenoid saponin계의 glycyrrhizin과 가수분해에 의해 생기는 glabric acid, gabrolide 등이 있다(Hong JS 등 2014). 주요 생리활성 성분은 flavonoid 계열로 flavonoid 배당체인 liquiritin, liquiritigenin과 isoflavonoid 계열인 glabridin, glabrene 등이 있으며, 기타 coumarin 계열인 herniarin, umbelliferone인 것으로 알려져 있다(Lee JY 등 2009). 감초와 관련된 연구에 따르면 감초의 주요성분 중 licuraside, isoliquiritin, licochalcone A, glabridin과 같은 flavonoid계 성분들이 tyrosinase를 억제함으로써 미백 성분으로서 잠재력을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Lee JS 등 2003). 또한, 국내에서 한 국산 감초 추출물의 항산화 작용, 항노화, 세포보호 효과를 중국산 감초와 우즈베키스탄 감초에 대하여 비교 분석한 실험이 보고된 바 있으며(Han SB 등 2013), 한약재의 구성성분으로 쓰이는 만큼 항산화 활성과 항염 및 항균 활성에 관한 연구가 진행되었다(Ahn EY 등 1998; Yoon TS 등 2010).

따라서, 본 연구에서는 재배기간을 달리한 감초를 활용하여 추출물을 제조하고 품질 특성, 항산화 활성 및 미백 활성을 비교하여 향후 재배기간에 따라 성분 및 생리 활성에 맞는 화장품 원료 및 다양한 용도로 쓰일 수 있는 기능성 소재로 개발하기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

감초는 전북 익산 케어팜(Carefarm)에서 하우스 재배되고 있는 1년생 감초(K1), 2년생 감초(K2), 3년생 감초(K3)를 구입하였고, 증거 표본은 국립농업과학원에 보관하였다.

### 2. 추출물 제조

감초 시료 각각의 추출제조 방법은 각 시료 50 g에 70% ethanol 500 mL을 혼합 후 ultrasonication(Power Sonic 420, 50/60 HZ, 700W Hwashin Co., Ltd., Seoul, Korea)로 1시간 씩 추출한 후 Whatman No. 2 여과지를 이용하여 여과하였다. 여과액을 100 mL로 정용하여 rotary vacuum evaporator

(BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)를 이용하여 50°C 이하에서 감압·농축한 뒤, -80°C 초저온냉동기(Deep freezer, Ilsin BioBase Co., Ltd., Yangju, Korea)에서 24시간 동결시킨 후 동결건조기(Freeze dryer, Ilsin BioBase Co., Ltd., Yangju, Korea)에서 동결 건조하여 이를 같은 추출 용매로 용해하여 본 실험의 분석용 시료로 사용하였다.

### 3. pH 및 산도 측정

감초 추출물의 pH는 시료를 취하여 pH meter(HM-30P, DKK-TOA, Japan)로 측정하였다. 총 산도는 pH 측정의 시료와 같은 시료액 1 mL에 9 mL의 증류수를 가하고, 0.05% phenolphthalein 용액을 지시약으로 사용하여 0.1 N NaOH로 적정하였으며, 적정에 소비된 NaOH 소비량을 이용하여 acetic acid 함량(%)으로 환산하여 총산 함량을 표시하였다. 실험은 3회 반복하였으며 결과는 평균값±표준편차로 나타내었다.

### 4. 환원당 측정

감초 추출물의 환원당은 dinitrosalicylic acid(DNS)법(Lee EJ 등 2020)에 따라 시료액 1 mL에 DNS reagent 1 mL을 가하여 15분간 끓인 다음, 냉각한 후 증류수 3 mL를 첨가하여 microplate reader(Biotek Synergy Mx, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 550 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이때 glucose를 표준물질로 당을 정량하여 사용하였으며, 표준곡선을 기준으로 환원당 함량을 환산하여 산출하였다.

### 5. ABTS 및 DPPH 라디칼 소거 활성 측정

ABTS 소거활성 측정은 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 실온 암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 후 ABTS 용액을 732 nm에서 흡광도가 0.70±0.03이 되도록 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 950 µL에 추출물 50 µL를 가한 후 암소에서 10분간 반응시킨 다음 microplate reader(Biotek Synergy Mx, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)로 흡광도를 측정하여 나타내었다(Hong JS 등 2014).

ABTS 라디칼 소거능 (%)=

$$[1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

DPPH radical 소거능은 Blois MS(1958)의 방법을 변형하여 시료의 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH)에 대한 수소공여 효과로 측정하여 나타내었다. 각 농도별로 조제한 시

료액 0.2 mL에 0.2 mM의 DPPH 용액 0.8 mL를 첨가하여 vortex mixing을 한 뒤 상온에서 30분간 반응시켰다. 반응액을 microplate reader(Biotek Synergy Mx, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각 시료를 3회 반복 측정하여 Duncan's multiple range test에 의해 평균치 간의 유의성을 검정하여 나타내었다. DPPH radical 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 아래와 같이 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = [1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$$

### 6. 총 페놀과 총 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 Dewanto V 등(2002)의 방법에 준하여 측정하였으며, 추출물 50  $\mu\text{L}$ 에 2% sodium carbonate 1 mL를 가한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 50  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 720 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid(Siama-Aldrich Co., USA)의 검량선을 이용하여 페놀 함량을 산출하였다.

총 플라보노이드 함량은 Abdel-Hameed ESS(2008)의 방법에 따라 시료액과 5% sodium nitrate 0.15 mL를 가하여, vortex mixing을 한 후 상온에서 6분간 방치한 다음 10% aluminium chloride 0.3 mL를 vortex mixing을 가하여 상온에서 5분간 방치하였다. 그 후 1 N NaOH 1 mL를 vortex mixing을 가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, rutin hydrate(Siama-Aldrich Co., USA)의 검량선에 의하여 함량을 산출하였다.

### 7. 기능성 성분 분석

감초의 추출물 시료의 성분은 HPLC(Waters 2998, Waters Co., Miliford, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 감초 추출물을 희석하여 0.2  $\mu\text{m}$  PVDF membrane filter(Waters Co., Miliford, MA, USA)를 여과한 것을 시험용액으로 하였고, 분석조건은 다음과 같다. Column은 ACQUITY HPLC BEH C18(1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm  $\times$  50 mm, Waters Co., Miliford, MA, USA), flow rate 및 column 온도는 각각 1 mL/min, 30 $^{\circ}\text{C}$ , 검출 파장은 254 nm로 검출하였다. mobile phase 조성은 solvent A는 0.1%의 phosphoric acid를 포함한 water를 혼합하여 사용하였으며 solvent B의 경우 acetonitrile를 사용하였다. 용매 구배는 5분에 A: 60%, B: 40%로 시작하여, 15분에 A: 50%, B: 50%, 25분에 A: 40%, B: 60%, 40분에 A: 50%, B: 50%, 50분에 A: 65%, B: 35%로 분석하였다. 표준물질은 glycyrrhizin, glabridin, liquiritin, liquiritigenin 및 glycyrrhiso-flavone(Siama-Aldrich Co., USA)를 사용하였다. HPLC에서 나타난 peak area의 3회 반복 평균값을 취한 후 표준물질

의 양과 peak area 사이의 상관관계를 도출하여 검량선을 작성하여 계산하였다.

### 8. Tyrosinase 억제 활성

미백 활성 평가방법은 시료에 의해 tyrosinase 억제 활성의 수치가 클수록 tyrosinase 억제제로서 효과적으로 작용한다고 판별한다(Jang HI 2019). 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5)를 220  $\mu\text{L}$  취하여 튜브에 넣고 시료를 20  $\mu\text{L}$ 와 1.5 mM L-tyrosin을 40  $\mu\text{L}$ , 2,000 unit/mL mushroom tyrosinase를 40  $\mu\text{L}$ 씩 첨가하여 혼합하였다. 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 약 15분간 incubation 한 후 microplate reader(Biotek Synergy Mx, Biotek Instruments Inc., VT, USA)로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 9. 통계처리

본 실험의 결과에 대한 통계분석은 3회 반복 실험을 실시한 뒤 SPSS 25.0 program(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago IL, USA)을 이용하여 ANOVA를 실시한 후 Duncan's multiple range test 방법을 사용하여 각 평균치 간의 유의적 차이를 검증하였다( $p < 0.05$ ).

## 결과 및 고찰

### 1. 이화학적 특성 변화

재배기간을 달리한 감초 추출물의 pH, 산도 및 환원당의 측정결과는 Table 1과 같다. pH는 시료구별로 5.54~5.59로 큰 차이가 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). Jung JY(2018)의 연구에서도 감초의 발효 초기의 pH가 5.74로 확인된 바가 있으며 이와 유사한 pH를 보였다. 산도 또한 0.39~0.41%로 pH와 동일하게 시료 간의 차이가 미미하게 나타난 것으로 보아 본

**Table 1.** The pH, total acidity and reducing sugar contents of *G. uralensis* extract using 70% ethanol

Sample	pH	Total acidity (%)	Reducing sugar (mg/100 g)
K1 <sup>1)</sup>	5.54±0.02 <sup>c4)5)</sup>	0.38±0.01 <sup>b</sup>	0.42±0.01 <sup>c</sup>
K2 <sup>2)</sup>	5.57±0.00 <sup>b</sup>	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.47±0.00 <sup>b</sup>
K3 <sup>3)</sup>	5.59±0.01 <sup>a</sup>	0.40±0.01 <sup>a</sup>	0.61±0.02 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> 1-year-old *G. uralensis*.

<sup>2)</sup> 2-year-old *G. uralensis*.

<sup>3)</sup> 3-year-old *G. uralensis*.

<sup>4)</sup> Values expressed as means±standard deviation (n=3).

<sup>5)</sup> Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's multiple range tests).

연구에서 사용된 재배기간을 달리한 감초가 이화학적 특성에 영향이 크지 않은 것으로 사료된다( $p < 0.05$ ).

환원당 함량 측정 결과 K3 시료구가 다른 시료구인 K1, K2에 비해  $0.61 \pm 0.02$  mg/100 g으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). Choi JE & Lee JH(2016)가 보고한 바에 의하면 이는 감초에 함유된 glycyrrhizin, glabridin, liquiritin, liquiritigenin 및 glycyrrhisoflavone의 성분 함량과 다양한 당류 성분인 glucose, sucrose, mannitol 등이 가용성 고형분 함량 증가에 영향을 미친 것으로 나타났으며, 성분함량이 다르게 나타나는 것으로 보아 재배기간에 따라 환원당 함량에 영향이 있는 것으로 사료된다.

## 2. ABTS 및 DPPH Radical 소거 활성

재배기간을 달리한 감초 추출물의 ABTS 및 DPPH radical 소거활성 결과는 Table 2와 같다. ABTS radical 소거활성은 K1 시료구가  $87.08 \pm 0.80\%$ , K2가  $75.66 \pm 0.80\%$ , K3는  $68.44 \pm 0.74\%$ 로 1년생 감초의 소거활성이 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). DPPH radical 소거활성은 K1이  $64.33 \pm 1.33\%$ , K2가  $51.02 \pm 0.79\%$ , K3가  $42.2 \pm 0.60\%$ 로 K1 시료구의 라디칼 소거활성능이 가장 높은 값을 보였다( $p < 0.05$ ). ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성은 항산화 활성을 측정하는데 가장 많이 간편하게 사용하는 방법으로, 페놀성 물질에 대한 항산화 효과의 지표로 활용되며, 환원력이 큰 물질일수록 소거능이 높다고 보고되었다(Kang YH 등 1995). 또한, DPPH는 자유라디칼을, ABTS는 양이온 라디칼을 소거하는 점에서 두 기질과 반응물질과의 결합정도가 달라 라디칼 제거 능력에서도 차이가 나는 것이 본 실험에서도 나타났다. Jeong JW 등 (1994), Kim MH 등(2021)이 보고한 감초 품종별 DPPH radical 소거 활성은 *G. glabra*는  $57.4 \pm 1.7\%$ , *G. uralensis*는  $82.1 \pm 1.5\%$ , 원감은  $50.9 \pm 0.8\%$ , 신원감은 가장 높은  $82.6 \pm 1.1\%$

**Table 2. Antioxidant activity of *G. uralensis* extract using 70% ethanol**

Sample	DPPH (%)	ABTS (%)
K1 <sup>1)</sup>	$64.33 \pm 1.33^{a4)5)}$	$87.08 \pm 0.80^a$
K2 <sup>2)</sup>	$51.02 \pm 0.79^b$	$75.66 \pm 0.80^b$
K3 <sup>3)</sup>	$42.20 \pm 0.60^c$	$68.44 \pm 0.74^c$

<sup>1)</sup> 1-year-old *G. uralensis*.

<sup>2)</sup> 2-year-old *G. uralensis*.

<sup>3)</sup> 3-year-old *G. uralensis*.

<sup>4)</sup> Values expressed as means±standard deviation (n=3).

<sup>5)</sup> Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's multiple range tests).

의 소거 활성으로 나타났으며, ABTS radical 소거활성에서 *G. glabra*는  $91.3 \pm 1.9\%$ , *G. uralensis*는  $98.3 \pm 0.3\%$ , 원감은  $88.1 \pm 1.8\%$ , 신원감은 가장 높은  $98.6 \pm 0.1\%$ 로 소거활성 모두 *G. glabra* 품종과 유사한 경향을 나타내었다. Kiso Y 등 (1984), Kondo K 등(2007)은 감초 내에 함유된 생리활성 물질의 함량에 따라 항산화 활성의 차이가 있다고 보고하였다. 본 연구와 유사하게 재배기간에 따라 항산화 활성의 값이 차이가 났으며, 감초의 기능성 성분의 함량의 영향이 있는 것으로 사료된다.

## 3. 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 식물체에서 흔히 볼 수 있는 2차 대사산물 중의 하나로 분자 내에서 phenolic hydroxyl 기가 효소 단백질 등 여러 분자와 탈수소 반응을 일으켜 수소원자를 공유하여 라디칼이 안정한 형태를 형성하도록 유도하는 역할을 함으로써 항암, 항산화 활성 및 각종 생리활성 등을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Jeong HJ 등 2007). 재배기간을 달리한 감초 추출물의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량은 Table 3과 같다. 총 페놀의 함량은 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능과 같은 양상으로 K1 시료구가  $18.32 \pm 0.99$  mg/mL, K2는  $16.02 \pm 1.01$  mg/mL, K3는  $14.17 \pm 0.04$  mg/mL로 시료가 다른 시료구에 비해 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 이는 생리활성과 항산화 활성이 감초의 재배기간에 따라 차이가 나타나는 것으로 사료된다. 플라보노이드의 함량은 총 페놀 함량과 동일한 양상으로 K1의 시료구가  $6.94 \pm 0.05$  mg/mL, K2는  $6.08 \pm 0.14$  mg/mL, K3는  $5.19 \pm 0.04$  mg/mL로 1년생 감초의 flavonoid 함량이 다른 시료에 비해 높게 나타났으며, K1의 시료구가 감초의 지표성분중 flavonoid 계열인 liquiritigenin, liquiritin 등의 함량이 다른 시료구들에 비해 높게 나타난 것으로 보아 플라보노이드 함량에 영향이 있는 것

**Table 3. Total phenolic and flavonoid contents of *G. uralensis* extract using 70% ethanol**

Sample	Total phenolics (mg/mL)	Total flavonoids (mg/mL)
K1 <sup>1)</sup>	$18.32 \pm 0.99^{a4)5)}$	$6.94 \pm 0.05^a$
K2 <sup>2)</sup>	$16.02 \pm 1.01^b$	$6.08 \pm 0.14^b$
K3 <sup>3)</sup>	$14.17 \pm 0.04^c$	$5.19 \pm 0.04^c$

<sup>1)</sup> 1-year-old *G. uralensis*.

<sup>2)</sup> 2-year-old *G. uralensis*.

<sup>3)</sup> 3-year-old *G. uralensis*.

<sup>4)</sup> Values expressed as means±standard deviation (n=3).

<sup>5)</sup> Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ , Duncan's multiple range tests).

으로 사료된다(Kondo K 등 2007). 생체 내의 세포신호전달, 단백질의 발현, 세포분화에 관여하고, 항 알레르기, 항바이러스 및 항암 등의 다양한 생리활성 중 특히 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Cha JY 등 1999).

#### 4. 기능성 성분 분석

기능성 성분 함량을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 감초의 지표 물질인 glycyrrhizin은 15.18분, glabridin 29.45분, liquiritin 4.67분, liquiritigenin 9.33분, glycyrrhisoflavon 24.73분에 검출 되었으며, STD 모두  $R^2=0.999$ 로 나타났다. 재배기간을 달리한 감초의 glycyrrhizin은 K1은  $157.44\pm 0.92$  mg/100 g, K2는  $133.92\pm 0.55$  mg/100 g, K3 시료구가  $163.65\pm 0.63$  mg/100 g으로 높게 나타났다. 성분에 포함되는 glycyrrhizin은 glycyrrhetic acid와 glucuronic acid로 이루어진 물질로 항바이러스, 항간염, 항암 등의 효과가 있어(Park JH 등 2003) 3년생 시료는 다른 재배기간 시료에 비해 식품산업과 더불어 폭넓게 이용될 가능성이 있는 것으로 사료된다.

Glabridin 함량은 K1과 K2의 시료가 각각  $13.72\pm 0.42$  mg/100 g,  $10.42\pm 0.58$  mg/100 g이었으며, liquiritin은  $9.23\pm 3.32$  mg/100 g,  $7.37\pm 0.67$  mg/100 g으로 1년, 2년생은 큰 차이가 없었지만 감초 3년생의 경우 glabridin과 liquiritin의 함량이  $4.68\pm 0.54$  mg/100 g,  $6.16\pm 1.07$  mg/100 g으로 재배기간이 경과함에 따라 함량이 낮아지는 경향을 나타내었다. glabridin은 피부에 중요한 영향 미치는 물질로 피부 미백에 탁월한 효과와 체내에서 인체에 해로운 LDL(low density lipoprotein)의 산화를 억제하는 효과도 있는 것으로 알려져 있고(Jung YA 등 2003; Woo KS 등 2007), liquiritin은 체내에서 liquiritigenin으로 전환된다고 보고되어 있으며, liquiritin, liquiritigenin은 다양한 활성과 tyrosinase 활성 억제를 통한 멜라닌 생성 억제 등을 하는 것으로 알려져 있다(Lee JH 등 2009).

K1 시료구는 앞에서 언급한 바와 같이 미백과 관련된 활성이 있는 것으로 알려진 glabridin과 liquiritin, liquiritigenin

의 함량이 각각  $13.72\pm 0.42$  mg/100 g,  $9.23\pm 3.32$  mg/100 g,  $4.69\pm 0.17$  mg/100 g로 다른 시료구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, 향후 식품소재뿐만 아니라 다양한 화장품 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

#### 5. Tyrosinase 억제 활성

재배기간을 달리한 감초 추출물의 tyrosinase 억제 활성을 측정된 결과는 Table 5와 같다. Tyrosinase 억제 활성은 K1이  $54.68\pm 1.23\%$ , K2가  $49.02\pm 2.77\%$ , K3가  $50.98\pm 2.77\%$ 의 억제 활성을 보였다. Tyrosinase는 멜라닌 형성에 관여하는 효소로서 효소의 저해는 멜라닌 저해의 결과로 미백 성분이 이 효소를 억제하는 작용기전을 가지고 있으며(Mun YJ 등 2002; Jang HI 2019), Na KM 등(2005)이 보고한 20개의 약선 소재 추출물 중 tyrosinase 억제 활성에서 소회향(*A. graveolens*), 울금(*C. longga*), 고삼(*S. flavescens*)이 51%, 52.9%, 52.2%로 나타났다. 본 연구에서 사용된 감초 시료 또한 위 약선 소재의 시료와 비슷한 tyrosinase 활성을 억제하는 것으로 나타났다. 재배기간을 달리한 감초에서 K1 시료구는 미백 활성 작용과 연관되어 알려진 glabridin이  $13.72\pm 0.42$  mg/100 g, liquiritin은  $9.23\pm 3.32$  mg/100 g, liquiritigenin

**Table 5. Tyrosinase inhibition assay of *G. uralensis* extract using 70% ethanol**

Sample	Tyrosinase inhibition assay (%)
K1 <sup>1)</sup>	$54.68\pm 1.23^{a4)5)}$
K2 <sup>2)</sup>	$49.02\pm 2.77^c$
K3 <sup>3)</sup>	$50.98\pm 2.77^b$

1) 1-year-old *G. uralensis*.

2) 2-year-old *G. uralensis*.

3) 3-year-old *G. uralensis*.

4) Values expressed as means±standard deviation (n=3).

5) Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p<0.05$ , Duncan's multiple range tests).

**Table 4. The component analysis of *G. uralensis* extract using 70% ethanol**

Sample (mg/100 g)	Glycyrrhizin	Glabridin	Liquiritin	Liquiritigenin	Glycyrrhisoflavone
K1 <sup>1)</sup>	$157.44\pm 0.92^{b4)5)}$	$13.72\pm 0.42^a$	$9.23\pm 3.32^a$	$4.69\pm 0.17^a$	$2.13\pm 0.46^b$
K2 <sup>2)</sup>	$133.92\pm 0.55^c$	$10.42\pm 0.58^b$	$7.37\pm 0.67^b$	$3.82\pm 0.02^c$	$4.85\pm 0.41^a$
K3 <sup>3)</sup>	$163.65\pm 0.63^a$	$4.68\pm 0.54^c$	$6.16\pm 1.07^c$	$4.12\pm 0.32^b$	$0.76\pm 0.15^c$

1) 1-year-old *G. uralensis*.

2) 2-year-old *G. uralensis*.

3) 3-year-old *G. uralensis*.

4) Values expressed as means±standard deviation (n=3).

5) Means with different superscript in the same column are significantly different ( $p<0.05$ , Duncan's multiple range tests).

4.69±0.17 mg/100 g으로 성분들의 함량 또한 다른 시료구들에 비해 높게 나타난 것으로 미백 활성에 영향이 있는 것으로 사료된다.

## 결론

본 연구에서는 재배기간을 달리한 감초 ethanol 추출물의 항산화 활성과 미백활성을 비교하고자 감초를 재배기간에 따라 각각 70% 에탄올에 1시간씩 총 2회 추출하여 추출물을 제조하였다.

이화학적 특성 변화는 재배기간에 따라 pH는 5.54~5.59로 큰 차이가 나타나지 않았으며, 산도 또한 0.39~0.41%로 pH와 동일하게 시료 간의 차이가 미미하게 나타난 것으로 보아 본 연구에서 사용된 재배기간을 달리한 감초가 이화학적 특성에 영향이 크지 않은 것으로 사료된다. 환원당 함량 측정 결과 K3 시료구가 0.61±0.02 mg/100 g으로 높게 나타났으며, DPPH와 ABTS radical 소거활성 모두 K1시료구가 각각 64.33±1.33%, 87.08±0.80%로 다른 시료구에 비해 높게 나타났다. 총 페놀과 플라보노이드도 동일하게 K1 시료구의 항산화 활성이 각각 18.32±0.99 mg/mL과 6.94±0.05 mg/mL로 다른 시료구에 비해 높은 값을 보였다. 기능성 성분 분석 결과에서 glycyrrhizin은 K3 시료구가 163.65±0.63 mg/100 g, glabridin과 liquiritin, liquiritigenin은 K1 시료구가 각각 13.72±0.42 mg/100 g, 9.23±3.32 mg/100 g, 4.69±0.17 mg/100 g으로 높은 함량을 보였다. 미백은 glabridin과 liquiritin, liquiritigenin 등의 성분과 관련이 있으며 기능성분에서 함량이 높았던 K1이 54.68±1.23%로 다른 시료구들에 비해 높게 나타났다. 따라서 본 연구에서 K1 시료구가 항산화 활성과 미백 활성에 영향이 있는 것으로 판단되며, 향후 다양한 소재로 활용 가능성이 있는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구사업(과제번호: PJ01601301)의 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Ahn EY, Shin H, Back NI, Oh JA (1998) Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis*. Korean J Food Sci Technol 30(3): 680-687.
- Abdel-Hameed ESS (2008) Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian Ficus species leaf samples. Food Chem 114(4): 1271-1277.
- Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 29: 1199-1200.
- Cha JY, Kim SY, Jeong SJ, Cho YS (1999) Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. J Korean Life Sci 9(4): 389-394.
- Choi JE, Lee JH (2016) Quality characteristics and antioxidant activities of yanggaeng supplemented with licorice powder. J Korean Soc Food Sci Nutr 45(7): 1077-1081.
- Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH (2002) Processed sweet corn has higher antioxidant activity. J Agric Food Chem 50(17): 4959-4964.
- Fenwick GR, Lutomski J, Nieman C (1990) Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L.-Composition uses and analysis. Food Chem 38(2): 119-143.
- Han SB, Gu HA, Kim SJ, Kim HJ, Kwon SS, Kim HS, Jeon SH, Hwang JP, Park SN (2013) Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts by country of origin. J Soc Cosmet Scientists Korea 39(1): 1-8.
- Hong JS, Kang BG, Young SJ, Kim SH, Wang ZQ, Park YH, Park JH, LIM SS (2014) Studies on standardization of Licorice based on its active components with on-line HPLC bioassay system. Korean J Plant Res 27(5): 401-414.
- Jeong JW, Lee YC, Jung SW, Lee KM (1994) Flavor components of citron juice as affected by the extraction method. Korean J Food Sci Technol 26(6): 709-712.
- Jung YA, Lee KJ, Kwun MJ, Row KH (2003) Separation of Glabridin from Licorice by RP-HPLC. J Biotechnol Bioeng 18(5): 408-411.
- Jeong HJ, Park SB, Kim S, Kim HK (2007) Total polyphenol content and antioxidative activity of wild grape (*Vitis coignetiae*) extracts depending on ethanol concentrations. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(12): 1491-1496.
- Jung JY (2018) Studies on the whitening effect and active components of fermented licorice extract. MS Thesis Yeungnam University, Gyeongsan. pp 32-33.
- Jang HI (2019) Study for whitening activity of mixture of arbutin and oil soluble licorice extract. J Appl Sci Technol 36(2): 635-644.
- Kang YH, Park YK, Oh SR, Moon KD (1995) Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. Korean J Food Sci Technol 27(6): 978-984.
- Kim AR, Lee SY, Kim KBWR, Song YJ, Kim JH, Kim MJ,

- Ji KW, Ahn IS, Ahn DH (2008) Effect of *Glycyrrhiza uralensis* on shelflife and quality of *takju*. Korean J Food Sci Technol 40(2): 194-200.
- Kim MH, Kang MH, Lee JH, Leem KH, An HJ, Jin JS, Lee JH, Chang JK, Seong S, Kim WN (2021) Antioxidant activity and cytotoxicity against human cancer cells of *Glycyrrhiza* new varieties: A comparison with *Glycyrrhiza* official compendia. Kor J Herbology 36(3): 15-24.
- Kiso Y, Tohkin M, Hikino H, Hattori M, Sakamoto T, Namba T (1984) Mechanism of antihepatotoxic activity of glycyrrhizin. I: Effect on free radical generation and lipid peroxidation. Planta Med 50(4): 298-302.
- Kondo K, Shiba M, Nakamura R, Morota T, Shoyama Y (2007) Constituent properties of licorices derived from *Glycyrrhiza uralensis*, *G. glabra*, or *G. inflata* identified by genetic information. Biol Pharm Bull 30(7): 1271-1277.
- Lee EJ, Lee DB, Song BN, Park BR, Lee SH, Choi JH, Park SY (2020) Physicochemical properties and anti-inflammatory effects of *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge fermented by *Aspergillus awamori*. Korean J Medicinal Crop Sci 28(5): 347-353.
- Lee JH, Oh MW, Seo KH, Park CG, Jeong JT, Han JW, Ma KH, Chang JK (2021) Cultivation and quality characterization of 'Dagam', a licorice interspecific hybrid cultivar. Korean J Medicinal Crop Sci 29(2): 110-116.
- Lee JH, Ze KR, Kim DH, Park JY, Shim YH, Kim JH, Lim S, Shin JS, Kim IS, Kim JY, Seong SH, Jang SY, Kim DS, Seong RS (2009) Analysis of liquiritigenin, an aglycone of liquiritin in licorice by high performance liquid chromatography. Korean J Pharm 40(4): 309-314.
- Lee JS, Kim JA, Cho SH, Son AR, Jang TS, So MS, Chung SR, Lee SH (2003) Tyrosinase inhibitors isolated from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. Korean J Pharm 34(1): 33-39.
- Lee JY, Lee JH, Park JH, Kim SY, Choi JY, Lee SH, Kim YS, Kang SS, Jang EC, Han Y (2009) Liquiritigenin, a licorice flavonoid, helps mice resist disseminated candidiasis due to *Candida albicans* by Th1 immune response, whereas liquiritin, its glycoside form, does not. Int J Immunopharmacology 9(5): 632-638.
- Lee SY, Choi JS, Choi MO, Cho SH, Kim KBWR, Lee WH, Park SM, Ahn DH (2006) Effect of extract from *Glycyrrhiza uralensis* and *Curcuma longa* on shelf-life and quality of bread. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(7): 912-918.
- Lim SI, Song SM (2010) Changes in characteristics of low-salted kochujang with licorice (*Glycyrrhiza glabra*), mustard (*Brassica juncea*), and chitosan during fermentation. J Korean Soc Food Sci Nutr 39(4): 560-566.
- Mun YJ, Kim J, Lim NY, Lee SY, Gwak S, Hwang CY, Woo WH (2002) Inhibitory effect on melanogenesis of radix glycyrrhizae water extract. Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology 16(6): 1230-1235.
- Na KM, Choi SY, Kim DH, Kimm JP, Lee CB, Kim KD (2005) Inhibitory activity of medicinal plant extracts against tyrosinase. Korean Med Inst of Dermatology & Aesthetics 1(1): 91-97.
- Park JH, Park JY, Ju YS (2003) Inhibitory effect of licorice ethanol extracts and glycyrrhizin on cytochrome P450 drug-metabolizing enzymes in human liver microsomes. Korean J Soc Prev Med 7(2): 65-74.
- Park JH, Wu Q, Yoo KH, Yong H, Cho SM, Chung IS, Back IN (2011) Cytotoxic effect of flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* on human cancer cell lines. J Appl Biol Chem 54(1): 67-70.
- Shibata S, Inoue H, Iwata S, Ma R, Yu L, Ueyama H, Takayasu J, Hasegawa T, Tokuda H, Nishino A, Nishino H, Iwashima A (1991) Inhibitory effects of licochalcone A isolated from *Glycyrrhiza inflata* root on inflammatory ear edema and tumour promotion in mice. Planta Med 57(3): 221-224.
- Woo KS, Hwang IG, Noh YH, Jeong HS (2007) Antioxidant activity of heated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr 36(6): 689-695.
- Yoon TS, Cheon MS, Kim JS, Lee AY, Moon BC, Chun JM, Choo BK, Kim HK (2010) Evaluation of solvent extraction on the anti-inflammatory efficacy. Korean J Medicinal Crop Sci 18(1): 28-33.

---

Date Received Jun. 7, 2022  
 Date Revised Jul. 26, 2022  
 Date Accepted Aug. 8, 2022